

Aan de staatssecretaris van  
Infrastructuur en Milieu  
Mevrouw W.J. Mansveld  
Postbus 20901  
2500 EX Den Haag

**DATUM** 27 oktober 2014  
**KENMERK** CGM/141027-01  
**ONDERWERP** Advies: Classificatie van *Pseudomonas jessenii*

Geachte mevrouw Mansveld,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende de wijziging van de vergunningaanvraag IG 02-127/12 met de titel 'Bestrijding van natrot in de aardappel veroorzaakt door pectinolytische *Erwinia* subspecies door beïnvloeding van het quorum sensing mechanisme' van de Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek, Plant Research International, deelt de COGEM u het volgende mee.

**Samenvatting:**

De COGEM is gevraagd op de bacteriesoort *Pseudomonas jessenii* te classificeren. *P. jessenii* is geïsoleerd uit mineraalwaterbronnen in Frankrijk. De bacterie is in staat om de groei-eigenschappen van planten te verbeteren, doordat het aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase tot expressie brengt wat door middel van een chemische reactie stikstof kan vrijmaken uit de bodem. *P. jessenii* is als commensaal gevonden bij planten en sponzen. Bij laboratoriumonderzoek en veldproeven worden de *P. jessenii* stammen RU47 en UW4 toegepast als antagonist tegen *Rhizoctonia solani* en om de groei van het gewas te verbeteren. In de wetenschappelijke literatuur is nooit gerapporteerd dat *P. jessenii* pathogeen is voor mens, dier of plant. Op basis van deze argumenten concludeert de COGEM dat *P. jessenii* apathogeen is en adviseert om *P. jessenii* in de laagste pathogeniteitsklasse in te delen en *P. jessenii* RU47 en UW4 op Bijlage 1 te plaatsen.



De door de COGEM gehanteerde overwegingen en het hieruit voortvloeiende advies treft u hierbij aan als bijlage.

Hoogachtend,

Prof. dr. ing. Sybe Schaap  
Voorzitter COGEM

c.c.           Drs. H.P. de Wijs, Hoofd Bureau ggo  
                  Mr. J.K.B.H. Kwisthout, Ministerie van IenM

*Met het oog op eventuele belangenverstrengeling is het COGEM lid dr. W. J. de Kogel niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies*

# Classificatie van *Pseudomonas jessenii*

## COGEM advies CGM/141027-01

### Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over de wijziging van een vergunningaanvraag IG 02-127/12 met de titel ‘Bestrijding van natrot in de aardappel veroorzaakt door pectinolytische *Erwinia* subspecies door beïnvloeding van het quorum sensing mechanisme’ van de Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek, Plant Research International.

De adviesvraag betreft de pathogeniteitsclassificatie van *Pseudomonas jessenii*. Tevens is de COGEM gevraagd te adviseren over de eventuele plaatsing van *P. jessenii* op Bijlage 1 van de Regeling genetisch gemodificeerde organismen (ggo).<sup>1</sup>

### *Pseudomonas jessenii*

*P. jessenii* is een gramnegatieve, niet sporenvormende, staafvormige bacterie die aan het einde van de jaren 90 van de vorige eeuw uit bronwater in Frankrijk is geïsoleerd.<sup>2,3</sup>

*P. jessenii* is in staat om de groei-eigenschappen van planten verbeteren doordat het aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase tot expressie brengt wat door middel van een chemische reactie stikstof kan vrijmaken uit de bodem. Bepaalde *P. jessenii* stammen zijn als commensaal gevonden bij planten en sponzen.<sup>4,5</sup> *P. jessenii* heeft antagonistische eigenschappen tegen *Pythium aphanidermatum* en *Rhizoctonia solani*.<sup>6,7</sup> Zo is er onderzoek gedaan naar de mogelijkheden om *Rhizoctonia solani* te bestrijden met *P. jessenii* RU47 in veldproeven met sla. De *P. jessenii* stam UW4 kan daarnaast de groei-eigenschappen van planten verbeteren, na overstroming, of bij blootstelling aan zware metalen of zouten.<sup>8,9,10,11,12</sup>

### Taxonomie

*P. jessenii* valt binnen de *P. fluorescens* groep van het genus *Pseudomonas* in de familie *Pseudomonadaceae*. Sinds de eerste beschrijving van het genus *Pseudomonas* in 1894 is er veel in de taxonomie van dit genus veranderd. Sequencing van het 16S rDNA gen heeft er onder andere toe geleid dat soorten die eerder tot het genus *Pseudomonas* werden gerekend naar andere genera zijn verplaatst. Door nieuwe technieken worden steeds meer bacteriesoorten geclassificeerd. Hierdoor is het aantal *Pseudomonas* soorten ook toegenomen. Op dit moment zijn er in de *List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN)* meer dan 200 soorten opgenomen.<sup>13</sup>

In 2010 zijn de sequenties van 4 zogenoemde *housekeeping genes* (16 sRNA, *gyrB*, *rpoB* en *rpoD*) afkomstig uit 107 *Pseudomonas type strains* geanalyseerd om een completer beeld te krijgen van de fylogenetische relaties binnen het genus. Uit deze analyse blijkt dat er twee *intrageneric groups* (IG) onderscheiden kunnen worden: IG *P. aeruginosa* en IG *P. fluorescens*. De *P. fluorescens* IG is verder onder te verdelen in een *P. fluorescens*, *P. syringae*, *P. lutea*, *P. putida*, *P. anguilliseptica* en *P. straminea* groep. De *P. fluorescens* groep bestaat uit 9 subgroepen *P. fluorescens*, *P. asplenii*, *P.*

*gessardi*, *P. fragi*, *P. mandelii*, *P. koreensis*, *P. corrugata*, *P. chlororaphis* en de *P. jessenii* groep. De *P. jessenii* subgroep bestaat sinds de herclassificatie van de *P. jessenii* stam UW4 uit 7 stammen.<sup>14,15</sup>

### **Pathogeniteitsclassificatie**

De inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerde organismen is mede afhankelijk van de pathogeniteitsklasse van het organisme. Daarom is het voor een correcte inschaling van de werkzaamheden van belang te weten tot welke pathogeniteitsklasse een organisme behoort.

Volgens de ‘Integrale versie van de Regeling genetisch gemodificeerde organismen en het Besluit genetisch gemodificeerde organismen’ worden micro-organismen (virussen, bacteriën, schimmels) ingedeeld in vier pathogeniteitsklassen.<sup>16</sup> Deze indeling start met pathogeniteitsklasse 1, die gevormd wordt door apathogene micro-organismen en loopt op tot pathogeniteitsklasse 4, de groep van hoog pathogene micro-organismen. De criteria voor indeling in pathogeniteitsklassen zijn als volgt gedefinieerd:

Een indeling in pathogeniteitsklasse 1 is van toepassing op een micro-organisme dat in ieder geval voldoet aan een van de volgende voorwaarden:

- het micro-organisme behoort niet tot een soort waarvan vertegenwoordigers bekend zijn die ziekteverwekkend zijn voor mens, dier of plant;
- het micro-organisme heeft een lange historie van veilig gebruik onder omstandigheden waarbij geen bijzondere inperkende maatregelen worden getroffen;
- het micro-organisme behoort tot een soort die vertegenwoordigers bevat van klasse 2, 3 of 4, maar de stam in kwestie bevat geen genetisch materiaal dat verantwoordelijk is voor de virulentie;
- van het micro-organisme is het niet-virulente karakter middels adequate tests aangetoond.

Een indeling in pathogeniteitsklasse 2 is van toepassing op een micro-organisme dat bij mensen een ziekte kan veroorzaken, waarvan het onwaarschijnlijk is dat die zich onder de bevolking verspreidt, terwijl er een effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding bestaat, alsmede een micro-organisme dat bij planten of dieren ziekte kan veroorzaken.

### **Eerder COGEM adviezen**

De COGEM heeft niet eerder geadviseerd over de classificatie van *P. jessenii*. In 2014 is de verwante bacterie *P. fluorescens* als een opportunistisch pathogeen micro-organisme ingedeeld in pathogeniteitsklasse 1.<sup>17</sup> In 2013 zijn de *P. fluorescens* stammen DC45415 en MB101 ingedeeld in klasse 1 en op Bijlage 1 geplaatst.<sup>18</sup> Op basis van een in opdracht van de COGEM uitgevoerd onderzoeksproject, heeft de COGEM in 2011 twee adviezen uitgebracht met pathogeniteitsclassificaties van (a-) pathogene bacteriën.<sup>19,20</sup> In deze adviezen en in het corresponderende onderzoeksrapport zijn twee bacteriesoorten uit andere *P. fluorescens* subgroepen, *P. asplenii* en *P. corrugata* als plantpathogenen ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2.

### **Classificatie wereldwijd**

De "American Type Culture Collection" beschouwt *P. jessenii* als een micro-organisme vallend onder het laagste veiligheidsniveau ("biosafety level 1").<sup>21</sup> Ook in de *Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen* is *P. jessenii* in de laagste risicogroep ingedeeld.<sup>22</sup> De bacterie is in België, Canada en Groot Brittannië niet geclassificeerd.

### **Overweging en advies**

De bacterie *P. jessenii* is geïsoleerd uit mineraalwaterbronnen en verschillende *P. jessenii* stammen komen als commensaal voor bij planten en sponzen. Veldproeven met sla hebben laten zien dat de *P. jessenii* stam RU47 als antagonist *R. solani* kan bestrijden.<sup>7,23</sup> De *P. jessenii* stam UW4 heeft eigenschappen die de groei van planten onder verschillende condities positief kan beïnvloeden. Over de andere stammen van *P. jessenii* is weinig informatie bekend. Voor zover bij de COGEM bekend, is *P. jessenii* in de wetenschappelijke literatuur nooit in verband gebracht met pathogeniteit bij mens, dier of plant.

Op basis van bovenstaande overwegingen is de COGEM van mening dat de bacteriesoort *P. jessenii* apathogeen is en acht zij de indeling van deze soort in pathogeniteitsklasse 1 gerechtvaardigd. De COGEM adviseert *P. jessenii* RU47 en UW4 op Bijlage 1 te plaatsen.

### **Referenties**

1. COGEM (2007). Classificatie van enkele micro-organismen van bijlage 1 van de Regeling ggo. COGEM advies CGM/070917-02
2. Verhille S *et al.* (1999). Taxonomic study of bacteria isolated from natural mineral waters: proposal of *Pseudomonas jessenii* sp. nov. and *Pseudomonas mandelii* sp. nov. *Syst Appl Microbiol.* 22: 45-58
3. Zago A & Chugani S (2009). *Pseudomonas*. In: *Encyclopedia of Microbiology*. Third edition. Ed. Schaechter M Academic Press, Elsevier, Oxford (UK)
4. Srivastava R *et al.* (2010). Cow dung extract: a medium for the growth of pseudomonads enhancing their efficiency as biofertilizer and biocontrol agent in rice. *Indian J. Microbiol.* 50: 349-354
5. Keller-Costa T *et al.* (2014). The freshwater sponge *Ephydatia fluviatilis* harbours diverse *Pseudomonas* species (Gammaproteobacteria, Pseudomonadales) with broad-spectrum antimicrobial activity. *PLoS One.* 9: e88429
6. Deora A *et al.* (2008). Antagonistic effects of *Pseudomonas jessenii* against *Pythium aphanidermatum*: morphological, ultrastructural and cytochemical aspects. *J. Basic Microbiol.* 48: 71-81
7. Schreiter S *et al.* (2014). Soil type dependent rhizosphere competence and biocontrol of two bacterial inoculant strains and their effects on the rhizosphere microbial community of field-grown lettuce. *PLoS One.* 9: e103726

8. Gamalero E *et al.* (2008). Synergistic interactions between the ACC deaminase-producing bacterium *Pseudomonas putida* UW4 and the AM fungus *Gigaspora rosea* positively affect cucumber plant growth. *FEMS Microbiol Ecol.* 64: 459-467
9. Grichko VP & Glick BR (2001). Amelioration of flooding stress by ACC deaminase-containing plant growth-promoting bacteria. *Plant Physiology and Biochemistry* 39: 11–17
10. Farwell AJ *et al.* (2007). Tolerance of transgenic canola plants (*Brassica napus*) amended with plant growth-promoting bacteria to flooding stress at a metal-contaminated field site. *Environ Pollut.* 147: 540-545
11. Cheng Z *et al.* (2007). 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase from *Pseudomonas putida* UW4 facilitates the growth of canola in the presence of salt. *Can. J. Microbiol.* 53: 912-918
12. Cheng Z *et al.* (2009). Identification of bacterial proteins mediating the interactions between *Pseudomonas putida* UW4 and *Brassica napus* (Canola). *Mol. Plant Microbe Interact.* 22: 686-694
13. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature [www.bacterio.net](http://www.bacterio.net) (14 oktober 2014)
14. Mulet M *et al.* (2010). DNA sequence-based analysis of *Pseudomonas* species. *Environmental Microbiology* 12: 1513-1530
15. Duan J *et al.* (2013). The complete genome sequence of the plant growth-promoting bacterium *Pseudomonas* sp. UW4. *PLoS One.* 8: e58640
16. Integrale versie van de Regeling genetisch gemodificeerde organismen en het Besluit genetisch gemodificeerde organismen. <http://bggo.rivm.nl/Documenten/Documenten%20regelgeving/Regeling-genetisch-gemodificeerde-organismen.pdf>
17. COGEM (2014). Classificatie van *Pseudomonas fluorescens*. COGEM advies CGM/140527-02
18. COGEM (2013). Grootschalige productie palmitase m.b.v. *gg-Pseudomonas fluorescens*. COGEM advies CGM/130502-02
19. COGEM (2011). Classificatie apathogene bacteriën. COGEM advies CGM/111220-02
20. COGEM (2011). Classificatie pathogene bacteriën. COGEM advies CGM/111220-03
21. ATCC: The Global Bioresource Center [www.lgcstandards-atcc.org/Products/All/700870.aspx](http://www.lgcstandards-atcc.org/Products/All/700870.aspx) (14 oktober 2014)
22. Ausschuss für Biologische Arbeitsstoffe (2010). Technische Regeln für Biologische Arbeitsstoffe; Einstufung von prokaryonten in Risikogruppen (TRBA 466) [www.baua.de/nn\\_15268/de/Themen-von-A-Z/Biologische-Arbeitsstoffe/TRBA/pdf/TRBA-466.pdf](http://www.baua.de/nn_15268/de/Themen-von-A-Z/Biologische-Arbeitsstoffe/TRBA/pdf/TRBA-466.pdf) (14 oktober 2014)
23. Schreiter S *et al.* (2014). Soil type dependent effects of a potential biocontrol inoculant on indigenous bacterial communities in the rhizosphere of field-grown lettuce. *FEMS Microbiol. Ecol.* doi: 10.1111/1574-6941.12430