

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

DATUM 13 mei 2015
KENMERK CGM/150513-01
ONDERWERP Advies 'Toelichting classificatie schimmelpathogene schimmels'

Geachte mevrouw Mansveld,


Naar aanleiding van aanvullende vragen van Bureau GGO betreffende het advies over de classificatie van de schimmelpathogene schimmels *Trichoderma aggressivum* en *Lecanicillium fungicola* deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

Recent heeft de COGEM een advies uitgebracht over de classificatie van de schimmelsoorten *Trichoderma aggressivum* en *Lecanicillium fungicola*. Het Bureau GGO heeft naar aanleiding van dit advies aanvullende vragen gesteld.


De eerste aanvullende vraag betrof de indeling van *T. aggressivum* en *L. fungicola* in pathogeniteitsklasse 2. De COGEM heeft deze soorten op basis van hun pathogeniteit voor andere schimmels (champignons) in klasse 2 ingedeeld. Bureau GGO wijst er terecht op dat in de criteria voor pathogeniteitsclassificatie alleen pathogeniteit voor 'mens, dier en plant' wordt genoemd. De termen 'dier en plant' hebben echter geen wetenschappelijk onderbouwing. De COGEM is van mening dat de termen 'dier en plant' hier breed opgevat moeten worden. Zij stelt bij het indelen in pathogeniteitsklassen mogelijke schadelijke effecten op het ontvangende milieu ten gevolge van de pathogeniteit centraal en maakt per organisme een afweging om het organisme in een bepaalde pathogeniteitsklasse in te delen.

De tweede vraag betrof het advies over het benodigde inperkingsniveau. De COGEM is met dit advies afgeweken van de vuistregel dat werkzaamheden uitgevoerd worden op het inperkingsniveau dat correspondeert met de pathogeniteitsklasse van het uitgangsgoed. De vuistregel is een goed uitgangspunt om te bepalen op welk inperkingsniveau werkzaamheden met ggo's uitgevoerd kunnen worden. Voor sommige organismen zijn de inperkingsmaatregelen die bij een lager inperkingsniveau horen echter voldoende om ontsnapping te voorkomen. In dat geval kunnen de werkzaamheden omlaag geschaald worden en op een lager inperkingsniveau plaatsvinden. Bij werkzaamheden met deze schimmelsoorten is het noodzakelijk dat handelingen waarbij sporen vrij kunnen komen in een VK-II kabinet worden uitgevoerd. De andere voorschriften die ML-II van ML-I onderscheiden verlagen de kans op verspreiding naar het milieu echter niet. Daarom is de COGEM van mening dat de werkzaamheden plaats kunnen vinden op ML-I inperkingsniveau als open handelingen waarbij sporen vrij kunnen komen, uitgevoerd worden in een VK-II kabinet.



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

Toelichting op de classificatie van de schimmelpathogene schimmels *Trichoderma aggressivum* en *Lecanicillium fungicola*

COGEM advies CGM/150513-01

1. Inleiding

Onlangs heeft de COGEM een advies uitgebracht over de classificatie van de drie schimmelsoorten *Schwanniomyces occidentalis*, *Trichoderma aggressivum* en *Lecanicillium fungicola* (voorheen *Verticillium fungicola*).^{1,2,3} Het Bureau GGO heeft de COGEM een aanvullende adviesvraag gesteld omdat het gegeven advies op twee punten af lijkt te wijken van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013' ('Regeling ggo').

De aanvullende adviesvraag richt zich op deze twee aspecten. Het eerste aspect betreft de indeling van de schimmelpathogenen *T. aggressivum* en *L. fungicola* in pathogeniteitsklasse 2. Het tweede aspect betreft het advies dat werkzaamheden met genetisch gemodificeerde (gg-) *T. aggressivum* en gg-*L. fungicola* op inperkingsniveau ML-I uitgevoerd kunnen worden, mits open handelingen waarbij sporen vrij kunnen komen in een veiligheidskabinet van klasse II (VK-II) worden uitgevoerd.

Hieronder zet de COGEM haar visie op de pathogeniteitsclassificatie uiteen. Ook haar visie op de inschaling van werkzaamheden met gg-*T. aggressivum* en gg-*L. fungicola* wordt hieronder verder toegelicht.

2. Toelichting pathogeniteitsclassificatie *T. aggressivum* en *L. fungicola*

L. fungicola en *T. aggressivum* zijn beide bodemschimmels die pathogeen zijn voor champignons (*Agaricus bisporus*). *L. fungicola* veroorzaakt de zogenoemde droge mollenziekte ('dry bubble disease').^{4,5} *T. aggressivum* veroorzaakt 'green mold disease'.⁶ Daarnaast produceert de subspecies *T. aggressivum* forma *aggressivum* een mycotoxine dat een sterk remmende werking heeft op de groei van champignons.⁷ Het mycotoxine is mogelijk ook schadelijk voor tomatenstekjes en pekelkreeftjes.⁸ Er zijn bij de COGEM geen aanwijzingen bekend dat de schimmelsoorten pathogeen zijn voor mens, dier of plant.

De champignon is een eetbare paddenstoel die geteeld wordt als voedingsgewas. De COGEM heeft *T. aggressivum* en *L. fungicola* op basis van hun pathogeniteit voor champignons geclassificeerd als pathogeen en ingedeeld in klasse 2.

2.1 Pathogeniteitsclassificatie Regeling ggo

Naar aanleiding van deze indeling heeft Bureau GGO erop gewezen dat in de Regeling ggo bij de criteria voor pathogeniteitsclassificatie alleen pathogeniteit voor mens, dier of plant wordt genoemd.⁹ Schimmels (waaronder champignons) behoren niet tot het planten- of dierenrijk.¹⁰ Daarom vraagt Bureau GGO de COGEM om de indeling in pathogeniteitsklasse 2 nader toe te lichten.

2.2 Milieurisicobeoordeling bij ingeperkt gebruik

Bureau GGO merkt terecht op dat in de Regeling ggo bij de criteria voor het indelen in pathogeniteitsklassen alleen pathogeniteit voor mens, dier en plant wordt genoemd. De COGEM is vanwege het onderstaande echter van mening dat de termen ‘mens, dier en plant’ breed geïnterpreteerd moeten worden.

De criteria voor het indelen in pathogeniteitsklassen die in de Regeling ggo zijn opgenomen, zijn afkomstig van de Europese Richtlijn over ingeperkt gebruik (Richtlijn 2009/41/EG).¹¹ Deze Richtlijn heeft als doel om te voorkomen dat genetisch gemodificeerde organismen (ggo's) vanuit het laboratorium in het milieu terecht komen en daar schadelijke effecten veroorzaken. Bij de risicobeoordeling is de pathogeniteit van het organisme voor andere organismen in het ontvangende milieu een belangrijk element.

De pathogeniteit voor mens, dier en plant staat al in de eerste Europese Richtlijn over ingeperkt gebruik (Richtlijn 90/219/EEG) als element in de risicobeoordeling genoemd.¹² Onduidelijk is waarom destijds is gekozen om alleen pathogeniteit voor mens, dier en plant te vermelden.

In alle Europese lidstaten worden micro-organismen in verschillende pathogeniteitsklassen ingedeeld op basis van de Richtlijn 2009/41/EG. Toch lijken er verschillen te bestaan tussen de criteria die in de verschillende EU lidstaten worden gehanteerd. Terwijl in Nederland alleen pathogeniteit voor mens, dier en plant in beschouwing wordt genomen, worden in België ook mogelijke schadelijke effecten op het milieu betrokken bij de indeling in risicoklassen.¹³

Opgemerkt moet worden dat de termen ‘dier’ en ‘plant’ wetenschappelijk niet goed afgebakend zijn. Enerzijds is het mogelijk dat de wetgever hiermee de rijken van de Animalia en Plantae bedoeld heeft. Anderzijds komt wat in de dagelijkse omgangstaal met ‘dier’ en ‘plant’ wordt bedoeld niet overeen met de organismen die in de moderne, op de evolutie gebaseerde, taxonomie tot de Animalia en Plantae worden gerekend. Daarnaast is de taxonomische indeling in groepen aan verandering onderhevig. Groepen worden op basis van nieuwe inzichten samengevoegd of opgedeeld. Zo werden de schimmels in het verre verleden tot het plantenrijk gerekend.¹⁴

Bovendien is de taxonomische indeling vaak minder relevant voor de milieurisicobeoordeling. Groenwieren worden binnen de taxonomie tot de planten (de Archaeplastida of Plantae) gerekend, terwijl de bruinwieren een aparte groep vormen.¹⁵ Het lijkt echter onlogisch om bij het beoordelen van milieurisico's wel pathogenen voor groenwieren in ogenschouw te nemen, maar pathogenen voor bruinwieren buiten beschouwing te laten. Ook is er geen wetenschappelijke reden om alle pathogenen voor de diverse groep organismen die tot de Animalia worden gerekend, zoals de Myxozoa (microscopische parasieten), kwallen, koralen en nematoden, bij de pathogeniteitsclassificatie te betrekken, maar pathogenen voor bijvoorbeeld paddenstoelen buiten beschouwing te laten.

Gezien het bovenstaande is de COGEM van mening dat bij het indelen in pathogeniteitsklassen niet de taxonomische indeling centraal staat, maar de mogelijke schadelijke effecten op het ontvangende milieu, zoals effecten op ecologische functie, voedselproductie of beschermwaardige soorten.

De taak van de COGEM is om de regering te adviseren over mogelijke risico's van ggo's voor mens en milieu.¹⁶ Schadelijke effecten op bepaalde groepen van organismen kunnen verstrekkende gevolgen hebben voor het milieu. De COGEM deelt, overeenkomend met haar wettelijke taak, organismen in pathogeniteitsklassen in op basis van hun pathogeniteit voor organismen. Centraal staat daarbij of deze pathogeniteit kan leiden tot schadelijke effecten op het ontvangende milieu en de mens. Zij maakt daarbij per organisme een afweging over de mogelijke milieueffecten.

Samenvattend is de COGEM van mening dat de termen 'mens, dier en plant' in de criteria voor de pathogeniteitsclassificatie breed opgevat moeten worden en betreft zij bij haar casusgewijze afweging om een organisme in een bepaalde pathogeniteitsklasse in te delen de mogelijke schadelijke effecten op het ontvangende milieu.

3. Toelichting inschaling werkzaamheden gg-*T. aggressivum* en gg-*L. fungicola*

Bij werkzaamheden met ggo's onder 'Ingeperkt Gebruik' is de mate van inperking afhankelijk van de pathogeniteit van het uitgangsgoed en de biologische inperking van het ggo. Alle inperkende maatregelen die worden voorgeschreven zijn erop gericht om ontsnapping van het ggo te voorkomen. Binnen de Regeling ggo worden vier inperkingsniveau's onderscheiden. Hoe hoger het inperkingsniveau, des te strenger de eisen die gesteld worden aan de werkvoorschriften en de inrichting van de werkruimte.

3.1 Inperking sporen

T. aggressivum en *L. fungicola* zijn sporulerende schimmels. Voortplanting en verspreiding vinden plaats via aseksuele conidiosporen.^{17,18} Sommige sporen bevatten mycotoxines en kunnen bij blootstelling aanleiding geven tot allergische reacties bij de mens.

De COGEM kan niet uitsluiten dat gg-*T. aggressivum* en gg-*L. fungicola* onder laboratoriumcondities sporen zullen vormen. Zij heeft daarom geadviseerd om open handelingen waarbij sporen vrij kunnen komen, uit te voeren in een VK-II kabinet om verspreiding van de sporen te voorkomen. Dit specifieke aanvullende voorschrift staat overigens in de Regeling ggo voor werkzaamheden met sporulerende schimmels op inperkingsniveau ML-I (zie Bijlage 9, 'de ML-I werkruimte, aanvullende voorschriften voor specifieke gevallen, 9.1.1.1.3.5'²⁰). Onder inachtneming van dit aanvullende voorschrift acht de COGEM de verspreiding van gg-sporen afdoende ingeperkt.

Zij is van mening dat de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn wanneer de werkzaamheden met gg-*T. aggressivum* en gg-*L. fungicola* op ML-I inperkingsniveau uitgevoerd worden onder inachtneming van dit specifieke voorschrift.

3.2 Inperkingscriteria ML-I en ML-II

Bureau GGO heeft de COGEM erop gewezen dat binnen de Regeling ggo de vuistregel gehanteerd wordt dat werkzaamheden met gg-micro-organismen op het inperkingsniveau uitgevoerd worden dat correspondeert met de pathogeniteitsklasse van het uitgangsgoed.¹⁹ In de voorliggende situatie zou dit betekenen dat de werkzaamheden op inperkingsniveau ML-II moeten worden uitgevoerd. De COGEM is van mening dat de in de Regeling ggo gehanteerde vuistregel een goed uitgangspunt vormt om ervoor te zorgen dat de werkzaamheden met gg-micro-organismen uitgevoerd worden op een

manier die de veiligheid voor mens en milieu waarborgt. Voor sommige organismen zijn de inperkingsmaatregelen die bij een lager inperkingsniveau horen, echter voldoende om ontsnapping te voorkomen. In dat geval kunnen de werkzaamheden omlaag geschaald worden en op een lager inperkingsniveau plaatsvinden.

Een belangrijk onderscheid tussen de inperkende voorschriften voor ML-I en ML-II laboratoria bestaat uit het feit dat op ML-II inperkingsniveau handelingen waarbij aërosolen kunnen ontstaan of handelingen waarbij micro-organismen zich aërogeen kunnen verspreiden, in een VK-II kabinet moeten worden uitgevoerd.²⁰ Andere aanvullende waarborgen die ML-II biedt boven ML-I zijn eisen aan ramen, ontsmettingsvoorzieningen, de toegankelijkheid van de werkruimte, de wijze van desinfectie, en het werken met dieren of planten.

De COGEM vindt het noodzakelijk dat handelingen waarbij sporen vrij kunnen komen in een VK-II kabinet worden uitgevoerd. De andere voorschriften die ML-II van ML-I onderscheiden verlagen de kans op verspreiding van *gg-T. aggressivum* en *gg-L. fungicola* naar het milieu echter niet. De COGEM is daarom van mening dat werkzaamheden met *gg-T. aggressivum* en *gg-L. fungicola* op inperkingsniveau ML-I uitgevoerd kunnen worden met in achtneming van het in de Regeling ggo opgenomen aanvullende voorschrift om werkzaamheden waarbij sporen vrij kunnen komen in een VK-II kabinet uit te voeren.

4. Conclusie

Samenvattend is de COGEM van mening dat de criteria ‘plant, mens en dier’ voor de pathogeniteitsclassificatie in de Regeling ggo in brede zin opgevat moeten worden. Daarnaast vindt de COGEM dat de afwezigheid van risico’s voor mens en milieu op ML-I inperkingsniveau afdoende gewaarborgd is, indien er bij open handelingen waarbij sporen van *T. aggressivum* en *L. fungicola* vrij kunnen komen gebruik wordt gemaakt van een VK-II kabinet.

5. Referenties

1. COGEM (2015). Classificatie van *Schwanniomyces occidentalis*, *Trichoderma aggressivum* en *Verticillium fungicola*. Advies CGM/150303-02
2. Zare R & Gams W (2008). A revision of the *Verticillium fungicola* species complex and its affinity with the genus *Lecanicillium*. Mycol Res 112: 811-824
3. Centraal Bureau Schimmelcultures (CBS). *Verticillium fungicola*. <http://www.mycobank.org/BioloMICS.aspx?Table=Mycobank&Rec=58315&Fields=All> (bezocht 21 april 2015)
4. Berendsen RL *et al.* (2010). *Lecanicillium fungicola*: causal agent of dry bubble disease in white-button mushroom. Mol Plant Pathol 11: 585-595
5. Berendsen RL (2011). Dry bubble disease of the white button mushroom. Ecology and control of *Lecanicillium fungicola*. Uitgeverij BOXPress, Oosterwijk
6. Samuels GJ *et al.* (2002). *Trichoderma* species associated with the green mold epidemic of commercially grown *Agaricus bisporus*. Mycologia 94: 146-170

7. Krupke OA *et al.* (2003). The North American mushroom competitor, *Trichoderma aggressivum* f. *aggressivum*, produces antifungal compounds in mushroom compost that inhibit mycelial growth of the commercial mushroom *Agaricus bisporus*. *Mycol Res* 107: 1467-1475
8. Cabras A *et al.* (2006). Occurrence, isolation and biological activity of phytotoxic metabolites produced *in vitro* by *Sphaeropsis sapinea*, pathogenic fungus of *Pinus radiata*. *Eur J Plant Pathol* 115: 187-193
9. Staatssecretaris van Infrastructuur en Milieu (2014). Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. Staatscourant 11317. <https://zoek.officielebekendmakingen.nl/stcrt-2014-11317.html> (bezocht 21 april 2015)
10. Maddison DR & Schulz KS (2007). The Tree of Life Web Project. <http://tolweb.org> (bezocht 21 april 2015)
11. Europese Unie (2009). Richtlijn 2009/41/EG van het Europees Parlement en de Raad van 6 mei 2009 inzake het ingeperkte gebruik van genetisch gemodificeerde micro-organismen. Publicatieblad van de Europese Unie. L125/75-97
12. European Council (1990). Directive 90/219/EEC of 23 April 1990 on the contained use of genetically modified micro-organisms. Official Journal of the European Communities. L117/1
13. Belgian Biosafety Server. Ingeperkt gebruik van ggo's en pathogenen. Indeling in GGM's in risicoklasse 1. <http://www.biosafety.be/CU/Annexes/GGM1NL.html> (bezocht 6 mei 2015)
14. Linnaeus C (1751). *Philosophia botanica*.
15. Keeling P *et al.* (2009). Eukaryota, organisms with nucleated cells. In: The Tree of Life Web Project. <http://tolweb.org/Eukaryotes/3/2009.10.28> (bezocht: 1 mei 2015)
16. COGEM (2014). Een uitstekend milieu: grenzen aan het milieu. Signalering CGM/141222-02
17. O'Brien M *et al.* (2014). Proteomic response of *Trichoderma aggressivum* f. *europaeum* to *Agaricus bisporus* tissue and mushroom compost. *Fungal Biol* 118: 785-791
18. Schuster A & Schmoll M (2010). Biology and biotechnology of *Trichoderma*. *Appl Microbiol Biotechnol* 87: 787-799
19. Staatssecretaris van Infrastructuur en Milieu (2014). Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. Staatscourant 11317. Bijlage 8, behorende bij artikel 19 van de Regeling ggo milieubeheer 2013. Staatscourant 11317. <https://zoek.officielebekendmakingen.nl/stcrt-2014-11317.html#d16e57708> (bezocht 21 april 2015)
20. Staatssecretaris van Infrastructuur en Milieu (2014). Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. Staatscourant 11317. Bijlage 9, behorende bij artikel 5 en artikel 24 van de Regeling ggo milieubeheer 2013. <https://zoek.officielebekendmakingen.nl/stcrt-2014-11317.html#d16e58339> (bezocht 23 april 2015)