

Kansen voor toepassing van microalgen in landbouwgewassen

Auteurs: Joanneke Spruijt en Rommie van der Weide





Kansen voor toepassing van microalgen in landbouwgewassen

Auteurs: Joanneke Spruijt en Rommie van der Weide

© 2016 Wageningen, ACRRES – Wageningen UR

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 ACRRES-Wageningen UR.

ACRRES – Wageningen UR is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.

Projectnummer: 3750273800



BO-21.04-001-001

Deliverable 5.11

ACRRES – Wageningen UR
Adres : Edelhertweg 1, Lelystad
: Postbus 430, 8200 AK Lelystad
Tel. : 0320 - 29 11 11
Fax : 0320 - 23 04 79
E-mail : info@acrres.nl
Internet : www.acrres.nl

Inhoudsopgave

SAMENVATTING	5
1 INLEIDING	7
2 WERELDWIJDE ALGENPRODUCTIE	8
3 NEDERLANDSE ALGENPRODUCTIE	12
4 GEWASBESCHERMING MET ALGEN	15
4.1 Fungicidewerking.....	15
Bodemschimmels	15
Bladschimmels.....	17
Overzicht fungicidewerking	19
4.2 Nematicidewerking	21
Wortelknobbelaaltjes	21
Overige aaltjes	24
Overzicht nematicidewerking	25
4.3 Insecticidewerking.....	27
Muskieten	27
4.4 Molluscicidewerking	27
Waterslakken	27
4.5 Herbicidewerking.....	28
Eendenkroos	28
4.6 Algicidewerking	28
4.7 Conclusies gewasbescherming	29
5 BEMESTING EN BODEMVERBETERING MET ALGEN	30
5.1 Bemesting	30
Rijst	30
Andere landbouwgewassen	32
5.2 Bodemverbetering	33
5.3 Conclusies bemesting en bodemverbetering.....	35
6 PLANTSTIMULATIE MET ALGEN	36
6.1 Kieming, blad- of stengelgroei, bloei en vruchtvorming	36
6.2 Vermeerdering	39
6.3 Weerstandsverhoging	40
6.4 Conclusies groeiregulatie.....	41
7 NEDERLANDSE REGELGEVING	42
7.1 Toelating gewasbeschermingsmiddelen	42
Gewasbeschermingsverordening	42
Toelating laag-risico gewasbeschermingsmiddelen	43
Green Deal Groene Gewasbeschermingsmiddelen	43
7.2 Toelating en gebruik meststoffen.....	44
Toelating meststoffen	44
Meststoffenwet	44



7.3	Toelating plantenstimulatoren en bodemverbeteraars	44
8	MILIEUKUNDIGE PERSPECTIEVEN	45
8.1	Carbon footprint.....	45
8.2	Gebruik van reststromen.....	46
8.3	Milieubelasting door stikstof.....	48
8.4	Milieubelasting door gewasbeschermingsmiddelen	49
9	MARKTPERSPECTIEVEN	50
9.1	Kostprijs en verkoopwaarde algenproducten	50
	Kostprijs algen	50
	Kosten voor verdere verwerking	51
	Verkoopwaarde algenproducten	51
9.2	Marktomvang.....	51
	Bio pesticiden.....	51
	Bio meststoffen	52
	Bio stimulators	52
10	KANSEN.....	53
10.1	Gewasbescherming.....	53
10.2	Bemesting en bodemverbetering	53
10.3	Plantstimulatie	53
11	UITDAGINGEN	55
	LITERATUUR	56



Samenvatting

Op basis van internationaal literatuuronderzoek blijken er interessante kansen voor toepassing van microalgen producten in landbouwgewassen te zijn. In dit rapport worden zowel groene algen als cyanobacteriën gedefinieerd als microalgen.

Stoffen uit microalgen (met name uit cyanobacteriën) blijken in diverse onderzoeken uit de literatuur een goede bestrijding te geven van verschillende schimmels en aaltjes die in landbouwgewassen schade aanrichten. Verder is er (buiten de landbouw) insecticide-, molluscicide-, herbicide- en algacidewerking met stoffen uit cyanobacteriën aangetoond.

Naast rijst blijkt er met gebruik van cyanobacteriën ook in bonen, tarwe en mais bespaard te kunnen worden op de minerale stikstofgift en wordt soms ook opbrengstverhoging gevonden los van de bemestingseffecten. Microalgen worden behalve als biologische meststof ook als bodemverbeteraar toegepast. Ze kunnen de biologische activiteit in de bodem verhogen en een toename van bodemkoolstof, bodemstikstof, essentiële micro-elementen, bacteriën en slijmerige stoffen geven. Hierdoor kunnen zij de bodemvochtigheid behouden, erosie tegengaan, probleemgronden als zoute, zure of woestijngronden vruchtbaarder maken en fysisch verslechterde bodems verbeteren. Er is onderzoek gerapporteerd waarin positieve smaakeffecten bij het geoogste product werden gevonden na gebruik van algen als meststof.

Verscheidende microalgensoorten produceren groeibevorderende stoffen als auxinen, aminozuren, vitaminen en gibberellinen. Uit de vele onderzoeksresultaten blijken positieve effecten van diverse extracten van vooral cyanobacteriën op kieming, blad- en/of stengelgroei, bloei en/of vruchtvorming van landbouwgewassen. Deze positieve effecten op de plantengroei hangen vaak ook nauw samen met de stikstoflevering door cyanobacteriën en de bodem verbeterende eigenschappen. Microalgen kunnen ook bijdragen aan de groei van planten door de weerstand tegen biotische en abiotische stress te vergroten. De waargenomen effecten van microalgen tegen verschillende ziekten en plagen kunnen (mede) veroorzaakt worden door weerstandsverhoging door microalgen bij planten.

De voortdurende evaluatie en (geleidelijke) terugtrekking van onveilige 'oude chemische' gewasbeschermingsmiddelen door de EU-richtlijn voor toelating van gewasbeschermingsmiddelen (EG 91/414) en de EU-kaderrichtlijn van 2009 voor een duurzaam gebruik van gewasbeschermingsmiddelen zijn een stimulans veilige en milieuvriendelijke biologische gewasbeschermingsmiddelen te ontwikkelen. In Nederland is de Green Deal Groene Gewasbeschermingsmiddelen met de Rijksoverheid gesloten om de toelating van groene middelen te bevorderen. Er wordt wereldwijd een grotere marktgroei van biologische gewasbeschermingsmiddelen dan van chemische gewasbeschermingsmiddelen verwacht. Er is de laatste jaren veel studie gedaan naar weerstandsverhoging bij planten door stoffen van allerlei oorsprong, zoals microbiologische inoculanten, humuszuren, aminozuren en planten- en ook algenextracten. Algenextracten bieden daarin goede perspectieven. Gedreven door



economische en maatschappelijke factoren lijkt de EU-markt voor bio stimulators snel te groeien (> 10% per jaar).

In Nederland zijn zeewier- en algenextracten krachtens de Verordening gewasbescherming als werkzame stof goedgekeurd voor de groeiregulatie van planten. Het gebruik als bodemverbeteraar of als plantenstimulator is vooralsnog veel minder gereguleerd dan als gewasbeschermingsmiddel.

Om de kansen met microalgen te benutten zou er verder geïnvesteerd moeten worden in onderzoek. Het zou duidelijk moeten worden welke werkzame stoffen uit micro algen of welke algenpreparaten andere organismen bestrijden, in welke formulering en met welke dosering. De bestrijdende, bemestende, bodem verbeterende, plantweerstand verhogende en milieueffecten van algentoepassingen zouden vergeleken moeten worden met conventionele methoden.

1 Inleiding

Binnen de Publiek Private Samenwerking (PPS) Kleinschalige Bioraffinage wordt in werkpakket 5 (WP5) gewerkt aan het raffineren en valoriseren van waterige en nutriëntrijke stromen m.b.v. aquatische biomassa. Er vindt in WP5 onder andere onderzoek plaats naar de verdere gebruiksmogelijkheden van de geproduceerde biomassa, de economische en milieukundige perspectieven en de identificatie van eventuele belemmeringen in de regelgeving.

In 2014 is een rapport verschenen over de kansen voor micro-algen als grondstofstroom in diervoeders. (Spruijt et al., 2014)

Het voorliggende rapport behandelt de kansen van toepassingen van microalgen producten in de plantaardige landbouwsector. In dit rapport worden zowel groene algen als cyanobacteriën gedefinieerd als microalgen. Eerst wordt een beeld gegeven van de huidige algenproductie op wereldniveau en in Nederland. Op basis van internationaal literatuuronderzoek worden interessante toepassingsmogelijkheden voor algenproducten bij gewasbescherming, bemesting, bodemverbetering en groeibevordering uiteengezet. Vervolgens wordt ingegaan op relevante regelgeving, de milieukundige en economische perspectieven en de stappen in het innovatieproces.

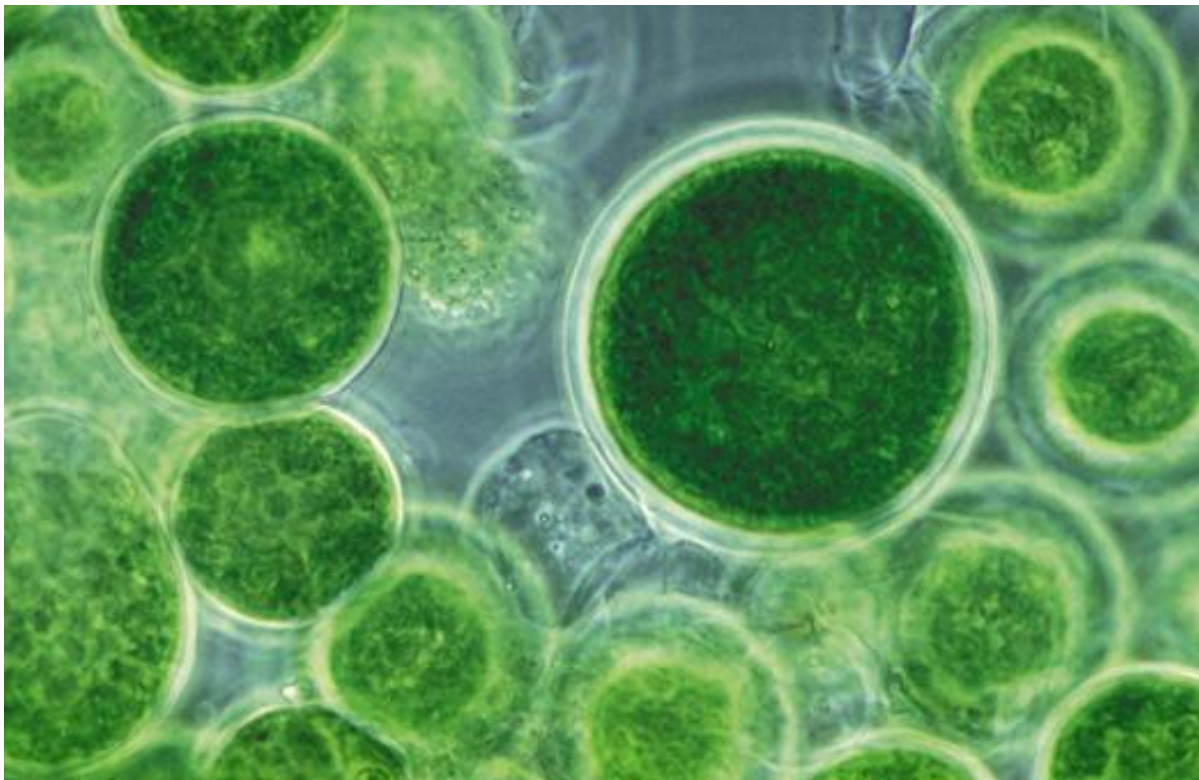


Foto 1: Groene micro-algen

2 Wereldwijde algenproductie

Microalgen worden al eeuwenlang door inheemse volkeren gebruikt, terwijl de teelt van microalgen slechts een paar decennia oud is. Van de 30.000 soorten die er worden verondersteld te bestaan worden slechts enkele duizenden stammen in collecties bewaard, een paar honderd onderzocht op chemische inhoud en slechts een handvol worden op industriële schaal geteeld. De biotechnologisch meest relevante microalgen zijn de groene algen (*Chlorophyceae*) *Chlorella vulgaris*, *Haematococcus pluvialis*, *Dunaliella salina* en de Cyanobacteriën *Spirulina maxima*. Met name *Spirulina* wordt al op grote schaal worden verhandeld en gebruikt, vooral als voedingssupplementen voor de mens en als additieven voor diervoeders. (Gouveia et al., 2008).

In de tabel worden productieomvang, productielanden en toepassingen van de belangrijkste algensoorten weergegeven. *Spirulina* (*Arthrospira*) is de meest geproduceerde algensoort, gevolgd door *Chlorella*, zie tabel 1.



Foto 2: *Chlorella* tabletten



Tabel 1: Jaarlijkse productie, productieland en toepassingen en producten van algen per algensoort (Kovač et al. 2013).

Algensoort	jaarlijkse productie (ton/jaar)	productieland	toepassingen en producten
<i>Spirulina (Arthrospira)</i>	3.000	China, India, USA, Myanmar, Japan	Humane en veevoeding, cosmetische producten (phycobiliproteïns, poeders, extracten, tabletten, dranken, chips, pasta, vloeibare extracten)
<i>Chlorella sp.</i>	2.000	Taiwan, Duitsland, Japan	Humane voeding, aquacultuur, cosmetische producten (tabletten, poeders, nectar, noodles)
<i>Dunaliella salina</i>	1.200	Australië, Israel, USA, China	Humane voeding, cosmetische producten (β -caroteen, poeders)
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	500	USA	Humane voeding (capsules, kristallen, poeder)
<i>Haematococcus pluvialis</i>	300	USA, India, Israel	Aquacultuur, astaxanthine
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	240 ton DHA olie	USA	DHA olie
<i>Shizochytrium sp.</i>	10 ton DHA olie	USA	DHA olie

Sinds de vruchtbaarheid van tropische rijstvelden in 1939 door de aanwezigheid van cyanobacteriën werd toegeschreven, zijn er vele proeven met het aanbrengen van cyanobacteriën in de bodem uitgevoerd om de rijstopbrengst te verhogen. Met deze praktijk, die algalisatie werd genoemd, zijn positieve effecten op de opbrengst gerapporteerd bij verschillende landbouwklimaten. (Roger en Reynaud, 1982)

Vandaag de dag worden stikstofbindende cyanobacteriën vaak als bio meststof in de tropische rijstteelt toegepast. De soorten *Anabaena*, *Nostoc*, *Aulosira*, *Tolypothrix* en *Scytonema* komen vaak voor in China, India en elders in Azië. In China, Vietnam en Afrika wordt *Anabaena azollae* in symbiose met de watervaren *Azolla* gebruikt als groene meststof of in combinatie met rijst geteeld. (Metting, 1996)



Foto 3: In rijstvelden kunnen cyanobacteriën stikstof leveren

Ook macro-algen of zeevieren worden al decennialang als bodemverbeteraar en meststof toegepast in kustgebieden. Sinds de vroege jaren 1980 zijn er bio stimulators op de markt, die gemaakt zijn van macro-algen. Er zijn leveranciers in verscheidene EU-landen, Azië en de VS. Het commerciële gebruik van micro-algen als bio stimulators is daarbij vergeleken veel kleiner, maar onderzoek en vermarkting begint op gang te komen.



Foto 4: Macro-algen worden al decennialang als bodemverbeteraar en meststof toegepast in kustgebieden.

Er zijn verschillende producenten van bio stimulators op basis van micro-algen bijvoorbeeld in Spanje (Agroplasma S.A. en AlgaEnergy S.A.), Turkije (Mct Tarim), de VS (AgroValley Inc.) en India (Soley Biotech) (Voort et al., 2015).

In de VS is GOgreen® (Global Organics Group, LLC, Goodyear, AZ) op de markt, een suspensie van de micro-algen *Chlorella*, *Nannochloris* en *Scenedesmus*. Het product wordt toegediend om voedingsstoffen aan micro-organismen in de bodem toe te dienen, de microbiële dichtheid en diversiteit te bevorderen en een verhoging van de koolstofopslag in de bodem te geven. (Hastings et al., 2014)

In Duitsland zijn er diverse algenproducten toegelaten als plantversterkers. (Bron: <http://www.etteldorf-metterich.de/pdf/liste-zugelassener-flanzenstaerkungsmittel.pdf>)

3 Nederlandse algenproductie

De kweek van algen komt in Nederland nog op beperkte schaal voor en vindt meestal plaats in open vijvers, maar ook in buizenreactoren of in plastic zakken die aan zonlicht worden blootgesteld. Het gaat in Nederland voor een groot deel nog om testfaciliteiten, waarbij vaak afvalstromen (in de vorm van CO₂, warmte en afvalwater) gebruikt worden uit de landbouw, industrie, afvalwaterzuiveringen of de transportsector.

Volgens modelberekeningen gebaseerd op de algenvijvers bij ACRRES (Foto 5) in Lelystad is de jaarlijkse algenbiomassa opbrengst 15 ton droge stof per ha. Bij een buisvormige PBR (fotobioreactor) is de productie tweemaal (31 ton/ha) en in een flat panel PBR meer dan driemaal zo hoog (52 ton/ha) dan bij een open vijver. Deze verschillen komen door de verschillen in fotosynthetische efficiëntie (PE) van het daglicht (resp. 1,5% / 3% / 5%). Deze biomassa opbrengsten zijn gebaseerd op het Nederlandse klimaat, in bijvoorbeeld Curaçao zou de opbrengst volgens de modelberekeningen meer dan verdubbelen. (Spruijt et al. , 2015)



Foto 5: Algenvijver bij ACRRES-Wageningen UR

Een voorbeeld van een algenproductiefaciliteit die al jaren in bedrijf is, is te vinden bij het biologische melkveebedrijf Kelstein in Hallum (Foto 6). Middels vier fotobioreactoren en drie vijversystemen worden algen geteeld waarbij reststromen van de biogasinstallatie worden gebruikt. De hier gekweekte algen worden voor namelijk toegepast in veevoeders.



Foto 6: Algenvijver bij melkveehouderij Kelstein

Het bedrijf Algaecom heeft verschillende pilot-units voor algen gebouwd en geëxploiteerd. Het bedrijf heeft De Algae XL-bag ontwikkeld, dat is een gesloten algenproductiesysteem dat optimaal gebruik maakt van zonlicht, zie Foto 7. Bij één van de pilots is algenteelt geïntegreerd met de productie van bitumenproducten. De rookgassen van de bitumenrecyclingfabriek worden afgevangen voor algenteelt in de Algae XL-bags. De geoogste algen kunnen vervolgens worden gebruikt in het productieproces van bitumenproducten. Een andere pilot op de proefboerderij Dairy Campus is een algenproductiesysteem van 2500 m² gerealiseerd, dat is geïntegreerd met een mestvergister. Biogas uit de vergister diende als brandstof voor een WKK installatie en de CO₂ houdende uitlaatgassen van de WKK zijn door de Algae XL-bags geleid. In Delfzijl heeft Algaecom de basis gelegd voor een algenproefboerderij van 5 ha in het Waddengebied. De realisatie van dit project is volop in ontwikkeling. (www.algaecom.nl) De Algae XL-bag wordt daarbij niet meer verticaal, maar horizontaal ingezet.



Foto 7: Algae XL-bags van Algaecom (bron: www.algaecom.nl)

In Almere wordt door AlgaSpring in een 1,3 ha groot fotobioreactor-systeem de zoutwater microalg *Nannochloropsis gaditana* gekweekt. (www.algaspring.nl)

Nutress (onderdeel van Phycom) kweekt binnenshuis algen in een gesloten systeem en verkoopt deze voornamelijk als voedingsproducten. (www.nutress.eu en www.phycom.eu).

4 Gewasbescherming met algen

Er zijn vele ziekten, plagen en onkruiden die de teelt van gewassen of andere vegetatiegroei negatief kunnen beïnvloeden. Micro-algen bieden goede kansen voor effectieve gewasbescherming. Vooral cyanobacteriën produceren veel verschillende allelochemische¹ stoffen. In de volgende paragrafen wordt de aangetoonde werking van microalgen tegen verschillende aantasters uit de literatuur behandeld. Achtereenvolgens komt werking tegen schimmels (fungicidewerking), aaltjes (nematicidewerking), insecten (insecticidewerking), slakken (molluscicidewerking), onkruiden (herbiciden) en andere algen (algicidewerking) aan bod.

4.1 Fungicidewerking

Bodemschimmels

Rhizoctonia solani en *Sclerotinia sclerotiorum* werden in vitro geremd door stoffen die door *Nostoc* zijn geproduceerd. (Kulik, 1995)

De fungicide werking van stoffen die door *Calothrix elenkenii* geproduceerd worden tegen 'damping-off disease' is onderzocht in de groentegewassen tomaat, chilipeper en aubergine. De behandelingen bestonden uit zaden geweekt in water (controle), kweekfiltraat en ethylacetaatextract van *Calothrix elenkenii* en Metalaxyl in potgrond geënt met *Pythium aphanidermatum* in plastic potten. Na vier weken bleek de zaadbehandeling met ethylacetaatextracten het beste resultaat wat betreft overblijvende planten en plantparameters. Bij chilipeper werd het hoogste percentage overblijvende planten waargenomen. Er wordt gezocht naar de moleculaire basis van de biocide eigenschappen van *Calothrix elenkenii* en er wordt gewerkt aan een formulering voor het product. (Manjunath et al., 2010)

De werking van antagonistische cyanobacterie/bacterie culturen in compost en theecompost tegen *Fusarium oxysporum*, *Pythium debaryanum*, *Pythium aphanidermatum* en *Rhizoctonia solani* is onderzocht in tomaat. Deze behandelingen zijn vergeleken met de biologische (*Trichoderma*) en de chemische (thiram-carbendazim) standaard. De met *Anabaena oscillarioides* en *Bacillus subtilis* verrijkte compost en de theecompost bleken de ziekten het beste te bestrijden. Beide behandelingen scoorden significant beter op zowel ziektebestrijding als plantparameters. (Dukare et al., 2011)

Ook de antagonistische cyanobacteriën *Anabaena variabilis* en *A. oscillarioides* zijn onderzocht op werking tegen een schimmelcomplex van *Pythium debaryanum*, *Fusarium oxysporum lycopersici*, *Fusarium moniliforme* en *Rhizoctonia solani* in tomatenzaailingen. Zowel compost als vermiculiet/compost mengsels werden verrijkt met deze cyanobacteriën. De met *A. variabilis* verrijkte mengsels gaven significant betere

¹ giftige stoffen die door algen worden geproduceerd om zich te verdedigen tegen andere organismen

plantgroei parameters dan de andere behandelingen, waaronder de biologische (*Trichoderma*) en de chemische (thiram-carbendazim) standaard. De *A. variabilis* in compost/vermiculiet en in compost gaf een 10–15 % lagere ziekteaanbasting en 40–50 % hogere waarden voor vers gewicht en planthoogte dan de chemische en biologische controle behandelingen. In de toekomst zullen diepgaande analyses naar biologische bestrijdingsmechanisme van cyanobacteriën en veldtesten van deze formuleringen uitgevoerd moeten worden. (Chaudhary et al., 2012)



Foto 8: Algen blijken diverse bodemschimmels bij tomatenplanten te bestrijden

Interacties tussen cyanobacteriën, fytopathogene schimmels en de tomatenplant zijn onderzocht voor de ontwikkeling van biologische bestrijdingsmogelijkheden van biotische stress (*Fusarium* verwelkingsziekte) en het versterken van de plant.

Met *Anabaena variabilis* verrijkte compost gaf een significant lagere plantuitval, naast een lagere schimmelbelasting in de bodem. Met cyanobacteriën verrijkte compost leidde ook tot een verbetering van organische koolstof in de bodem, stikstoffixatie en een significante verbetering in groei, opbrengst, fruitkwaliteit parameters, N, P en Zn gehalte. De tripartiete interacties versterkten ook de verdedigingsactiviteit en pathogenese



gerelateerde enzymen in tomatenplanten. Er was een sterk positieve correlatie ($r = 0,729-0,828$) tussen P-gehalte en pathogenese / verdedigende enzymactiviteit. Via licht en elektronen microscopie was cyanobacteriële kolonisatie zichtbaar, die positief gecorreleerd was met verminderde schimmelpopulaties.

De verminderde ziekteaantasting gecombineerd met verbeterde plantgroei/-opbrengsten die met behandelingen met cyanobacteriën werden bereikt, illustreerde het nut van deze nieuwe formuleringen voor geïntegreerde gewasbeschermings- en bemestingsstrategieën bij met *Fusarium* verwelkingsziekte bedreigde tomatengewassen. (Prasanna et al., 2013)

Mogelijke schimmel bestrijdende eigenschappen van compost met cyanobacteriën zijn in katoen getoetst. In de met schimmels geïnfecteerde velden gaf de *Anabaena-T. viride* biofilm formulering de beste resultaten, namelijk 11,1% lagere plantuitval dan de commerciële *Trichoderma* formulering. Elektronische microscopie scans bevestigden de kolonisatie van de geïnculeerde cyanobacterie/biofilms op de wortels. Er was een significante correlatie tussen plantuitval, toegenomen hydrolytische enzymen en versgewicht van de plantenwortels. *Calothrix sp.* en *Anabaena sp.* gaven veelbelovende resultaten zowel als groeibevorderaars en als biologische bestrijdingsmiddelen, terwijl de biofilm formuleringen de uitval van katoenplanten in zieke veldjes substantieel verminderde. (Prasanna et al., 2015)

Bladschimmels

Fischerellin A. is de meest actieve allelochemische verbinding van *Fischerella muscicola*. Deze verbinding geeft al bij 250 ppm totale groeiremming (100%) van bruine roest (*Uromyces appendiculatus*) op bonen, terwijl er bij echte meeldauw (*Erysiphe graminis*) op gerst bij 1.000 ppm 100% groeiremming is. Valse meeldauw (*Phytophthora infestans*) op tomaat en rijst brandvlekkenziekte (*Pyricularia oryzae*) hebben 80% groeiremming bij 1000 ppm. Tegen Monilia-rot (*Monilinia fructigena*) en oogvlekkenziekte (*Pseudocercospora herpotrichoides*) gekweekt op agar is een minder goede werking waargenomen (30% groeiremming bij 1.000 ppm). (Hageman en Jüttner, 1996)

Twee laboratoriumproeven zijn in vitro uitgevoerd, de eerste om het effect van kweekfiltraten van negen algen stammen (*Anabaena flosaquae*, *Anabaena oryzae*, *Chlorella vulgaris*, *Nostoc muscorum*, *Nostoc humifusum*, *Oscillatoria sp.*, *Phormidium fragile*, *Spirulina platensis* en *Wolleea saccata*) bij concentraties van 10, 20, 30 en 40% te evalueren op myceliumgroei van *Cercospora beticola* dat bladvlekkenziekte in suikerbieten veroorzaakt in vergelijking met verschillende concentraties van het synthetische fungicide Topsin M70 (100, 200, 300 en 400 ppm). In een tweede lab proef is het effect van de hiervoor genoemde behandelingen op sporenproductie van de pathogene schimmels onderzocht. Over het algemeen beperkten alle algenculturen de myceliumgroei, maar de beste resultaten werden bereikt met *Spirulina platensis*, *Oscillatoria sp.* en *Nostoc muscorum*; de hoogste mycelium groeiremming percentages werden behaald met concentraties van 30% (respectievelijk 100, 100 en 82%) en 40% (respectievelijk 100, 100 en 100%). Het chemisch synthetische fungicide Topsin M70 remde de mycelium groei volledig bij concentraties van 200, 300 en 400 ppm. Ook de sporenvorming werd volledig geremd bij de drie genoemde algenculturen (300 en 400 ppm), vooral bij een concentratie van 40%. De resultaten waren vergelijkbaar met



Topsin M70. De schimmelwerking van de algen kweekfiltraten wordt toegeschreven aan de aanwezigheid van bioactieve stoffen in de algen, te weten fenolen, saponinen en alkaloiden.

Er zijn ook potexperimenten uitgevoerd gedurende twee opeenvolgende winter groeiseizoenen om de effectiviteit van bladbespuitingen met de drie effectieve algenculturen op bladvlekkenziekte in suikerbieten in vivo te beoordelen.

Bespuitingen vóór infectie hadden een beter effect op de ziektebestrijding dan na infectie. In vergelijking met de onbehandelde behandeling (controle) werden de beste resultaten verkregen met *Nostoc muscorum* gevolgd door respectievelijk *Spirulina platensis* en *Oscillatoria sp.* Groei en kwaliteit van de suikerbieten was in beide seizoenen aanzienlijk beter bij de bespuitingen met de drie algen kweekfiltraten dan bij de controle. (Hussien et al., 2009)

In twee laboratorium proeven werd het effect van algenwater (*Chlorella spp.*) op vier verschillende *Phytophthora infestans* isolaten getest. Bladponsjes van aardappelplanten werden op een petrischaal met water agar geplaatst en met algenwater en met leidingwater als onbehandelde controle bespoten. Een dag later werden zij met *Phytophthora infestans* geïnoculeerd. Een week na inoculatie werd het percentage bladaantasting en de mate van sporulatie van *P. infestans* beoordeeld in drie klassen (0 = geen sporulatie; 1 = matige sporulatie; 2 = sterke sporulatie). De bespuitingen met algenwater gaven gemiddeld over de twee experimenten en de vier isolaten een significant lagere bladaantasting door *Phytophthora* dan de controle, namelijk 27 ten opzichte van 96 %. Ook de sporulatie-intensiteit was met (0,61) significant lager dan met leidingwater (1,93). (Evenhuis en Schepers, 2013) In opeenvolgende soortgelijke proeven werd geen significant bestrijdingseffect meer waargenomen. Mogelijk heeft de gebruikte algenmix gevarieerd en bij de eerste testen cyanobacteriën bevat, die een rol gespeeld hebben bij het waargenomen bestrijdingseffect in de eerste twee proeven.



Overzicht fungicidewerking

algensoort	groep	formulering	effectief tegen	gewas	bron
<i>Nostoc</i>	cyanobacterie	door <i>Nostoc</i> geproduceerde stoffen	<i>Rhizoctonia solani</i> ² en <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> ⁴	in vitro	Kulik, 1995
<i>Calothrix elenkenii</i>	cyanobacterie	ethylacetaatextracten als seed drench	<i>Pythium aphanidermatum</i> ³	tomaat, chilipeper en aubergine	Manjunath et al., 2010
<i>Anabaena oscillarioides</i>	cyanobacterie	compost verrijkt met zowel <i>A. oscillarioides</i> als <i>Bacillus subtilis</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> ⁴ , <i>Pythium debaryanum</i> ⁵ , <i>Pythium aphanidermatum</i> ⁵ en <i>Rhizoctonia solani</i> ⁶	tomaat	Dukare et al., 2011
<i>Anabaena variabilis</i>	cyanobacterie	compost verrijkt met <i>A. variabilis</i>	<i>Pythium debaryanum</i> ⁵ , <i>Fusarium oxysporum</i> ⁴ <i>lycopersici</i> , <i>Fusarium moniliforme</i> ⁴ en <i>Rhizoctonia solani</i> ⁶	tomaat	Chaudhary et al., 2012
<i>Anabaena variabilis</i>	cyanobacterie	compost verrijkt met <i>A. variabilis</i>	<i>Fusarium</i> ⁴ verwelkingsziekte	tomaat	Prasanna et al., 2013
<i>Calothrix sp.</i> en <i>Anabaena sp.</i>	cyanobacterie	compost verrijkt met <i>Calothrix sp.</i> of <i>Anabaena sp.</i>	diverse schimmels	katoen	Prasanna et al., 2015
<i>Fischerella muscicola</i>	cyanobacterie	allelochemische stof uit <i>F. muscicola</i> : Fischerellin A.	<i>Uromyces appendiculatus</i> ⁶ <i>Erysiphe graminis</i> ⁴ <i>Phytophthora infestans</i> ⁵ <i>Pyricularia oryzae</i> ⁴	bonen gerst tomaat rijst	Hageman en Jüttner, 1996
<i>Spirulina platensis</i> , <i>Oscillatoria sp.</i> en	cyanobacterie	kweekfiltraat als bladbespuiting	<i>Cercospora beticola</i> ⁵	suikerbieten	Hussien et al., 2009

² een basidiomyceet

³ een oömyceet

⁴ een sordariomyceet

⁵ een ascomyceet



<i>Nostoc muscorum</i>					
<i>Chlorella</i> spp. of cyanobacteriën?	groene alg of cyanobacteriën?	algenwater	<i>Phytophthora infestans</i>	aardappelblad	Evenhuis en Schepers, 2013

4.2 Nematicidewerking

Wortelknobbelaaltjes

De effectiviteit van negen kweekfiltraten van algenstammen (*Nostoc muscorum*, *Anabaena flos aquae*, *Anabaena oryzae*, *Chlorella vulgaris*, *Wollea saccata*, *Phormidium fragile*, *Oscillatoria sp.*, *Nostoc humifusum* en *Spirulina platensis*), *Azolla pinnata* (een aquatische varen) waterig extract filtraat en waterig extract filtraat van compost is onderzocht op de beheersing van het wortelknobbelaaltje *Meloidogyne incognita* in komkommer. Uit de laboratorium experimenten bleek dat er hoge juveniele sterftepercentages optraden bij de verschillende blootstellingsperiodes. De beste resultaten werden verkregen 72 uur na blootstelling. Slechts vijf van de cyanobacteriestammen, namelijk *Spirulina platensis*, *Oscillatoria sp.*, *Anabaena oryzae*, *Nostoc muscorum* en *Phormidium fragile*, gevolgd door het waterige compostextract gaven een significante stijging van het juveniele sterftcijfer van boven de 70% bij de hoogste concentratie. Waterig extract filtraat van *Azolla pinnata* aqueous behaalde 69,8% bij dezelfde concentratie, terwijl *Anabaena flos aquae* en *Chlorella vulgaris* het laagste sterftcijfer behaalden (respectievelijk 52,1 en 40,1%). In de kas bereikte de combinatie van vijf algenkweek filtraten van *S. platensis*, *Oscillatoria sp.*, *A. oryzae*, *N. muscorum* en *P. fragile* met *A. pinnata* waterig extract filtraat en compost extract de hoogste afname in aantal 2^e stadium juvenielen, aantal gallen, ontwikkelingsstadia, vrouwtjes, ei gewichten, ei aantallen en ei gewichten in de wortels van de komkommerplanten in vergelijking met de individuele behandeling en de onbehandelde controle. Verder gaven alle combinaties een significante verbetering van het versgewicht van de wortels en de scheuten en een opbrengstverhoging van de komkommerplanten. (Shawky et al., 2009)

Bij extracten en uitscheidingen van cyanobacteriën was er een remming op het uitkomen van de eieren en stierven de tweede fase juvenielen (J2) af. Er waren consistent lagere populatie dichtheden van *Tylenchorhynchus mashoodi*, *Tylenchorhynchus vulgaris*, *Meloidogyne graminicola* en *Meloidogyne triticoryzae* in tarwe en rijstvelden. De afscheidingen en waterige extracten van *Aulosira fertilissima* en *Nostoc muscorum* en de groene alg *Chlorella vulgaris* veroorzaakten J2 sterfte van het wortelknobbelaaltje *M. triticoryzae* en remde het uitkomen van eieren. (Gaur, 1995 in Holajjer et al., 2013).

Een kweekfiltraat van de blauw groene alg *Microcoleus vaginatus* doodde de juvenielen van *Meloidogyne incognita*. Toename van blootstelling en concentratie vergrootte het effect. (Khan et al., 1997 in Holajjer et al., 2013).

De waterige extracten van tien soorten cyanobacteriën (*Synechococcus nidulans*, *Anabaena fertilissima*, *Aulosira pseudoramosa*, *Micochaete sp.*, *Nostoc commune*, *Oscillatoria fremyii*, *Lyngbya sp.*, *Phormidium molle*, *Tolypothrix phyllophila* en *Westiellopsis prolifica*) gaven 57-69% inactivatie van J2 van *M. incognita* binnen 24 uur. Bij *S. nidulans*, *Lyngbya sp.*, *O. fremyii*, *P. molle* en *W. prolifica* was dat sterker dan bij de andere soorten. De nematicide eigenschappen waren zowel aanwezig in de wateroplosbare secundaire metabolieten (afscheidingen) als in het protoplasma (waterige extracten). (Sharma et al., 2007 in Holajjer et al., 2013).

Tien heterocysten vormende en niet heterocysten vormende cyanobacterieën, namelijk *Hapalosiphon luteolus*, *Anabaena variabilis*, *Calothrix brevissima*, *Nostoc punctiforme*, *T. nodosa*, *Scytonema bohneri*, *S. nidulans*, *Microcoleus vaginatus*, *Phormidium tenue* en *Microchaete tenera* zijn gescreend tegen het wortelknobbelaaltje *M. incognita*. Van deze soorten gaf *S. nidulans* de hoogste doding van juvenielen in vitro. (Holajjer, 2010 in Holajjer et al., 2013)

Toxine productie bij *S. nidulans* wordt beïnvloed door de leeftijd van de kweek. Een gesoniceerd extract van een 14 dagen oude kweek geeft een gemiddelde immobiliteit van en 91,3-98,4% en sterfte van 17,4-31,5% bij infectieve stadia van de plant parasitaire nematoden *M. incognita*, *M. graminicola*, *Rotylenchulus reniformis*, *Heterodera avenae* en *Heterodera cajani*. Het behoud van de toxische moleculen in het medium waarin de eieren zich bevinden, speelt een belangrijke rol bij het uitkomen van de eieren. Als bijvoorbeeld het gesoniceerde extract van *S. nidulans* werd vervangen door gedestilleerd water, was er een significante hervatting van het uitkomen van de eieren bij *H. cajani* en *R. reniformis*, maar niet bij *M. incognita*, *M. graminicola* of *H. avenae*. Verder is er nader onderzoek nodig naar het moleculaire mechanisme met betrekking tot de remming van het uitkomen van de eieren. (Holajjer et al., 2012 in Holajjer et al., 2013)

De remming van het uitkomen van de eieren kan variëren tussen de verschillende soorten cyanobacteriën. Bijvoorbeeld de remming door *S. nidulans* en *Lyngbya sp.* was relatief sterker dan die van *O. fremyii*, *P. molle* en *W. prolifica* op het uitkomen van de eieren van *M. incognita* en sterker in extracten dan in afscheidingen. (Sharma and Gaur, 2008 in Holajjer et al., 2013).

De nematicide werking van een waterig extract en van een kweekfiltraat van de cyanobacterie *A. fertilissima* op het uitkomen van de eieren van de wortelknobbelaaltjes *M. triticoryzae* en *M. incognita* J2 is onderzocht. Het kweekfiltraat bleek een groter of meer permanent effect te hebben dan het waterige extract. (Chandel, 2009 in Holajjer et al., 2013).

Wanneer de blauw groene algen *Anabaena oryzae*, *Nostoc calcicola* en *Spirulina spp.* in de grond werden aangebracht, was er een significante vermindering van de eiermassa en het aantal gallen door het wortelknobbelaaltje *M. incognita*, verbeterde de groei van kousenband en nam het aantal rhizobiële knobbeltjes toe. Van de individuele behandelingen gaf *N. calcicola* een grotere afname van aantal gallen en eiermassa, terwijl de drie algen gecombineerd de hoogste afname gaven ten opzichte van onbehandeld. (Youssef en Ali, 1998 in Holajjer et al., 2013).

Het weken van okra zaden in verschillende kweekfiltraten van *M. vaginatus* gaf een significante vermindering van wortelknobbelvorming door *M. incognita* en verhoogde de groei van de planten in potten (Khan et al., 1999 in Holajjer et al., 2013).

Het effect van de inoculumhoeveelheid en het toepassingsmoment van *M. vaginatus* is onderzocht bij de beheersing van *M. incognita* op tomaat in potten in de kas. Plantengroei en tomatenopbrengst namen toe en de vorming van gallen en nematoden aantallen namen af bij toename van de hoeveelheid inoculum van *M. vaginatus*. De algen



hadden een groter effect wanneer *M. incognita* J2 vijf dagen voor de *M. vaginatus* inoculatie werden aangebracht. (Khan en Park, 1999 in Holajjer et al., 2013).

Worteldipbehandeling van tomatenzaailingen in verschillende kweekfiltraten van *M. vaginatus* verminderde wortelknobbelvorming en de nematodenpopulatie en verbeterde de vegetatieve groei en wortelmasse in vergelijking met de controle. Toename van de concentratie van het kweekfiltraat verbeterde het effect. (Khan et al., 2005 in Holajjer et al., 2013).

Twee verschillende toepassingsmethodes van het aanbrengen van gevriesdroogde biomassa van *Nodularia harveyana* rond tomatenplantenwortels zijn getoetst. Verdeling van de biomassa bij een concentratie van 1 gewichtsprocent rond de niet met teeltaarde bedekte wortels reduceerde de wortelknobbelvorming significant. De hogere biomassaconcentratie van 1,5 gewichtsprocent daarentegen gaf niet hetzelfde effect. Dezelfde doseringen van cyanobacterie biomassa, die werden verdeeld rond het gat waar de tomatenplanten die nog teeltaarde aan de wortels werden overgeplant, gaven geen significante verschillen in gal indexwaarden tussen behandelde en controle planten. Het gemiddelde gewicht van de scheuten van de behandelde planten was echter altijd hoger dan bij de controle. (Pushparaj et al., 2000 in Holajjer et al., 2013).

Toepassing van de cyanobacterie *S. nidulans* in de bodem veroorzaakte een vertraagde invasie van *M. incognita* in auberginewortels en een significante afname in de populatieopbouw van de nematoden op aubergineplanten, wat resulteerde in een toename van het vers gewicht van de plant. (Sharma, 2004 in Holajjer et al., 2013).

Aanbrenging van gevriesdroogd cyanobacterie poeder in potgrond 5 dagen voor het planten reduceerde wortel galvorming en de populatie van *Meloidogyne arenaria* en verbeterde de vegetatieve groei en wortelmasse productie van tomatenplanten. (Khan et al., 2007 in Holajjer et al., 2013).

S. nidulans in verschillende formuleringen (Fuller's aarde, vermiculiet en talk) en bij twee doseringen (0,5 en 1 gewicht/volumeprocent) veroorzaakte onderdrukking van de wortel galvorming en nematode infectie, wat resulteerde in betere plantengroei vergeleken met een geïnoculeerde controle in aubergine. Van de drie *S. nidulans* formuleringen resulteerde Fuller's aarde (0,5%) in een significante reductie van de nematode infectie gevolgd door vermiculiet (0,5%). (Holajjer et al., 2010 in Holajjer et al., 2013).



Overige aaltjes

De endosporen van twee soorten van de groen blauwe algen (*Microcoleus vaginatus* en *Microcoleus lacustris*) blijken verscheidene nematode species te infecteren, te weten *Helicotylenchus spp.*, *Tylenchus spp.*, *Tylenchorhynchus spp.*, *Pratylenchus coffeae* en *Radopholus similis*. De in de grond geïnoculeerde endosporen penetreerden de nematoden lichamen binnen 10 dagen. De geïnfecteerde nematoden namen geen voeding meer op en werden traag. De interne organen waren binnen 20 dagen verdwenen. De nematode lichamen gaven refractieve bolletjes af waardoor er verse trichomen en endosporen vrij kwamen. De cuticula van de nematoden lichamen bleven intact, maar de trichomen konden na 45 dagen teruggevonden worden. (Kumar et al., 1993; Dhanam et al., 1994 in Holajjer et al., 2013).

Gedeeltelijk gezuiverde aceton extracten van *Nodularia harveyana* biomassa bleken toxisch te zijn tegen het vrijlevende aaltje *Cephaloboides oxycerca*, maar het kweekfiltraat extract liet geen werking zien. (Pushparaj et al., 1998 in Holajjer et al., 2013).

De nematicide werking van methanolische extracten van de cyanobacterie *Nostoc* tegen *Caenorhabditis elegans* is onderzocht. Zowel de biomassa extracten als de water extracten doodden de nematoden en concentraties van 50% vertraagden de levenscyclus van de nematode. (Biondi et al., 2004 in Holajjer et al., 2013).

Toxische effecten van gesoniceerde celextracten alsmede polaire en apolaire extracten van *S. nidulans* tegen plantparasitaire en nuttige nematoden zijn onderzocht. In de polaire fractie werd een significant hogere doding waargenomen dan in de niet-polaire fractie. (Dutta et al., 2007 in Holajjer et al., 2013).

In een pottenproef is het effect van een gedroogd extract van *Chlorella vulgaris* op de ongeënte wijnstok zaailingen cultivar "Palieri" onderzocht die geïnfecteerd waren met de wortel ectoparasiet *Xiphinema index*. Er werden verschillende doseringen van *Chlorella* onderzocht (0,5; 1,0 en 2,0 gram per plant/pot). Uit de resultaten blijkt een afname van de *X. index* bij de behandelingen met 1 gram *Chlorella*. Er was ook een positief effect op de plantgroei karakteristieken bij dezelfde concentraties. (Bileva, 2013)



Overzicht nematicidewerking

algensoort	groep	formulering	effectief tegen	gewas	bron
<i>S. platensis</i> , <i>Oscillatoria sp.</i> , <i>A. oryzae</i> , <i>N. muscorum</i> en <i>P. fragile</i>	cyanobacteriën	combinatie van genoemde algen met <i>A. pinnata</i> en compost extracten	<i>Meloidogyne incognita</i> ⁶	komkommer	Shawky et al., 2009
<i>Aulosira fertilissima</i> , <i>Nostoc muscorum</i> en <i>Chlorella vulgaris</i>	cyanobacteriën en groene alg	waterige extracten en uitscheidingen	<i>Meloidogyne triticoryzae</i> ⁸	tarwe en rijst	Holajjer et al., 2013
<i>M. vaginatus</i>	cyanobacterie	kweekfiltraat	<i>Meloidogyne incognita</i> ⁸	-	Holajjer et al., 2013
<i>Synechococcus nidulans</i> , <i>Anabaena fertilissima</i> , <i>Aulosira pseudoramosa</i> , <i>Micochaete sp.</i> , <i>Nostoc commune</i> , <i>Oscillatoria freyia</i> , <i>Lyngbya sp.</i> , <i>Phormidium molle</i> , <i>Tolypothrix phyllophila</i> en <i>Westiellopsis prolifica</i>	cyanobacteriën	waterige extracten en uitscheidingen	<i>M. incognita</i> ⁸	-	Holajjer et al., 2013
<i>S. nidulans</i>	cyanobacterie	-	<i>M. incognita</i> ⁸	in vitro	Holajjer et al., 2013
<i>S. nidulans</i>	cyanobacterie	gesoniceerd extract	<i>M. incognita</i> ⁸ , <i>M. graminicola</i> ⁸ , <i>Rotylenchulus reniformis</i> ⁸ , <i>Heterodera avenae</i> ⁸ en <i>Heterodera cajani</i> ⁸	-	Holajjer et al., 2013
<i>S. nidulans</i> en	cyanobacteriën	extracten	<i>M. incognita</i> ⁸	-	Holajjer et al., 2013

⁶ Secernentea



<i>Lyngbya sp.</i>					
<i>A. fertilissima</i>	cyanobacterie	kweekfiltraat	<i>M. triticoryzae</i> ⁸ en <i>M. incognita</i> ⁸	-	Holajjer et al., 2013
<i>Anabaena oryzae</i> , <i>Nostoc calcicola</i> en <i>Spirulina spp.</i>	cyanobacteriën		<i>M. incognita</i> ⁸	kouseband	Holajjer et al., 2013
<i>M. vaginatus</i>	cyanobacterie	kweekfiltraten waarin zaden geweekt werden	<i>M. incognita</i> ⁸	okra	Holajjer et al., 2013
<i>M. vaginatus</i>	cyanobacterie	-	<i>M. incognita</i> ⁸	tomaat	Holajjer et al., 2013
<i>N. harveyana</i>	cyanobacterie	gevriesdroogde biomassa	<i>Meloidogyne</i> ⁸	tomaat	Holajjer et al., 2013
<i>S. nidulans</i>	cyanobacterie	-	<i>M. incognita</i> ⁸	aubergine	Holajjer et al., 2013
-	cyanobacterie	gevriesdroogde biomassa	<i>Meloidogyne</i> ⁸ <i>arenaria</i>	tomaat	Holajjer et al., 2013
<i>S. nidulans</i>	cyanobacterie	in Fuller's aarde	<i>Meloidogyne</i> ⁸	aubergine	Holajjer et al., 2013
<i>Nodularia harveyana</i>	cyanobacterie	Gedeeltelijk gezuiverde aceton extracten	<i>Cephaloboides oxycerca</i>	-	Holajjer et al., 2013
<i>Nostoc</i>	cyanobacterie	biomassa extracten en water extracten	<i>Caenorhabditis elegans</i> ⁷	-	Holajjer et al., 2013
<i>Synechococcus nidulans</i>	cyanobacterie	polaire extracten	plantparasitaire en nuttige nematoden	-	Holajjer et al., 2013
<i>Microcoleus vaginatus</i> en <i>Microcoleus lacustris</i>	cyanobacteriën	endosporen	<i>Helicotylenchus spp.</i> ⁸ , <i>Tylenchus spp.</i> ⁸ , <i>Tylenchorhynchus spp.</i> ⁸ , <i>Pratylenchus coffeae</i> ⁹ en <i>Radopholus similis</i> ⁸	-	Holajjer et al., 2013
<i>Chlorella vulgaris</i>	groene alg	gedroogd extract	<i>Xiphinema index</i> ⁸	druivenzaailingen	Bileva, 2013

⁷Chromadorea

⁸ Adenophorea

4.3 Insecticidewerking

Muskieten

Een groot deel (ongeveer 26%) van de cyanobacteriën die uit de Florida Everglades en andere Zuid-Florida zoetwaterbronnen geïsoleerd zijn, lijken de ontwikkeling van muggenlarven te remmen. (Berry et al., 2008)

De cyanobacterie *Oscillatoria agardhii* was zeer giftig voor de larvale stadia van de gele koorts mug *Aedes aegypti*: de 24-uur LC50-waarden tegen de vierde en tweede instar larven van *A. aegypti* waren respectievelijk 8,7 en 6,1 per µg levende cellen per ml. Het toxine was in water oplosbaar en werd gedeeltelijk gezuiverd, maar de chemische aard van de toxische verbinding(en) is nog onbekend. (Kiviranta en Abdel-Hameed, 1994)

Uit laboratoriumproeven met methanolische extracten van de cyanobacterie *Westiellopsis* sp. blijkt dat er effectiviteit is tegen muskieten ziektevectoren, waaronder tegen *Bacillus sphaericus* resistente muskieten. (Rao et al., 1999)

Hoewel de meeste algen voedzaam zijn voor muggenlarven, doden sommige soorten de larven bij inname van grote hoeveelheden. De belangrijkste beperking van toepassing van onverteerbare algen voor muskieten bestrijding ligt echter in het feit dat, onder bepaalde voorwaarden, zij niet alle voedzame algen in het leefgebied kunnen vervangen. Meer onderzoek naar technieken naar volledige vervanging zal nodig zijn voordat onverteerbare algen operationeel gebruikt kunnen gaan worden voor muskietenbestrijding. (Marten, 2007)

4.4 Molluscicidewerking

Waterslakken

De bijproducten van de blauwgroene alg *Spirulina platensis* hebben een dodelijk effect tegen volwassen *Biomphalaria Alexandrina* waterslakken (de tussengastheer van *Schistosoma mansoni* in Egypte), verminderen of stoppen het leggen van eitjes en minimaliseren daardoor de slakkenpopulatie die beschikbaar is voor overleving van de parasiet *Schistosoma mansoni*. (Mostafa en Gawish, 2009)



4.5 Herbicidewerking

Eendenkroos

Fischerellin A, de meest actieve allelochemische verbinding van de cyanobacterie *Fischerella muscicola* is een krachtige fotosysteem-II remmer. Er zijn herbicide effecten aangetoond tegen eendenkroos (*Lemna minor*) bij 50 μM (60% PS II-remming, 44% groeiremming), terwijl bij 100 μM , het fotosysteem bijna geheel geblokkeerd werd (98% PS II-remming, 74% groei remming). (Hageman en Jüttner, 1996)

4.6 Algicidewerking

Lipofiele en waterige extracten van verschillende microalgensoorten zijn gescreend op werking tegen andere algen. Vooral *Fischerella* had een goede remmende werking op al de andere getoetste algensoorten. *Fischerella* produceert vermoedelijk allelopathische verbindingen, waaronder fischerellinen en hapalindole alkaloiden, die de fotosynthese en RNA polymerisatie remmen. (Berry et al., 2008)

Metabolieten van de cyanobacteriën *Nodularia harveyana* en *Nostoc insulare* blijken een goede algicide (anticyanobacteriële) werking te hebben (bij concentraties van 8-80 mg/ml). (Volk en Furkert, 2006)

4.7 Conclusies gewasbescherming

Stoffen uit microalgen (met name uit cyanobacteriën) blijken in diverse onderzoeken uit de literatuur een goede bestrijding te geven van verschillende schimmels en aaltjes die in landbouwgewassen schade aanrichten. In de literatuurbronnen variëren de werkzame stoffen van extracten, filtraten en gevriesdroogde biomassa tot uitscheidingsproducten en sporen van microalgen. Veelal worden de allelochemische eigenschappen van de metabolieten van cyanobacteriën genoemd. Bij schimmels zijn onderzoeksresultaten bekend tegen zowel bodem- als bladschimmels. Ook meerdere aaltjes, vooral wortelknobbelaaltjes, blijken gevoelig te zijn. Verder is er (buiten de landbouw) insecticide-, molluscicide-, herbicide- en algacidewerking met stoffen uit cyanobacteriën aangetoond.



Foto 9: Stoffen uit micro-algen hebben potentie als gewasbeschermingsmiddel

5 Bemesting en bodemverbetering met algen

5.1 Bemesting

Rijst

Al een halve eeuw geleden werd het effect van het inoculeren van rijstvelden met de stikstofbindende blauwgroene alg *Tolypothrix tenuis* op 9 proefbedrijven in verschillende streken van Japan onderzocht gedurende 5 jaar. De gemiddelde opbrengstverhoging van rijst op deze relatief stikstofarme gronden van geïnoculeerde ten opzichte van niet-geïnoculeerde grond was: het 1^e jaar 2,0%, het 2^e jaar 8,0%, het 3^e jaar 15,1%, het 4^e jaar 19,5% en het 5^e jaar 10,6%. Door accumulatie van de algen cellen in het rijstveld steeg het gunstige effect van algen inoculatie jaar na jaar. (Watanabe, 1962)

Uit diverse literatuurbronnen blijkt dat cyanobacteriën ongeveer 20 of meer kg N per ha per jaar kunnen vastleggen, waarmee 30% of meer van de stikstofbehoefte van rijst kan worden afgedekt (Metting, 1996; Mostafa, 2012; Mishra et al, 2013; Hashem, 2001).

Door combinatie van mineralisatie van de bodemstikstof en stikstoffixatie van bacteriën kan in 50-60% van de stikstofbehoefte van rijstvelden worden voorzien (Mishra et al., 2013)



Foto 10: Cyanobacteriën leggen ongeveer 20 kg N per ha per jaar vast, dat is 30% de stikstofbehoefte van rijst

In Bangladesh zijn proeven uitgevoerd om efficiënt gebruik van cyanobacteriën als biologische stikstofmeststof bij de rijstteelt te verbeteren, zie Tabel 2. Resultaten van de



veldproeven tonen aan dat cyanobacteriën de vruchtbaarheid van probleemgronden als zure en zoute gronden kunnen verbeteren en 25-35% van de stikstofbehoefte kunnen geven. (Hashem, 2001)

Tabel 2: Effecten van de verschillende behandelingen op de korrelopbrengst (ton/ha) van rijst bij verschillende grondsoorten (Hashem, 2001)

behandeling	grondsoort				
	zuur	kalkrijk	zout	rood	neutraal
Controle	3,78 h	3,96 h	3,84 h	3,49 h	3,98 h
A	6,04 c	5,82 a	6,26 c	5,75 c	6,21 a
A-15%N	5,48 e	5,17 d	5,56 e	5,19 d	5,56 d
A-15%N+CB	6,26 b	5,68 b	6,46 b	6,12 a	5,87 b
A-30%N	4,92 f	4,64 f	4,83 f	4,52 f	4,93 f
A-30%N+CB	6,34 a	5,32 c	6,82 a	5,95 b	5,65 c
A-45%N	4,32 g	4,13 g	4,65 g	3,89 g	4,12 g
A-45%N+CB	5,74 d	5,03 e	5,78 d	5,01 e	5,15 e

A= aanbevolen kunstmestgift

CB=cyanobacteriën

Er is nog een proef in rijst op zoute grond in Bangladesh uitgevoerd, waarbij 20% van de stikstofgift werd vervangen door 20 kg inoculum van 8 cyanobacteriesoorten. Er werd een significant hogere korrel- en stro opbrengst waargenomen dan bij de aanbevolen kunstmestgift, zie Tabel 3. (Aziz en Hashem, 2004)

Tabel 3: Effecten van de verschillende behandelingen op de korrel- en stro opbrengst (ton/ha) van rijst bij zoute grond (Aziz en Hashem, 2004)

behandeling	korrelopbrengst (ton/ha)	stro opbrengst (ton/ha)
Controle	2,51 e	3,49 e
A	4,07 b	5,95 b
A-20%N	3,62 c	5,05 c
A-20%N+CB	4,53 a	6,38 a
A-40%N	3,12 d	4,57 d
A-40%N+CB	4,01 b	5,65 b

A= aanbevolen kunstmestgift

CB=cyanobacteriën

Andere landbouwgewassen

In Egypte zijn veldproeven in bonen (*Phaseolus vulgaris*) uitgevoerd om het gebruik van minerale stikstof te verminderen door toepassing van de blauwgroene algen *Nostoc muscorum*, *Nostoc humifusum*, *Anabaena oryzae*, *Wolleea sp.*, *Phormedium* en *Spirulina platensis*. Mengsels van deze cyanobacteriën zijn als zaad- en/of bodembehandeling toegepast bij 50 en 85 % van de aanbevolen minerale stikstof.

De verschillende toepassingen van cyanobacteriën resulteerden in positieve significante opbrengsteffecten, zie Tabel 4. De resultaten geven aan dat een kwart of de helft van de aanbevolen minerale stikstofgift kan worden bespaard door het gebruik van cyanobacteriën. Verder werd ook de biologische activiteit in de bodem verbeterd wat bleek uit een toename van bacteriële en cyanobacteriële tellingen, CO₂ ontwikkeling, dehydrogenase en nitrogenase activiteiten. (Hegazi et al., 2010)

Tabel 4: Opbrengst van gewone boon (var. Nebraska) in 2008 en 2009 bij verschillende stikstofgiftten met verschillende toepassingsmethoden van cyanobacteriën (Hegazi et al., 2010)

Behandeling	Opbrengst (kg/veld)	
	2008	2009
100%N	976,5 e	983,5 e
75%N	876,5 f	889,0 f
50%N	825,5 g	837,5 g
50%N+zaad coating	1.101 c	1.119 cd
75%N+zaad coating	1.086 c	1.139 c
50%N+ bodembehandeling	1.020 d	1.093 d
75%N+bodembehandeling	1.092 c	1.110 cd
50%N+zaad coating +bodembehandeling	1.155 b	1.181 b
75%N+zaad coating +bodembehandeling	1.187 a	1.254 a

In pottenproeven met tarwe in de kas zijn drie cyanobacteriën uit de rhizosfeer van tarwe onderzocht op groei effecten. De behandelingen waarin alle drie de cyanobacteriën werden toegepast met 1/3 van de stikstof gaven statistisch vergelijkbare graanopbrengsten als de volledige kunstmestgift, zie Tabel 5. (Karthikeyan et al., 2007)



Tabel 5: Invloed van cyanobacteriën op het planten drooggewicht van tarwe in gram per pot in de kas (Karthikeyan et al., 2007)

behandeling	planten drooggewicht van tarwe (gr/pot)
volledige NPK gift, geen inoculatie	15.299
2/3 N + PK, geen inoculatie	11.104
1/3 N + PK, geen inoculatie	9.457
1/3 N + PK + K1	13.558
1/3 N + PK + K2	12.731
1/3 N + PK + K3	11.585
1/3 N + PK + K1K2	12.562
1/3 N + PK + K1K3	10.769
1/3 N + PK + K2K3	16.862
1/3 N + PK + K1K2K3	15.610
CD (P < 0.05)	1.9828
SEd	0.9505

K1, *Calothrix ghosei*; K2, *Hapalosiphon intricatus*; K3, *Nostoc sp.*

Recent werd ook onderzoek bekend uit België waar de algensoort *Nannochloropsis* en op afvalwater gegroeide algen/bacterievlokken werden gebruikt als meststof in tomaat. De tomaten bevatten hierdoor 30% meer suikers en 70% meer caretenoiden, met meer kleur en smaak als resultaat (Coppens et al, 2015).

5.2 Bodemverbetering

Stikstofbindende blauwgroene algen kunnen een belangrijke rol spelen bij het behoud van bodemvruchtbaarheid, maar kunnen direct of indirect ook op andere manieren een positief effect hebben op hogere planten. Ze kunnen de bodemvochtigheid helpen behouden, erosie tegengaan en een toename geven van essentiële micro-elementen in de bodem die nodig zijn voor plantengroei en de opname van plantenionen. (Rodgers et al., 1979; Shariatmadari et al., 2013) De algen kunnen bodemdeeltjes samenbinden, dankzij kleverige eigenschappen van het overvloedige slijm dat door vele algensoorten uitgescheiden wordt. Doordat gedroogde algen korsten een relatief ondoordringbare deklaag over het grondoppervlak vormen kunnen ze bodemerosie en waterverlies door verdamping uit de bodem verminderen. (Rodgers et al., 1979) Stikstofbindende cyanobacteriën in woestijnkorsten leveren een belangrijke bijdrage aan de vruchtbaarheid van woestijnbodems en kunnen uiteindelijk vegetatie van woestijnen vergemakkelijken. (Mostafa, 2012) Microalgen worden in de landbouw naast biologische meststof ook als bodemverbeteraar toegepast. Op kleine schaal zijn palmelloïde (slijmproducerende) microalgen van het geslacht *Chlamydomonas* (*Chlorophyceae*; een groene algensoort) gebruikt als bodemverbeteraars bij erosiebestrijding van pivot (cirkel) geïrrigeerde gronden in Noord-Amerika. (Metting, 1996) Recent onderzoek bij het Franse INRA (Crouzet et al., 2013) meldt dat microalgen en cyanobacteriën een niet te verwaarlozen rol spelen in de bodemvruchtbaarheid en 10% van de microbiële biomassa in de bodem bedraagt (vooral in bovenste 5 cm). Daar deze organismen nauwer verwant

zijn aan de hogere planten zouden met name de onkruidbestrijdingsmiddelen die veel gebruikt worden in de landbouw, een negatief effect hierop kunnen hebben en dit is in een aantal onderzoeken aangetoond.

Sommige rapporten geven aan dat blauwgroene algen biologisch actieve verbindingen in de bodem kunnen afgeven en dat deze verbindingen dan door hogere planten geassimileerd kunnen worden, waarmee hun groei significant verbeterd wordt. (Rodgers et al., 1979) Het vergroten van de biologische activiteit in de bodem uit zich in toename van het totaal aantal tellingen van bacteriën en cyanobacteriën, CO₂-ontwikkeling, dehydrogenase en nitrogenase activiteiten. (Mostafa, 2012)

Veel bodems in Zuid-Afrika hebben een lage nutriëntenaanvoer, slechte structuur en zijn gevoelig voor erosie als gevolg van gevoeligheid voor oppervlakteafdicthting en korstvorming. Twee korstvormende bodems uit de Oostkaap provincie in Zuid-Afrika zijn gebruikt om de effecten van inoculatie met een stam van *Nostoc* op de bodemstructuur, -vruchtbaarheid en groei van maïs te onderzoeken. De *Nostoc* suspensie werd gelijkmatig aangebracht over de potten met grond in een dosering van 6 g (droog gewicht) per vierkante meter snel na het kiemen van de maïs. *Nostoc* verbeterde de hoeveelheid bodemkoolstof, bodemstikstof en extracellulaire polymere stoffen (EPS; slijmerige stoffen) in beide bodems. De toename in bodemstikstof vertaalde zich in een verbeterde groei van maïs en stikstofopname in beide bodems. *Nostoc* inoculatie gaf een toename in bodem N van respectievelijk 17 en 40% in Hertzog en Guquka bodems. De bodem C was ook significant toegenomen en deze toename hing nauw samen met de toename in bodem N ($R^2 = 0,838$). De droge stofopbrengst was door *Nostoc* respectievelijk 49 en 40% hoger bij Hertzog en Guquka bodems. Het totale bodemaggregaat van beide bodems werd verbeterd als gevolg van de verhoogde productie van EPS en bodem C bij de met *Nostoc* geïnoculeerde grond. De resultaten geven aan dat cyanobacteriën gescreend op EPS productie en stikstofbindend vermogen de productiviteit van N arme gronden kunnen verbeteren en bijdragen aan de verbetering van de structurele stabiliteit van fysisch verslechterde bodems in Zuid-Afrika. (Maqubela et al., 2009)

Behandelingen met een microalgen suspensie hadden een significant positief effect op het organische stofgehalte, CEC en PH en de diversiteit van microalgen. Dit bleek in een onderzoek in de VS, waarbij de microalgen suspensie tijdens en na de maïsogst via irrigatie werd toegediend na intensief met maïs beteelde en met herbicide behandelde grond. (Hastings et al., 2014)

5.3 Conclusies bemesting en bodemverbetering

In de tropische rijstteelt worden cyanobacteriën al jarenlang toegepast als bio meststof, deze praktijk wordt algalisatie genoemd. De blauwgroene algen leggen 20 of meer kg N per ha per jaar vast, waarmee 30% of meer van de stikstofbehoefte van rijst kan worden afgedekt. Naast rijst blijkt er met gebruik van cyanobacteriën ook in bonen, tarwe en maïs bespaard te kunnen worden op de minerale stikstofgift en wordt soms ook opbrengstverhoging gevonden los van de bemestingseffecten.

Microalgen worden behalve als biologische meststof ook als bodemverbeteraar toegepast. Ze kunnen de biologische activiteit in de bodem verhogen en een toename van bodemkoolstof, bodemstikstof, essentiële micro-elementen, bacteriën en slijmerige stoffen geven. Hierdoor kunnen zij de bodemvochtigheid behouden, erosie tegengaan, probleemgronden als zoute, zure of woestijngronden vruchtbaarder maken en fysisch verslechterde bodems verbeteren.

Tenslotte is onderzoek gerapporteerd waarin positieve smaakeffecten bij het geogste product werden na gebruik van algen als meststof.



Foto 11: Microalgen kunnen behalve als biologische meststof ook als bodemverbeteraar worden toegepast

6 Plantstimulatie met algen

Verskillende microalgensoorten produceren stoffen die de groei en ontwikkeling van planten positief beïnvloeden. In de onderzochte literatuurbronnen worden de volgende stoffen genoemd:

- auxinen (Shariatmadari et al., 2013; Mishra et al, 2013; Mostafa, 2012; Prasanna et al., 2010; Brahmbhatt en Kalasariya, 2015)
- aminozuren (Shariatmadari et al., 2013; Mostafa, 2012; Brahmbhatt en Kalasariya, 2015; Spruijt et al., 2014)
- vitaminen (Shariatmadari et al., 2013; Mostafa, 2012; Brahmbhatt en Kalasariya, 2015; Spruijt et al., 2014)
- gibberellinen (Mishra et al, 2013; Mostafa, 2012; Prasanna et al., 2010)
- suikers (Shariatmadari et al., 2013; Brahmbhatt en Kalasariya, 2015; Spruijt et al., 2014)
- abscisinezuur (Mostafa, 2012; Prasanna et al., 2010)
- indoolazijnzuur (Mishra et al, 2013)
- polypeptiden (Mostafa, 2012)
- ethyleen (Mostafa, 2012)
- cytokininen (Prasanna et al., 2010; Wong et al., 2015)

Bij bio meststoffen blijken fytohormonen als cytokininen, auxinen en gibberellines de groei stimulerende stoffen te zijn die cel proliferatie regelen en daarmee de plant groei en –ontwikkeling verbeteren. (Wong et al., 2015) Bij veel algensoorten is de concentratie aan fytohormonen vergelijkbaar met die van hogere planten (Trakhovskaya et al., 2006)

In de volgende paragrafen worden onderzoeksresultaten opgesomd waaruit de groeibevorderende eigenschappen van extracten van vooral cyanobacteriën blijken. In de eerste paragraaf met betrekking tot kieming, blad- of stengelgroei, bloei en vruchtvorming en de tweede paragraaf behandelt de onderzochte effecten van cyanobacterie-extracten bij verschillende vermeerderingstechnieken. In de derde paragraaf wordt de mogelijke bijdrage van algen aan weerstandsverhoging bij planten behandeld.

6.1 Kieming, blad- of stengelgroei, bloei en vruchtvorming

Inoculatie van de bodem met algensuspensies of -uitscheidingen bij potten met radijs- of tomatenplanten, resulteerde in een verhoogde groei van beide planten en verhoogde hun totale opbrengst. Geautoclaveerde exudaten waren over het algemeen net zo effectief als verse exudaten. De proeven met tomatenplanten geven aan dat de algen groei stimulerende stoffen produceren. Het effect wordt waarschijnlijk niet veroorzaakt door fixatie en overdracht van stikstof van de algen, want ook de niet stikstofbindende algen *Plectonema* en *Oscillatoria* gaven een betere plantengroei. Zoals blijkt uit behandelingen met algen exudaten worden de biologisch actieve stoffen vrijgegeven door algen die groeien in de vloeibare kweek. Deze stoffen worden ook vrijgegeven door algen die op het bodemoppervlak groeien na toevoeging van algen suspensies. Groeibevorderende



verbindingen worden of vrijgegeven door levende of dode en afgebroken algencellen. De levenscyclus van draadvormige blauwalgen is vaak kort, met cellen die een levensduur van slechts een paar uur hebben. (Rodgers et al., 1979)

De laatste jaren worden er in de agrarische biotechnologie vaker combinaties van verschillende soorten micro-organismen gebruikt in plaats van een enkele microbiologische soort. Twee cyanobacteriële culturen van rijstvelden in Kazachstan zijn geïsoleerd en gekarakteriseerd als *Anabaena variabilis* en *Nostoc caldicola*. Op basis van deze culturen zijn de volgende nieuwe consortia ontwikkeld: ZOB1 (*Anabaena variabilis*, *Chlorella vulgaris*, en *Azotobacter sp.*) en ZOB2 (*Nostoc caldicola*, *Chlorella vulgaris*, en *Azotobacter sp.*). Er werd een sterke groei en fotosynthetische activiteit van microalgen waargenomen in deze consortia. Het actieve consortium ZOB1 werd geselecteerd en aanbevolen als bio stimulator en bio meststof, omdat het de kieming en groei van rijstplanten bevorderde. (Zayadan et al., 2014)

Verskillende onderzoekers hebben een toename in rijstkieming, wortel- en scheutgroei, korrelgewicht en eiwitgehalte waargenomen door groeibevorderende stoffen van cyanobacteriën. Zo is o.a. de aanwezigheid van auxine-achtige stoffen in zowel *Nostoc* als *Hapalosiphon* aangetoond in hoeveelheden van respectievelijk 3,76 en 4,48 µg/g. De geconcentreerde kweekfiltraten van de cyanobacteriën *Calothrix ghosei*, *Hapalosiphon intricatus* en *Nostoc sp.* konden het kiempercentage en de lengte van wortelkiem en kiemzakje verbeteren in imbibitie onderzoeken met tarwe zaden. (Prasanna et al., 2010)

Er zijn pottenproeven bij komkommer, tomaat en pompoen uitgevoerd waarbij algenextracten van *Anabaena vaginicola* en *Nostoc calcicola* op de grond werden gespoten. Planthoogte, wortellengte, droog en vers gewicht van de plant en het aantal bladeren 40 dagen na planten werden geteld. Op deze parameters waren er statistisch significante verschillen vergeleken met de onbehandelde controle. In aanvullende studies werd de nitrogenase activiteit van deze taxa bepaald door de acetyleen reductietechniek en identificatie van fytohormonen werd uitgevoerd met hogedrukvloeistofchromatografie (HPLC). Op basis van deze studies kan worden verondersteld dat de chemische inhoud van algen extracten en de productie van plantaardige groei-stimulerende stoffen zoals fytohormonen factoren zijn die de plantgroei parameters beïnvloeden. De concentratie van fytohormonen (de auxines IAA, Indole 3-acetic acid en IBA, Indole 3-butyric acid) in *Nostoc calcicola* was hoger dan in *Anabaena vaginicola*, terwijl de nitrogenase activiteit van de *Anabaena* soort juist hoger was dan die van de andere soorten. (Shariatmadari et al., 2013)

Oscillatoria sp. en *Spirogyra sp.* zijn als inoculum gebruikt bij de kweek van *Medicago sativa L.* (alfalfa) op platen en in potten. Het voorweken van zaden in algenextracten gaf een significante verbetering van percentage kieming, planthoogte en aantal bladeren in vergelijking met de controle. De resultaten met *Spirogyra sp.* waren beter dan met *Oscillatoria sp.* Op basis van literatuurbronnen kan verondersteld worden dat de productie van groeisubstanties en vitaminen de plantgroei en opbrengst verhoogden. De capaciteit voor biosynthese van groeibevorderende stoffen zoals auxines, aminozuren, suikers en vitaminen (vitamine B12, foliumzuur, nicotinezuur en pantotheenzuur) kunnen de opbrengst ook verhogen. Nog een andere oorzaak kan zijn dat de groei van algen in de bodem de fysische en chemische eigenschappen van de bodem lijkt te beïnvloeden.



Het vochthoudend vermogen neemt aanzienlijk toe als gevolg van algengroei en verbetert daardoor de fysieke omgeving van de plant. (Brahmbhatt en Kalasariya, 2015)

In 2008 en 2009 is onderzoek gedaan bij mangobomen op zandgrond met druppelirrigatie in Egypte. Een eenmalige bespuiting van mangobomen in volle bloei met 2% algen in combinatie met 0,2% gist was zeer effectief in het verbeteren van de vruchtzetting, het vasthouden van het fruit, opbrengst in aantal vruchten of gewicht per boom (zie Tabel 6) en gaf een stijging van fruit lengte, fruit breedte, fruitgewicht, pulp / fruit percentage en de totale hoeveelheid oplosbare stoffen (TSS: total soluble solids). Verder verminderde het fruitval en het gewicht van schil en zaad in vergelijking met de controlegroep. Deze behandeling verbeterde de stikstof, kalium en borium inhoud in de bladeren. Anderzijds hadden geen van de behandelingen effect op het blad fosfor percentage. (El-Motty et al., 2010)

Tabel 6: Mango opbrengst in kg per boom bij verschillende bespuitingen met algen en gist (El-Motty et al., 2010)

Behandeling	Opbrengst (Kg/boom)	
	2008	2009
Controle	9,40 i	13,33 i
0,05% gist	10,00 h	14,00 h
0,1% gist	11,51 g	15,51 g
0,2% gist	12,43 f	16,37 f
0,5% algen	14,00 e	18,10 e
1% algen	14,43 e	18,33 e
2% algen	16,65 d	20,67 d
0,5% algen+0,05% gist	18,26 c	21,40 c
1% algen+ 0,1% gist	19,00 b	23,00 b
2% algen+0,2% gist	20,36 a	24,00 a

(El-Motty et al., 2010)

Bij vlas (*Linum usitatissimum* L.) is het effect van de cyanobacteriën *Nostoc commune*, *Anabaena flos-acquae* en *Westiellopsis* sp. op groeiparameters, fotosynthetische activiteit en het antioxidant systeem onderzocht. Zaden die in kweekextracten van deze cyanobacteriën voorgeweekt waren verbeterden het kiemingspercentage, de vegetatieve groei, het chlorofylgehalte en stimuleerden het antioxidantsysteem (carotenoïdegehalte, peroxidase en catalase enzymactiviteit) van de plant en deze effecten waren statistisch significant. Bij alle behandelingen verliep het kiemingsproces van lijnzaad sneller dan bij de controle, ongeacht de toegepaste algensoort. Extracten van 10% van de geselecteerde soorten bleek het beste te zijn voor het verhogen van de groei eigenschappen en het antioxidant systeem. (Naresh et al., 2013)

Drie soorten heterocysten cyanobacteriën (*Anabaena vaginicola*, *Nostoc* sp. en *Nodularia harveyana*) die werden geïsoleerd uit bodems van rijstvelden, werden gebruikt als bio meststof bij komkommer, pompoen en tomaat. De lucht-gedroogde zaden van deze groentegewassen werden 24 uur gedrenkt in algen extracten. Toevoeging van algen extracten verhoogde zaadkieming en groei van de plant bij alle behandelde planten. Statistische analyse toonde aanzienlijke verschillen in planthoogte, wortellengte, aantal

bladeren, vers en droog gewicht van wortel, blad en stengel aan in vergelijking met controle. (Shariatmadari et al., 2011)

Mogelijke groeibevorderende eigenschappen van compost met cyanobacteriën zijn getoetst in katoen. Met *Calothrix* sp. of *Anabaena* sp. verrijkte compost verbeterde de kieming en het versgewicht van de planten en de microbiologische activiteit met 10–15%, naast een (met 20–50%) toegenomen hoeveelheid beschikbare stikstof in de grond. (Prasanna et al., 2015)



Foto 12: Er zijn positieve effecten van diverse extracten van cyanobacteriën op kieming, blad- en/of stengelgroei, bloei en/of vruchtvorming van landbouwgewassen

6.2 Vermeerdering

Uit een proef met extracellulaire bioactieve stof(fen) van *Tolypothrix tenuis* bleek dat deze cyanobacterie een mengsel van thermolabele groeiregulatoren bevat dat synthetische plantengroeiregulatoren zou kunnen vervangen en het effect op rijst callus organogenese zou kunnen verbeteren. (Storni de Cano et al., 2003)

De intra- en extracellulaire stoffen uit *Scytonema hofmanni* (cyanobacteriën) zijn onderzocht op morfogenetische en antioxidant effecten bij de in vitro vermeerdering van *Lilium alexandrae* (lelie) en vergeleken met NAA. Naftaleen azijnzuur (NAA) is een giftige, synthetische planten groeiregulator die toegepast wordt bij microvermeerdering.



De stoffen uit *Scytonema hofmanni* bleken NAA (wat gevaarlijk is voor de toepasser) te kunnen vervangen, niet alleen tijdens de regeneratiefase maar ook tijdens de bewaring van de levensvatbare in vitro gekweekte bolletjes. (Zaccao et al., 2006)

Toevoeging van een extract van de mariene cyanobacterie *Synechococcus sp.* aan somatische embryo's van *Daucus carota L.* (wilde peen) leidde tot de ontwikkeling tot plantjes bij een hoge frequentie. (Wake et al., 1992)

Cyanobacteriële extracten van *Plectonema boryanum* stimuleerden somatische embryogenese en somatische embryo-ontwikkeling in het weefselkweek van *Santalum album* (sandelhout) in bepaalde mate, maar was minder effectief dan conventionele groeiregulatoren. (Bapat et al., 1996)

Toevoeging van verschillende concentraties van cyanobacteriën-extracten van *Anabaena* en *Anacystisnidulans* op de omzetting van somatische embryo's naar planten van bananen had bij beide soorten cyanobacteriën effect. Zowel de omzetting van embryo's naar plantjes, als de wortel- en scheutontwikkeling werd gestimuleerd. (Srinivas et al., 2002)

6.3 Weerstandshoging

Microalgen kunnen ook bijdragen aan de groei van planten door de weerstand tegen biotische en abiotische stress te verminderen. Verhoogde gehalten aan antioxidanten, hogere antioxidant activiteit, betere wortelontwikkeling en hogere aantallen en het gewichten van vruchten en zaden zijn een aantal van de effecten die bij experimenten zijn waargenomen. Bijvoorbeeld *Nannochloris sp.* verlichtte negatieve gevolgen van droogte stress op de ontwikkeling van de plant in tomaten. (Voort et al., 2015) In Hoofdstuk 5 werd al weergegeven dat ook los van de bemestingseffecten opbrengstverhogingen met microalgen zijn waargenomen. Het is nauwelijks bekend welk werkingsmechanisme ten grondslag ligt aan de effectiviteit van microalgen tegen verschillende ziekten en plagen. In Hoofdstuk 4 werd aangegeven dat de werkzame stoffen variëren van extracten, filtraten en gevriesdroogde biomassa tot uitscheidingsproducten en sporen van microalgen. De waargenomen effecten kunnen (mede) veroorzaakt worden door weerstandshoging door microalgen bij planten. Er is de laatste jaren veel studie gedaan naar weerstandshoging bij planten door stoffen van allerlei oorsprong, zoals microbiologische inoculanten, humuszuren, aminozuren en planten- en ook algenextracten. (Calvo et al., 2014 en Burketova et al., 2015) Naast voldoende gewasbescherming moeten de stoffen ook op grote schaal geproduceerd kunnen worden om in de agrarische praktijk toegepast te kunnen worden. Algen- en plantenextracten voldoen het beste aan deze beide voorwaarden. (Burketova et al., 2015)



6.4 Conclusies groeiregulatie

Verscheidende microalgensoorten produceren groeibevorderende stoffen als auxinen, aminozuren, vitaminen en gibberellinen. Uit de vele onderzoeksresultaten blijken positieve effecten van diverse extracten van vooral cyanobacteriën op kieming, blad- en/of stengelgroei, bloei en/of vruchtvorming van landbouwgewassen als rijst, katoen, vlas, mango, komkommer, pompoen, tomaat, radijs en alfalfa. Deze positieve effecten op de plantengroei hangen vaak ook nauw samen met de stikstoflevering door cyanobacteriën en de bodem verbeterende eigenschappen.

Verder kunnen cyanobacterie extracten vermeerderingstechnieken verbeteren, zoals bijvoorbeeld blijkt uit onderzoeksresultaten met diverse extracten bij rijst callus organogenese, in vitro vermeerdering van lelies en somatische embryogenese bij wilde peen, sandelhout en bananen.

Microalgen kunnen ook bijdragen aan de groeikracht van planten door de weerstand tegen biotische en abiotische stress te verminderen. De waargenomen effecten van microalgen tegen verschillende ziekten en plagen kunnen (mede) veroorzaakt worden door weerstandsverhoging door microalgen bij planten. Er is de laatste jaren veel studie gedaan naar weerstandsverhoging bij planten door stoffen van allerlei oorsprong, zoals microbiologische inoculanten, humuszuren, aminozuren en planten- en ook algenextracten. Algenextracten bieden daarin goede perspectieven.

7 Nederlandse regelgeving

7.1 Toelating gewasbeschermingsmiddelen

Gewasbeschermingsverordening

Gewasbeschermingsmiddelen mogen alleen op de Europese markt gebracht worden als zij voldoen aan de goedkeuringscriteria voor werkzame stoffen binnen De Verordening gewasbescherming 1107/2009 (hierna: VO-gwb). Dit geldt zowel voor chemische gewasbeschermingsmiddelen als voor gewasbeschermingsmiddelen van natuurlijke oorsprong. Om een toelating voor een gewasbeschermingsmiddel te krijgen zal men de werkzaamheid van de stof, de samenstelling en eigenschappen ervan, de beschikbare analysemethoden, de effecten op de gezondheid van de mens en het milieu, de ecotoxicologie en de relevantie van metabolieten en residuen aan moeten tonen.

Zeewier- en algenextracten zijn krachtens verordening 1107/2009 als werkzame stof goedgekeurd voor de groei regulatie van planten. Er zijn nog geen toelatingen voor algen of algenextracten voor specifiek gebruik als fungicide, nematicide, insecticide of herbicide.

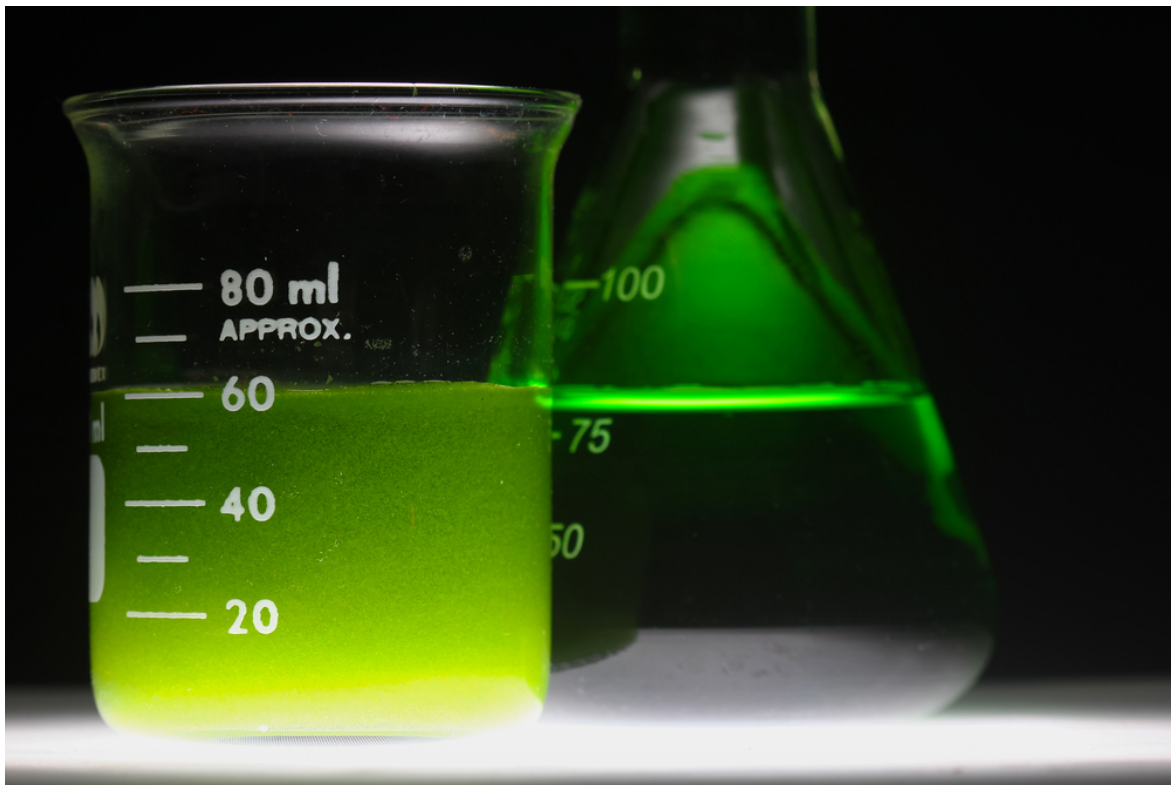


Foto 13: Voordat algen als gewasbeschermingsmiddel of groei regulator op de markt gebracht kunnen worden, moet er eerst geïnvesteerd worden in toelatingsonderzoek



Toelating laag-risico gewasbeschermingsmiddelen

Laag-risico gewasbeschermingsmiddelen leveren een laag risico voor de gezondheid van mens, dier en milieu. Op dit moment is de goedkeuringsprocedure voor laag-risico stoffen niet anders dan voor andere stoffen. Wanneer stoffen aan het eind van het beoordelingsproces aangemerkt worden als een laag-risico stof, biedt dit aanvragers het voordeel dat de stof voor 15 jaar wordt goedgekeurd in plaats van de normale termijn van tien jaar. Bovendien verloopt de zonale toelating sneller (lidstaten dienen binnen 120 dagen een besluit te nemen of de aanvraag wordt goedgekeurd). Op dit moment zijn in de EU (nog) geen gewasbeschermingsmiddelen toegelaten als laag-risico middel. Wel zijn diverse middelen toegelaten met potentiële laag-risico stoffen.

Green Deal Groene Gewasbeschermingsmiddelen

Groene gewasbeschermingsmiddelen zijn laag-risico middelen van natuurlijke oorsprong en natuur-identieke middelen, zoals plantenextracten en micro-organismen. Op 30 juni 2014 is de Green Deal Groene Gewasbeschermingsmiddelen met de Rijksoverheid gesloten om de toelating van groene middelen te bevorderen. Het betreft een tweejarig project. Naast LTO Nederland zijn ook Artemis, Bionext, College voor de toelating van gewasbeschermingsmiddelen en biociden (Ctgb), Natuur & Milieu en Nefyto betrokken. Er zijn pilots gestart om een efficiënt aanvraagproces en snellere beoordelingsmethodieken voor groene middelen te ontwikkelen. De leerpunten rond een versnelde toelating worden ook in EU-verband gedeeld.

Bron: Kamerbrief laag-risico gewasbeschermingsmiddelen (2014)

7.2 Toelating en gebruik meststoffen

Toelating meststoffen

Ook voor meststoffen is er binnen Europa een toelatingsprocedure (EG verordening 2003/2003), daarnaast zijn in Nederland alle andere producten die voldoen aan de Meststoffenwet en aanhangende besluiten en regelingen toegelaten. Een uitzondering geldt wel voor meststoffen die geproduceerd zijn uit afval- of reststromen. Daarvoor geldt eveneens een toelatingsprocedure, toegelaten producten zijn vermeld in Bijlage Aa van de Uitvoeringsregeling Meststoffenwet.

Meststoffenwet

In de Meststoffenwet staan regels m.b.t. het verhandelen van meststoffen en gebruiksnormen. Volgens artikel 4 van de Meststoffenwet zijn er bij het verhandelen van meststoffen eisen t.a.v.:

- a. de hoedanigheid, de aard, de gehalten aan bepaalde stoffen en verdere samenstelling, het gewicht en de verpakking van meststoffen;
- b. de benaming, de gebruiksaanwijzing en andere vermeldingen voor meststoffen;
- c. de wijze waarop de vermeldingen van meststoffen worden aangebracht.

Meststoffen mogen alleen toegepast worden als zij de stikstof- en fosfaatgebruiksnorm binnen een kalenderjaar niet overschrijden.

7.3 Toelating plantenstimulatoren en bodemverbeteraars

Het gebruik als plantenstimulator en bodemverbeteraar is vooralsnog veel minder gereguleerd. Er wordt gewerkt aan een revisie van de EG verordening 2003/2003 inzake meststoffen. Daarbij worden niet alleen de regels voor de toelating van minerale meststoffen herzien, maar wordt het toepassingsgebied ook uitgebreid met organische meststoffen, bodemverbeteraars en biostimulanten. De herziene versie zal op zijn vroegst in 2017 in werking treden.

8 Milieukundige perspectieven

8.1 Carbon footprint

Algen nemen CO₂ op uit de atmosfeer, maar teelt en verwerking van algen hebben ook een nadelig effect op de totale carbon footprint van algenproducten. Bij de teelt van algen is namelijk veel stroom nodig om het algenwater rond te pompen. Wanneer er LED-licht bij de algenteelt gebruikt wordt, neemt het stroomverbruik verder toe. Ook voor het verdere gebruik in landbouwtoepassingen is energie nodig, bijvoorbeeld voor het drogen of extraheren en het transport naar de akkers.

Mogelijk is de totale carbon footprint van algentoepassingen voor gewasbescherming, bemesting, bodemverbetering of groeiregulatie lager dan die van conventionele toepassingen.

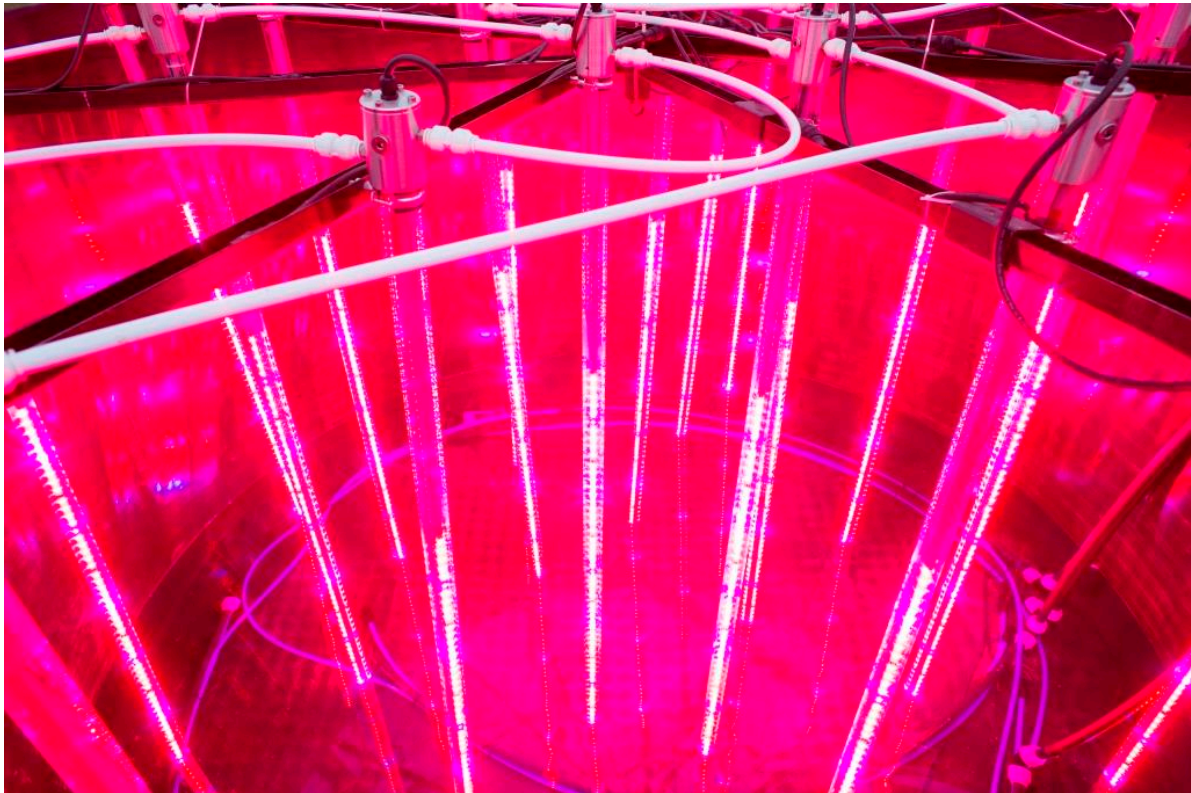


Foto 14: LED-licht in een algenreactor

8.2 Gebruik van reststromen

Niet alleen de reststroom CO₂, maar ook reststromen in de vorm van, warmte, mest en afvalwater kunnen duurzaam worden hergebruikt, omdat deze de groei van algen bevorderen. Bij de algenproductie bij ACRRES-Wageningen UR en Kelstein wordt gebruik gemaakt van reststromen. Op beide locaties is er een biogasinstallatie met warmtekrachtkoppeling (WKK), waarbij elektriciteit, restwarmte, vrijkomend CO₂ en nutriënten worden gebruikt voor algenkweek in vijvers en reactoren.



Foto 15: ACRRES biogasinstallatie met WKK waarbij elektriciteit, restwarmte, vrijkomend CO₂ en nutriënten worden gebruikt voor algenkweek in vijvers en reactoren

Ook onderzoekt ACRRES in samenwerking met Algae Food & Fuel de mogelijkheden om proceswater van de verwerkende industrie te zuiveren met algen in LED-reactoren. Algen zijn daarbij goed in staat om de eindige grondstof fosfaat terug te winnen uit waterige reststromen.



Foto 16: LED algenreactor voor zuivering afvalwater bij een bierbrouwer

8.3 Milieubelasting door stikstof

Van de aangevoerde hoeveelheid stikstof op Nederlandse landbouwgronden wordt circa 60 procent door landbouwgewassen opgenomen. De rest belast het milieu: door uit- en afspoeling komt stikstof terecht in het oppervlaktewater, door denitrificatie in de lucht, en door accumulatie (ophoping) in bodem en grondwater. (Compendium, 2014)

Mogelijk kan de toepassing van algen als (een deel van de) stikstofbemesting ten opzichte van het gebruik van kunstmest en dierlijke mest een vermindering geven van milieubelasting van oppervlaktewater, lucht, bodem en grondwater door stikstof. Bij de productie van blauwgroene algen wordt atmosferische stikstof gebonden, waardoor de stikstofdepositie afneemt.



Foto 17: Algen kunnen mogelijk een vermindering van de milieubelasting door stikstof geven ten opzichte van conventionele bemesting

8.4 Milieubelasting door gewasbeschermingsmiddelen

Gebruik van bepaalde gewasbeschermingsmiddelen in de landbouw belast het oppervlaktewater, bodemecosysteem en/of grondwater en/of geeft risico's op vergiftiging van dieren die voedsel zoeken op akkers (terrestrisch ecosysteem), bijvoorbeeld vogels. (Compendium, 2014)

Wanneer algen of algenextracten als gewasbeschermingsmiddelen of plantenweerstand verhogers toegepast worden, kunnen negatieve milieuaspecten van chemische gewasbeschermingsmiddelen mogelijk beperkt worden. De allelochemische stoffen die door sommige blauwgroene algen geproduceerd worden, kunnen echter ook voor verschillende niet-doelorganismen toxisch zijn.



Foto 18: Algen kunnen mogelijk een vermindering van de milieubelasting door gewasbeschermingsmiddelen

9 Marktperspectieven

9.1 Kostprijs en verkoopwaarde algenproducten

Kostprijs algen

De minimale kostprijs bij grootschalige micro- algenproductie bedraagt in Nederland € 5 per kg droge stof. Voor veel toepassingen van algen is de kostprijs voor micro algen nog relatief hoog vergeleken met conventionele producten. Vooral de kosten voor aanleg en installatie van de vijver of van fotobioreactoren zijn hoog, samen met de stroomkosten. Bij opschaling kunnen de relatieve kosten voor de installatie sterk verlaagd worden, maar de energiekosten blijven nog steeds hoog, met name voor het rondpompen van het algenwater en het oogsten van de algen. (Spruijt et al., 2015) Dit kan bij verdere innovatie nog verbeterd worden.

Wanneer algen geproduceerd worden op waterige afvalstromen van bijvoorbeeld agrarische verwerkende bedrijven of afvalwaterzuiveringsinstallaties kan de kostprijs mogelijk verlaagd worden, doordat zuiveringskosten geheel of gedeeltelijk vermeden kunnen worden.



Foto 19: De kostprijs voor micro-algen kan mogelijk verlaagd worden als bespaard kan worden op verdere zuiveringskosten bij afvalwaterzuiveringsinstallaties



Kosten voor verdere verwerking

Om de algen verder als algenproduct te kunnen gebruiken in landbouwgewassen moeten zij in veel gevallen nog verder verwerkt worden. In de literatuurbronnen varieert de vorm waarin algen worden toegediend van algenextracten, algenfiltraten, algenwater en gevriesdroogde biomassa tot uitscheidingsproducten en sporen van microalgen. Raffinagestappen in de vorm van extraheren, filteren, drogen e.d. zullen extra kosten met zich meebrengen, waarvan de omvang nog nauwelijks bekend is.

Verkoopwaarde algenproducten

De haalbare verkoopprijs van algenproducten in landbouwgewassen is op dit moment erg moeilijk in te schatten en hangt sterk af van de toepassing. Bij de in dit rapport beschreven gunstige onderzoeksresultaten wordt namelijk niet altijd vermeld in welke vorm (als oplossing, extract, gedroogd, etc.) het algenproduct is toegediend en de dosering wordt zelden vermeld. Wanneer men met een algenproduct synthetische gewasbeschermingsmiddelen, meststoffen of groeiregulatoren wil vervangen, zou er tenminste een vergelijkbaar effect behaald moeten worden tegen vergelijkbare kosten. Interessanter wordt het als er nieuwe toepassingen mogelijk worden. Wanneer een algenproduct bijvoorbeeld effectief zou zijn tegen *Phytophthora infestans*, zou dit bij de biologische aardappelteelt die de ziekte nu niet kan bestrijden, een veel hogere productie per ha kunnen opleveren.

Agroplasma S.A. (Spanje) verkoopt Ferticell bio stimulatoren op basis van micro-algen voor €1300-1500 per ton. Soley Biotechnology Institute verkoopt bio meststoffen in de vorm van mengsels van *Spirulina*, *Haematococcus*, *Chlorella* en *Nannochloropsis* voor €9-23 per kg. (Voort et al., 2015) Bij deze producten is het echter niet duidelijk hoeveel algenmassa ze bevatten, dan wel hoeveel algen gebruikt zijn om een extract te maken.

De meerwaarde van algenproducten zou vooral in de combinatie van effecten kunnen bestaan. Een algentoepassing zou zowel kunnen bijdragen aan stikstoflevering en bodemverbetering als aan bestrijding van ziekten en plagen en een betere groei.

9.2 Marktomvang

Bio pesticiden

Biopesticiden of biologische gewasbeschermingsmiddelen zijn in massa geproduceerde stoffen op basis van een levend micro-organisme of van een natuurlijk product, die verkocht worden voor de bestrijding van plantenziekten of plagen. De huidige wereldmarkt voor biologische gewasbeschermingsmiddelen is klein in vergelijking met die van chemische gewasbeschermingsmiddelen (\$ 2,1 versus \$ 35,4 miljard), maar er wordt in 2017 een samengestelde jaarlijkse groei van 12% voor biologische gewasbeschermingsmiddelen en slechts 7% voor chemische gewasbeschermingsmiddelen verwacht. Op dit moment zijn er nog geen micro algen (extracten) op de markt voor gebruik als biologisch gewasbeschermingsmiddel. De voortdurende evaluatie en (geleidelijke) terugtrekking van onveilige 'oude chemische' gewasbeschermingsmiddelen door de EU-richtlijn voor toelating van gewasbeschermingsmiddelen (EG 91/414) en de EU-kaderrichtlijn van 2009 voor een duurzaam gebruik van gewasbeschermingsmiddelen zijn een stimulans veilige en

milieuvriendelijke biologische gewasbeschermingsmiddelen te ontwikkelen. (Voort et al., 2015)

Bio meststoffen

Bio meststoffen bestaan uit bacteriën, algen of schimmels, die de biologische beschikbaarheid van voedingsstoffen aan planten vergroten. De wereldmarkt van bio meststoffen werd in 2012 geschat op een waarde van \$ 440 miljoen en die van conventionele meststoffen op \$ 2,44 miljard. (Voort et al., 2015)

De markten voor meststof additieven zijn al meerdere jaren geglobaliseerd en bijna volwassen. De verwachte gemiddelde jaarlijkse groei in 2015 wordt geschat op ongeveer 1,5% -2,5% in West-Europa, iets lager dan de groei in de VS (2,0% -3,5%) en in Japan (3,0% -4,5%). De meeste bedrijfsleven partijen hebben een R & D-afdeling, die vaak internationaal gestructureerd is om tegelijkertijd meerdere markten te ondersteunen. (Traon et al., 2014)

Bio stimulatoren

Bio stimulatoren kunnen worden onderverdeeld in microbiële entstoffen, humus- en fulvazuren, op aminozuren gebaseerde producten en zeewierextracten. Op basis van het aantal producten en leveranciers die op internet gevonden worden, lijkt de markt van biologische groeiregulatie op basis van micro-algen veel kleiner dan die van macro-algen. De wereldwijde vraag naar plantengroeiregulatoren werd gewaardeerd op \$ 3,4 miljard in 2012. Biologische groeiregulatoren hebben een marktaandeel van 27% of ca. € 900 miljoen in de wereldwijde markt van plantengroeipromotors. (Voort et al., 2015) Er wordt een jaarlijkse groei van 12,5% voorspeld voor de wereldwijde bio stimulatoren markt (Calvo et al, 2014).

In Europa staat de markt voor bio stimulatoren nog relatief in de kinderschoenen, maar de snel toenemende investeringen in onderzoek beginnen inzicht te geven in de mogelijkheden van deze producten. Gedreven door economische en maatschappelijke factoren lijkt de markt snel te groeien (> 10% per jaar). Het Europese Bio stimulatoren Industrie Consortium (EBIC) schatte de EU marktwaarde in 2012 in op € 400-500 miljoen met potentiële groei tot meer dan € 800 miljoen in 2018.

Factoren die deze groei beïnvloeden zijn:

1. Het Europese landbouw en voedselveiligheid beleid heeft milieuoverwegingen geïntegreerd en bevordert het veilig gebruik van stoffen in de landbouw. Dit geldt voor alternatieve oplossingen bij de geïntegreerde teelt, waaronder het gebruik van plantaardige bio stimulatoren en bio pesticiden.
2. In antwoord op de vraag van de consument naar gezonde voedingsmiddelen met minimale milieueffecten zijn telers op zoek naar manieren om synthetische chemicaliën en minerale meststoffen efficiënter te gebruiken. Bio stimulatoren worden steeds meer gezien als een reactie op deze consument vragen naar "softere" landbouwpraktijken.
3. Het gebruik van plantaardige bio stimulatoren breidt zich van een aantal pionierslanden (FR, IT, Spanje) uit naar een groter aantal landen, zowel binnen Europa als de rest van de wereld.

Volgens het EBIC bestaat de bio stimulatoren sector in de EU uit ongeveer 200-250 bedrijven, waarvan 90% kleine en middelgrote ondernemingen. Met de komst van grote R & D-bedrijven, die leidt tot een toename van de investeringen in onderzoek voor plantaardige bio stimulatoren wordt een eerste consolidatie van de sector geconstateerd. (Traon et al., 2014)

10 Kansen

10.1 Gewasbescherming

Stoffen uit microalgen (met name uit cyanobacteriën) blijken in diverse onderzoeken uit de literatuur een goede bestrijding te geven van verschillende schimmels en aaltjes die in landbouwgewassen schade aanrichten. Verder is er (buiten de landbouw) insecticide-, molluscicide-, herbicide- en algacidewerking met stoffen uit cyanobacteriën aangetoond. Er wordt wereldwijd een grotere marktgroei van biologische gewasbeschermingsmiddelen dan van chemische gewasbeschermingsmiddelen verwacht. De voortdurende evaluatie en (geleidelijke) terugtrekking van onveilige 'oude chemische' gewasbeschermingsmiddelen door de EU-richtlijn voor toelating van gewasbeschermingsmiddelen (EG 91/414) en de EU-kaderrichtlijn van 2009 voor een duurzaam gebruik van gewasbeschermingsmiddelen zijn een stimulans veilige en milieuvriendelijke biologische gewasbeschermingsmiddelen te ontwikkelen. In Nederland is de Green Deal Groene Gewasbeschermingsmiddelen met de Rijksoverheid gesloten om de toelating van groene middelen te bevorderen.

10.2 Bemesting en bodemverbetering

Naast rijst blijkt er met gebruik van cyanobacteriën ook in bonen, tarwe en maïs bespaard te kunnen worden op de minerale stikstofgift en wordt soms ook opbrengstverhoging gevonden los van de bemestingseffecten. Microalgen worden behalve als biologische meststof ook als bodemverbeteraar toegepast. Ze kunnen de biologische activiteit in de bodem verhogen en een toename van bodemkoolstof, bodemstikstof, essentiële micro-elementen, bacteriën en slijmerige stoffen geven. Hierdoor kunnen zij de bodemvochtigheid behouden, erosie tegengaan, probleemgronden als zoute, zure of woestijngronden vruchtbaarder maken en fysisch verslechterde bodems verbeteren. Er is onderzoek gerapporteerd waarin positieve smaakeffecten bij het geogste product werden gevonden na gebruik van algen als meststof. In Nederland is het gebruik als bodemverbeteraar vooralsnog veel minder gereguleerd dan als gewasbeschermingsmiddel.

10.3 Plantstimulatie

Verschillende microalgensoorten produceren groeibevorderende stoffen als auxinen, aminozuren, vitaminen en gibberellinen. Uit de vele onderzoeksresultaten blijken positieve effecten van diverse extracten van vooral cyanobacteriën op kieming, blad- en/of stengelgroei, bloei en/of vruchtvorming van landbouwgewassen als rijst, katoen, vlas, mango, komkommer, pompoen, tomaat, radijs en alfalfa. Deze positieve effecten op de plantengroei hangen vaak ook nauw samen met de stikstoflevering door cyanobacteriën en de bodem verbeterende eigenschappen. Verder kunnen cyanobacterie extracten vermeerderingstechnieken verbeteren, zoals bijvoorbeeld blijkt uit

onderzoekresultaten met diverse extracten bij rijst callus organogenese, in vitro vermeerdering van lelies en somatische embryogenese bij wilde peen, sandelhout en bananen. Microalgen kunnen ook bijdragen aan de groei van planten door de weerstand tegen biotische en abiotische stress te vergroten. De waargenomen effecten van microalgen tegen verschillende ziekten en plagen kunnen (mede) veroorzaakt worden door weerstandsverhoging door microalgen bij planten. Er is de laatste jaren veel studie gedaan naar weerstandsverhoging bij planten door stoffen van allerlei oorsprong, zoals microbiologische inoculanten, humuszuren, aminozuren en planten- en ook algenextracten. Algenextracten bieden daarin goede perspectieven.

In Nederland zijn zeewier- en algenextracten krachtens de Verordening gewasbescherming als werkzame stof goedgekeurd voor de groeiregulatie van planten. De snel toenemende investeringen in onderzoek naar bio stimulators beginnen inzicht te geven in de mogelijkheden van deze producten. Gedreven door economische en maatschappelijke factoren lijkt de EU-markt voor bio stimulators snel te groeien (> 10% per jaar). In Nederland is het gebruik als plantenstimulator voornamelijk veel minder gereguleerd dan als gewasbeschermingsmiddel.

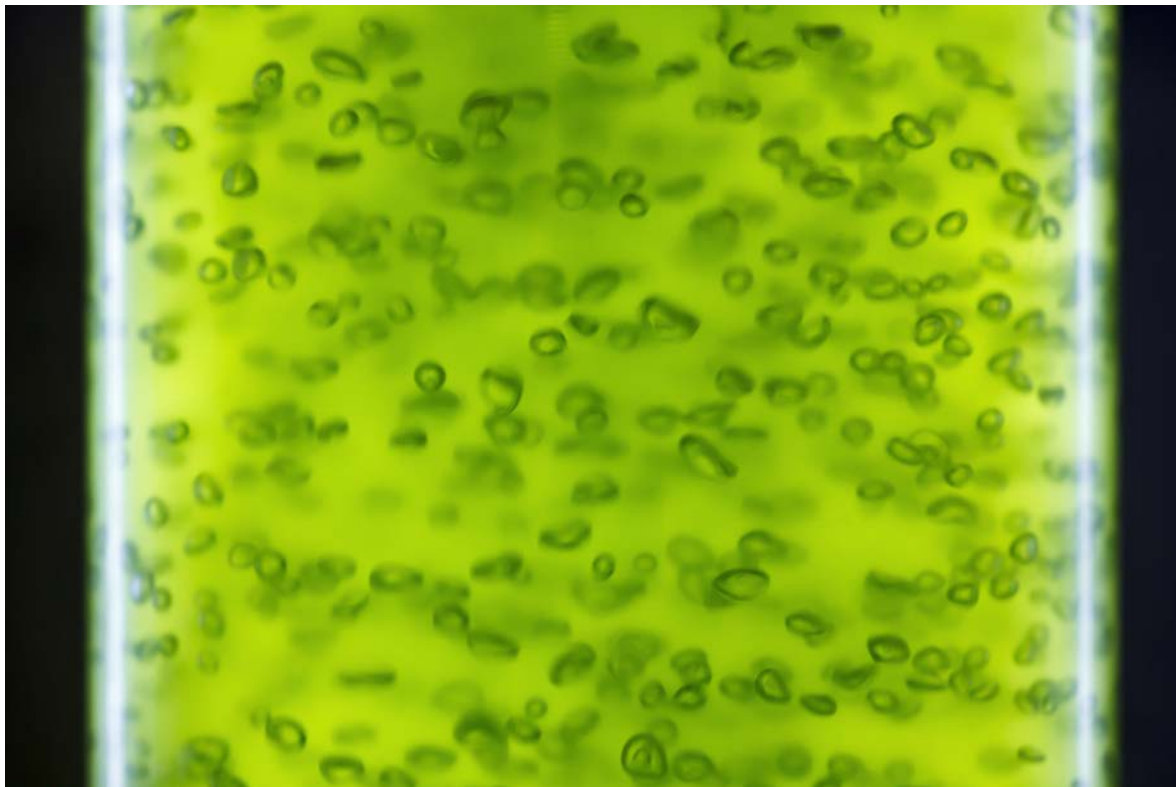


Foto 20: Algenproducten bieden goed kansen voor gewasbescherming, bemesting en bodemverbetering en plantstimulatie



11 Uitdagingen

Om de kansen met microalgen te benutten zou er verder geïnvesteerd moeten worden in onderzoek. Het zou duidelijk moeten worden welke werkzame stoffen uit micro algen of welke algenpreparaten andere organismen bestrijden, in welke formulering en met welke dosering. De bestrijdende, bemestende, bodem verbeterende, plantweerstand verhogende en milieueffecten van algentoepassingen zouden vergeleken moeten worden met conventionele methoden. Om algen als gewasbeschermingsmiddel of groeiregulator op de markt te kunnen brengen zal er een toelating moeten worden aangevraagd. Dit betekent dat er naast de toelatingskosten geïnvesteerd moet worden in onderzoek naar de effectiviteit en de veiligheid voor mens en milieu van het product. Ook voor algenmeststoffen die geproduceerd zijn uit afval- of reststromen geldt een toelatingsprocedure.

Literatuur

- Aziz, M.A. and Hashem, M.A. (2004) Role of cyanobacteria on yield of rice in saline soil. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 7 (3): 309-311, 2004.
- Bapat, V. A., Iyer, R.K. and Rao, P.S. (1996) Effect of cyanobacterial extract on somatic embryogenesis in tissue cultures of sandalwood (*Santalum album*). *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences* 1996 Vol. 18 No. 1 pp. 10-14.
- Berry, J.P., Gantar, M., Perez, M.H., Berry, G. and Noriega, F.G. (2008) Cyanobacterial Toxins as Allelochemicals with Potential Applications as Algaecides, Herbicides and Insecticides. *Marine Drugs* 2008, 6, 117-146.
- Bileva, T. (2013). Influence of green alga *Chlorella vulgaris* on infested with *Xiphinema index* Grape seedlings. *Earth Science & Climatic Change*, 2013, 4, 136.
- Brahmbhatt, N.H. and Kalasariya, H.S. (2015) Effect of algae on seedling growth of "Queen of Forages". *International Journal of Engineering Research and General Science* Volume 3, Issue 2, Part 2, March-April, 2015.
- Burketova, L., Trda, L., Ott, P.G. Valentova, O. (2015) Bio-based resistance inducers for sustainable plant protection against pathogens. *Biotechnology Advances* Volume 33, Issue 6, Part 2, 1 November 2015, Pages 994–1004.
- Calvo, P., Nelson. L., Kloepper, J.W. Agricultural uses of plant stimulants. *Plant Soil* (2014) 383:3-41.
- Coppens, J., Grunert, O., Van Den Hende, S. Vanhoutte, I.Boon, N. Haesaert, G. & Leen De Gelder, L. (2015) The use of microalgae as a high-value organic slow-release fertilizer results in tomatoes with increased carotenoid and sugar levels. *Journal of Applied Phycology*, p 1-11.
- Chaudhary, V., Prasanna R., Nain, L., Dubey, S.C.,Gupta, V., Singh, R., Jaggi, S., Bhatnagar, A.K. (2012) Bioefficacy of novel cyanobacteria-amended formulations in suppressing damping off disease in tomato seedlings. *World J Microbiol Biotechnol* 28: 3301–3310.
- Compendium (2014) *Compendium voor de Leefomgeving*, CBS, PBL, Wageningen UR, 2014.
- Crouzet, O., Wiszniowski, J., Donnadiou, F., Bonnemoy, F. , Bohatier, J. & Mallet (2013) C. Dose-Dependent Effects of the Herbicide Mesotrione on Soil Cyanobacterial Communities. *Arch Environ Contam Toxicol* (2013) 64: 23–31.
- Dukare, A.S., Prasanna, R., Dubey S.C., Nain, L., Chaudhary a, V., Singh, R., Saxena, A.K. (2011) Evaluating novel microbe amended composts as biocontrol agents in tomato. *Crop Protection* 30 (2011) 436-442.
- El-Motty, E.Z.A., Shahin, M.F.M., El-Shiekh, M.H. and Abd-El-Migeed, M.M.M. (2010) Effect of algae extract and yeast application on growth, nutritional status, yield and fruit



quality of Keitte mango trees. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 2010, 1(3): 421-429.

Evenhuis, A. and Schepers, H.T.M. (2013) Testing the efficacy of "algae water" to control different strains of potato late blight. Internal report Applied Plant Research, 2013.

Gouveia, L., Batista, A.P., Sousa, I., Raymundo, A. and Bandarra, N. M. (2008) *Microalgae in Novel Food Products*. Food Chemistry Research Developments, 2008.

Gupta, V., Kumar, Ratha, S.K., Sood, A., Chaudhary, V., Prasanna, R. (2013) New insights into the biodiversity and applications of cyanobacteria (blue-green algae)—Prospects and challenges. *Algal Research* 2 (2013) 79–97.

Hagmann, L. and Juttner, F. (1996) Fischerellin A, a Novel Photosystem-II-inhibiting Allelochemical of the Cyanobacterium *Fischerella muscicola* with Antifungal and Herbicidal Activity *Tetrahedron Lett.*, 1996, vol. 37, pp. 6539–6542.

Hashem, M.A. Problems and prospects of cyanobacterial biofertilizer for rice cultivation (2001) *Aust. J. Plant Physiol.*, 2001, 28, 881–888.

Hastings, K.L., Smith, L.E., Lindsey, M.L., Blotsky, L.C., Downing, G.R., Zellars, D.Q., Downing, J.K., Corena-Mc Leod, M. (2014) Effect of microalgae application on soil algal species diversity, cation exchange capacity and organic matter after herbicide treatments *F1000Research* 2014, 3:281.

Hegazi, A.Z., Mostafa, S.S.M. and Ahmed, H.M.I. (2010) Influence of different cyanobacterial application methods on growth and seed production of common bean under various levels of mineral nitrogen fertilization. *Nature and Science* 2010; 8(11)

Holajjer, P., Kamra, Gaur, H.S., Manjunath, M. (2013) Potential of cyanobacteria for biorational management of plant parasitic nematodes: A review. *Crop Protection* 53 (2013) 147-151.

Hussien, M.Y., Abd El-Ail, A.A.M. and Mostafa S.S.M. (2009) Bioactivity of algal extracellular byproducts on cercospora Leaf spot disease, growth performance and quality of sugar beet. The 4th Conference on Recent Technologies in Agriculture: Challenges of Agriculture Modernization, Nov. 3rd –5th , Special Edition of *Bull. Fac. Agric., Cairo Univ.* 1:119-129.

Kamerbrief laag-risico gewasbeschermingsmiddelen (2014) Kamerbrief van staatssecretaris Dijkzma (EZ) over vergroening van gewasbeschermingsmiddelen, 2 december 2014.

Karthikeyan, N., Prasanna, R., Nain, L. and Kaushik, B.D. (2007) Evaluating the potential of plant growth promoting cyanobacteria as inoculants for wheat. *European Journal of Soil Biology* 43 (2007) 23-30.

Kiviranta, J. and Abdel-Hameed, A. (1994) Toxicity of the blue-green alga *Oscillatoria agardhii* to the mosquito *Aedes aegypti* and the shrimp *Artemia salina*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, Vol.10, 1994, 517-520.



Kovač, D.J., Simeunović, J.B., Babić, O.B., Mišan, A.C., Milovanović, I.L. (2013) Algae in Food and Feed. *Food and Feed Research* 40 (1), 21-31, 2013.

Kulik, M.M. (1995) The potential for using cyanobacteria (blue-green algae) and algae in the biological control of plant pathogenic bacteria and fungi. *European Journal of Plant Pathology* 101: 585-599, 1995.

KWIN-AGV (2015) Kwantitatieve Informatie voor de Akkerbouw en de Vollegrondsgroenten, Spruijt, J. en Voort, M. van der. PPO Publicatienr. 643, 2015.

Manjunath, M., Prasanna R., Nain, L., Dureja, P., Singh, R., Kumar, A., Jaggi, S. and Kaushik, B.D. (2010) Biocontrol potential of cyanobacterial metabolites against damping off disease caused by *Pythium aphanidermatum* in solanaceous vegetables, *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 43: 7, 666-677.

Maqubela, M.P, Mnkeni, P.N.S., Malam Issa, O., Pardo, M.T., Acqui, L.P.D. (2008) Nostoc cyanobacterial inoculation in South African agricultural soils enhances soil structure, fertility and maize growth. *Plant Soil*, 315, 79–92.

Marten, G.G. (2007). Larvicidal algae. *AMCA Bulletin* No. 7 VOL. 23, Supplement to NO. 2, 2007, 177-183.

Metting, F.B. (1996) Biodiversity and application of microalgae. *Journal of Industrial Microbiology* (1996) 17, 477-489.

Mishra D.J., Rajvir, S., Mishra U.K., Kumar, S.S. Role of Bio-Fertilizer in Organic Agriculture: A Review. *Research Journal of Recent Sciences* Vol. 2(ISC-2012), 39-41 (2013).

Mostafa, S.S.M. and Gawish F.A. (2009) Towards to Control *Biomphalaria alexandrina* Snails and the Free Living Larval Stages of *Schistosoma mansoni* Using the Microalga *Spirulina platensis*. *Aust. J. Basic and Appl. Sci.* 3(4):4112-4119.

Mostafa, S.S.M. (2012) *Microalgal Biotechnology: Prospects and Applications*, Intech (2012) Chapter 12, Plant Science, 275-314.

Naresh, L., Alex, B. K. and Koshy, E.P. (2013) Effect of different cyanobacterial species on growth, photosynthetic activity and antioxidant system of flax plant. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2013 Oct; 4(4): (B) 446 – 455.

Prasanna, R., Chaudhary, V., Gupta, V., Babu, S., Kumar, A., Shivay, Y. S. and Nain, L. (2013) Cyanobacteria mediated plant growth promotion and bioprotection against *Fusarium* wilt in tomato. *European Journal of Plant Pathology* (2013) 13: 337–353.

Prasanna, R., Santosh, B., Bidyarani, N., Kumar, A., Triveni, S., Monga, D., Mukherjee, A.K., Kranthi, S., Gokte-Narkhedkar, N., Adak, A., Yadav, K., Nain, L. and Saxena, A.K. (2015) Prospecting cyanobacteria-fortified composts as plant growth promoting and biocontrol agents in cotton. *Expl Agric.* (2015), volume 51 (1), pp. 42–65.

Prasanna, R., Sood, A., Jaiswal, P., Nayak, S., Gupta, V., Chaudhary, V., Joshi, M. and Natarajan, C. (2010) Rediscovering Cyanobacteria as Valuable Sources of Bioactive

Compounds (Review) Applied Biochemistry and Microbiology, 2010, Vol. 46, No. 2, pp. 119–134.

Pulz, O. and Gross, W. (2004) Valuable products from biotechnology of microalgae. Appl Microbiol Biotechnol (2004) 65: 635–648.

Rao, D.R., Thangavel, C., Kabilan, L., Suguna, S., Mani, T.T. and Shanmugasundaram, S. (1999) Larvicidal properties of the cyanobacterium Westiellopsis sp. (blue-green algae) against mosquito vectors. Transactions of the royal society of tropical medicine and hygiene (1999) 93, 232.

Rodgers, G.A., Bergman, B., Henriksson, E., Udris, N. (1979) Utilization of blue-green algae as biofertilizers. Plant Soil, 52, 99–107.

Roger, P.A. and Reynaud, P.A. (1982). Free, living blue-green algae in tropical soils. pp 147-168 in Y. Dommergues and H. Die m eds. Microbiology of tropical soils and plant productivity. Martinus Nijhoff Publisher La Hague.

Shariatmadari, Z., Riahi, H., Hashtroudi, M.S., Ghassempour, A. and Aghashariatmadary, Z. (2013) Plant growth promoting cyanobacteria and their distribution in terrestrial habitats of Iran, Soil Science and Plant Nutrition, 2013, 59:4, 535-547.

Shariatmadari, Z., Riahi, H. and Shokravi, S. (2011). Study of soil blue-green algae and their effect on seed germination and plant growth of vegetable crops. Rostaniha (Botanical Journal of Iran) Vol. 12 (2), 2011.

Shawky, S.M., Mostafa S.S.M. and Abd El-All, A.A.M. (2009) Efficacy of algae, azolla and compost extract in controlling root knot nematode and its reflection on cucumber growth. Bull. Fac. Agric., Cairo Univ. 60:443-459.

Spruijt, J.; Schipperus, R.; Kootstra, M.; Visser, C.L.M. de; Parker, B. (2015) Algaeconomics: bio-economic production models of micro-algae and downstream processing to produce bio energy carriers, Public Output report of the EnAlgae project, Swansea, 2015.

Spruijt, J., Weide, R., Krimpen, M. van. (2014) Kansen voor micro-algen als grondstofstroom in diervoeders. ACRRES-Wageningen UR, 2014, PPO nr. 619.

Srinivas, L., Ganapathi, T.R., Suprasanna, P., Iyer, R.K. and Bapat, V.A. (2002) Ameliorative Effect of Cyanobacterial Extract on the Conversion of Somatic Embryos to Plantlets in Banana. Journal of New Seeds, Vol. 4(3) 2002.

Storni de Cano, M., Zaccaro, M.C., García, I., Stella, A.M. and Zulpa de Caire, G. (2003) Enhancing rice callus regeneration by extracellular products of Tolypothrix tenuis (Cyanobacteria). World Journal of Microbiology & Biotechnology 19: 29–34, 2003.

Tarakhovskaya, E. R., Maslov, Y. I. and Shishova, M. F. (2007) Phytohormones in Algae. Russian Journal of Plant Physiology, 2007, Vol. 54, No. 2, pp. 163–170.

Traon, A., Amat, L., Zotz, F., Jardin, P. du. (2014) A Legal Framework for Plant Biostimulants and Agronomic Fertiliser Additives in the EU; Report for the European

Commission, Enterprise & Industry Directorate – General. Contract n° 255/PP/ENT/IMA/13/1112420, January 2014, Arcadia International.

Volk, R.B. and Furkert, F.H. (2006) Antialgal, antibacterial and antifungal activity of two metabolites produced and excreted by cyanobacteria during growth. *Microbiological Research* 161 (2006) 180–186.

Voort, M.P.J. van der, Vulsteke, E., Visser, C.L.M. de. (2015) Macro-economics of algae products, Public Output report of the EnAlgae project, Swansea, 2015.

Wake, H., Akasaka, A., Umetsu, H., Ozeki, Y., Shimomura, K. and Matsunaga, T. (1992) Promotion of plantlet formation from somatic embryos of carrot treated with a high molecular weight extract from a marine cyanobacterium. *Plant Cell Reports* (1992) 11: 62-65.

Watanabe, A. (1962) Effect of nitrogen fixing blue green algae: *Tolypothrix tenuis* on the nitrogenous fertility of paddy soil and on the crop yield of rice plant. *J. Gen. Appl. Microbiol.* Vol. 8, No. 2, 1962.

Wong, W.S., Tan, S.N., Ge, L., Chen X. and Yong, J.W.H. (2015) The Importance of Phytohormones and Microbes in Biofertilizers. in D.K. Maheshwari (ed.), *Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem, Sustainable Development and Biodiversity 12* Springer International Publishing Switzerland 2015.

Zaccaro, M.C., Kato, A., Zulpa, G., Storni, M.M., Steyerthal, N., Lobasso, K. and Stella, A.M. (2006) Bioactivity of *Scytonema hofmanni* (Cyanobacteria) in *Lilium alexandrae* in Vitro Propagation. *Electronic Journal of Biotechnology*, 9, 211-214.

Zayadana, B.K., Matorinb, D. N., Baimakhanovaa, G. B., Bolathana, K., Ozaa, G. D. and Sadanovc, A. K. (2014) Promising Microbial Consortia for Producing Biofertilizers for Rice Fields. *Microbiology*, 2014, Vol. 83, No. 4, pp. 391–397.

