

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Waterstaat
Mevrouw drs. S. van Veldhoven-van der Meer
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 17 april 2018
KENMERK CGM/180417-01
ONDERWERP Advies pathogeniteitsclassificatie van de schimmel *Termitomyces* symbiont van de termiet *Macrotermes natalensis*

Geachte mevrouw Van Veldhoven,

Naar aanleiding van een verzoek van Wageningen Universiteit om de schimmel *Termitomyces* symbiont van *Macrotermes natalensis* op Bijlage 2, lijst A1 te plaatsen (IG 18-042_2.13-000), deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd om te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de schimmel *Termitomyces* symbiont van *Macrotermes natalensis* en de plaatsing van deze schimmel op Bijlage 2, lijst A1 van de Regeling ggo. Deze schimmel is (nog) niet formeel beschreven en heeft hierdoor geen soortnaam.

Termitomyces sp. leeft samen met de termiet *M. natalensis*. De schimmel en de termiet leven in obligate symbiose, dit betekent dat ze volledig afhankelijk van elkaar zijn en niet zonder elkaars aanwezigheid kunnen overleven in de natuur.

Er zijn bij de COGEM geen aanwijzingen bekend dat de schimmel pathogeen is voor mens, dier of plant. Zij adviseert daarom *Termitomyces* sp. in te delen in pathogeniteitsklasse 1 en op te nemen in Bijlage 2, lijst A1 van de Regeling ggo.



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 IenW

Pathogeniteitsclassificatie van de schimmel *Termitomyces* symbiont van de termiet *Macrotermes natalensis*

COGEM advies CGM/180417-01

1. Inleiding

Naar aanleiding van een verzoek van Wageningen Universiteit (IG 18-042) is de COGEM gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de schimmel *Termitomyces* symbiont van *Macrotermes natalensis* en de plaatsing van deze schimmel op Bijlage 2, lijst A1 van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen' (Regeling ggo).¹ Deze bijlage bestaat uit een lijst van gastheerorganismen die apathogeen zijn voor mens, dier of plant. Opname op Bijlage 2, lijst A1 betekent dat onder ML-I laboratoriumcondities met het betreffende organisme genetisch gemodificeerde organismen (ggo's) vervaardigd mogen worden indien hierbij vectoren worden gebruikt die wél, of inserties die níet, op de A-lijsten staan (respectievelijk 'lijst A2 veilige vectoren' en 'lijst A3 inserties'). Activiteiten met deze ggo's kunnen, zonder dat een aanvrager daar een milieurisicobeoordeling voor hoeft aan te leveren, direct na kennisgeving gestart worden.

2. Pathogeniteitsclassificatie Regeling ggo

Onder de ggo-regelgeving worden bij de pathogeniteitsclassificatie de risico's voor mens en milieu in ogenschouw genomen. Daartoe worden in de Regeling ggo micro-organismen ingedeeld in vier pathogeniteitsklassen. 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. Iedere pathogeniteitsklasse is gekoppeld aan een inperkingsniveau voor werkzaamheden met ggo's van die klasse.

Apathogene micro-organismen worden ingedeeld in pathogeniteitsklasse 1. Dergelijke micro-organismen dienen minimaal aan één van de volgende criteria te voldoen:

- a) het micro-organisme behoort niet tot een soort waarvan vertegenwoordigers bekend zijn die ziekteverwekkend zijn voor mens, dier of plant;
- b) het micro-organisme heeft een lange historie van veilig gebruik onder omstandigheden waarbij geen bijzondere inperkende maatregelen worden getroffen;
- c) 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;
- d) van het micro-organisme is het niet-virulente karakter door middel van adequate tests aangetoond

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

Een indeling in pathogeniteitsklasse 3 is van toepassing op een micro-organisme dat bij mensen of dieren een ernstige ziekte kan veroorzaken, waarvan het waarschijnlijk is dat het zich onder de populatie verspreidt, terwijl er een effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding toepasbaar is.

Een indeling in pathogeniteitsklasse 4 is van toepassing op een micro-organisme dat bij mensen of dieren een zeer ernstige ziekte kan veroorzaken, waarvan het waarschijnlijk is dat het zich onder de populatie verspreidt, terwijl er geen effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding toepasbaar is.

Opportunistische pathogenen, die uitsluitend ziekte kunnen veroorzaken bij individuen met een verzwakt immuunsysteem, worden in de regel als niet pathogeen beschouwd en kunnen, als aan één van de bovengenoemde voorwaarden van pathogeniteitsklasse 1 is voldaan, op Bijlage 2, lijst A1 van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen' (Regeling ggo)¹ geplaatst worden.

3. Schimmels

Schimmels vormen taxonomisch gezien een zeer heterogene groep en omvatten verschillende fyta, waaronder de ascomyceten, basidiomyceten en glomeromyceten.²

Sommige schimmels veroorzaken houtrot, zoals witrot of bruinrot.³ Witrotschimmels produceren verschillende soorten enzymen die in staat zijn de donker gekleurde ligninecomponent van hout af te breken. Bruinrotschimmels produceren verschillende soorten enzymen die in staat zijn de bleekgekleurde (hemi)cellulose component van hout af te breken.³

Schimmels verspreiden zich via sporen die gevormd worden tijdens geslachtelijke of ongeslachtelijke voortplanting. Ongeslachtelijke of asexuele sporen worden onder meer gevormd door de fragmentatie of afsnoering van de schimmeldraad.⁴

Op grond van hun leefwijze in het ecosysteem worden schimmels onder meer verdeeld in saprotrofe (ook wel saprofytische), parasitaire en symbiotische schimmels.^{2,4} Saprotrofe schimmels leven van dood organisch materiaal. Parasitaire schimmels infecteren levende organismen en kunnen deze beschadigen of zelfs doden. Symbiotische schimmels leven met andere soorten organismen samen, waarbij tenminste één van de soorten voordeel ondervindt. Indien de samenlevende soorten wederzijds voordeel van elkaar ondervinden, spreekt men van mutualisme.

De meest bekende vorm van mutualisme is die van mycorrhizae, een samenlevingsvorm tussen schimmels en plantenwortels (ectomycorrhiza's en arbusculaire mycorrhiza's).^{5,6} Een meer uitzonderlijke vorm van mutualisme is die tussen termieten van de subfamilie Macrotermitinae (*Termitidae*: Isoptera) en witrotschimmels van het genus *Termitomyces* (Basidiomycota: *Lyophyllaceae*).⁷ De schimmelkwekende termieten leven in obligate ectosymbiose met de schimmels en verbouwen deze in schimmeltuinen in hun termietennesten.^{7,8}

3.1 Mutualistische symbiose termieten en schimmels

Schimmelkwekende termieten spelen een belangrijke rol in de afbraak van plantenmateriaal in de (sub)tropen van Afrika en Zuid-Oost Azië.^{8,9} De mutualistische symbiose is ongeveer 30 miljoen jaar geleden ontstaan in het regenwoud in Afrika toen de termieten *Termitomyces* schimmels domesticerden, waarna er langdurige co-evolutie (wederzijdse genetische aanpassingen) heeft plaatsgevonden.^{8,10} Termieten van de subfamilie Macrotermitinae en *Termitomyces* schimmelsoorten

behorende tot de familie *Lyophyllaceae*, vormen beide monofyletische groepen en bestaan uit respectievelijk ~330 en ~40 soorten. *Termitomyces* soorten hebben hun competitieve vermogen verloren en zijn daardoor volledig afhankelijk van hun gastheer, omgekeerd zijn ook de termieten afhankelijk van de schimmels en beide kunnen niet zonder elkaars aanwezigheid in de natuur overleven.^{8,10,11,15}

De schimmel is afhankelijk van de termieten voor substraten en bescherming. Daarnaast creëren de termieten in hun kolonies optimale groeiomstandigheden (hoge temperatuur en luchtvochtigheid) voor de schimmels. Omgekeerd voorziet de schimmel de termieten van voedsel. De termieten cultiveren de *Termitomyces* soorten als monocultuur (één stam per nest) in zogenaamde ‘fungus combs’. Dit zijn speciale structuren die zich bevinden in de grond van het termietennest en -heuvel. Termieten zijn herkauwers, de oudere werkers verzamelen plantenmateriaal (hout, droog gras en bladeren) dat door de jongere werkers wordt geconsumeerd samen met de aseksuele sporen afkomstig van de vruchtlichamen die zich vormen op de ‘fungus combs’. De sporen en het plantenmateriaal worden in de darm van de jonge werkers vermengd en de feces die geproduceerd wordt, vormt vervolgens het substraat voor het ontstaan van nieuwe ‘fungus combs’. De oude ‘fungus combs’ bestaande uit gedeeltelijk verteerd plantenmateriaal worden door de oudere werkers geconsumeerd.^{7,8,9,10,11,12,14}

Er wordt al meer dan 100 jaar onderzoek gedaan naar *Termitomyces* soorten.¹³ De paddenstoelen van deze soorten zijn zeer eiwitrijk en worden gegeten als delicatessen en gebruikt als medicijn in Afrika en Azië.¹¹ Voorzover bekend zijn er geen *Termitomyces* soorten geassocieerd met ziekte bij mens, dier of plant.

3.2 *Termitomyces symbiont van *Macrotermes natalensis* (*Termitomyces* sp.)*

De onderhavige vergunningaanvraag heeft betrekking op de *Termitomyces* symbiont van de termietensoort *Mycotermes natalensis*. *M. natalensis* is de meest voorkomende termiet in het zuiden van Afrika.¹⁵ Deze termietensoort is exclusief geassocieerd met één *Termitomyces* soort.^{7,10,14} Deze symbiont van *M. natalensis* (vanaf hier *Termitomyces* sp. genoemd) is (nog) niet formeel beschreven en heeft hierdoor geen soortnaam. In 2014 is de genomsequentie van een stam van *Termitomyces* sp. gepubliceerd.¹⁰ *Termitomyces* sp. is op basis van de ‘internal transcribed spacer’ (ITS) sequentie te onderscheiden van andere *Termitomyces* soorten.¹⁴ *Termitomyces* sp. groeit als een heterokaryoot in de ‘fungus comb’ en heeft een heterothallisch bevruchtingssysteem.^{7,15} De schimmel kan alleen onder zeer specifieke, steriele condities in het laboratorium worden gekweekt.¹⁵

4. Eerder COGEM advies

De COGEM heeft niet eerder soorten behorende tot de familie *Lyophyllaceae* geassocieerd waartoe *Termitomyces* schimmels behoren.

5. Overweging en advies

Wetenschappelijk gezien is de pathogeniteit van een micro-organisme goed aan te tonen. De afwezigheid van pathogeniteit is echter moeilijk te bewijzen en er nauwelijks wordt gerapporteerd over de pathogeniteit van micro-organismen.

Er zijn bij de COGEM geen publicaties bekend die de *Termitomyces symbiont* van *M. natalensis* (*Termitomyces* sp.) relateert aan pathogeniteit voor mens, dier of plant. Gezien zijn leefwijze in de natuur, acht de COGEM het ook niet aannemelijk dat deze schimmel pathogeen is. Ook zijn er bij de COGEM geen publicaties bekend waarin melding wordt gemaakt dat de schimmel over toxische eigenschappen beschikt.

Het bovenstaande in overweging nemende, is de COGEM van oordeel dat *Termitomyces* sp. niet pathogeen is. Zij adviseert daarom deze soort in te delen in pathogeniteitsklasse 1. Tevens is zij van oordeel dat *Termitomyces* sp. in aanmerking komt voor plaatsing op lijst A1 van Bijlage 2 van de Regeling ggo.

Referenties

1. Ministerie van Infrastructuur en Milieu (2015). Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. <http://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2017-01-01> (bezoekt: 9 april 2018)
2. James TY *et al.* (2006). Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. *Nature* 443: 818-822
3. Ozinga WA *et al.* (2013). Paddenstoelen in het natuurbeheer. OBN preadvies paddenstoelen – Deel 1: Ecologie, knelpunten en kennislacunes. Directie Agro kennis, Ministerie van Economische Zaken Rapport nr. 2013/OBN181-DZ
4. Gould AB (2010). Fungi: Plant pathogenic. In: Encyclopedia of Microbiology. Third edition. Eds Schaechter M *et al.* Academic Press, Elsevier, Oxford (UK)
5. Dighton J (2010). Mycorrhizae. In: Encyclopedia of Microbiology. Third edition. Eds Schaechter M *et al.* Academic Press, Elsevier, Oxford (UK)
6. BWM (2017). Schimmels. Van plaag tot bouwmeester. Stichting Biowetenschappen en Maatschappij. Kwartaal 4
7. de Fine Licht HH *et al.* (2006). Presumptive horizontal symbiont transmission in the fungus-growing termite *Macrotermes natalensis*. *Mol. Ecol.* 15: 3131-3138
8. Aanen DK *et al.* (2002). The evolution of fungus-growing termites and their mutualistic fungal symbionts. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99: 14887-14892
9. Aanen DK & Eggleton P (2005). Fungus-growing termites originated in African rain forest. *Curr. Biol.* 15: 851-855
10. Poulsen M *et al.* (2014). Complementary symbiont contributions to plant decomposition in a fungus-farming termite. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 111: 14500-14505
11. Aanen DK (2017). De schimmeltuinen van termieten. In: Schimmels. Van plaag tot bouwmeester. Ed. Wösten *et al.* Stichting Biowetenschappen en Maatschappij, cahier 4, 36e jaargang
12. Wageningen University & Research. Schimmelkwekende termieten hebben enorm potentieel aan enzymen. <https://www.wur.nl/nl/nieuws/Schimmelkwekende-termieten-hebben-enorm-potentieel-aan-enzymen.htm> (bezoekt: 5 april 2018)
13. Harris JA (1907). The fungi of termite nests. *The American Naturalist* 48: 536-539
14. Aanen DK *et al.* (2007). Patterns of interaction specificity of fungus-growing termites and *Termitomyces* symbionts in South Africa. *BMC Evol. Biol.* 7: 115

15. de Fine Licht HH *et al.* (2005). *Termitomyces* sp. associated with the termite *Macrotermes natalensis* has a heterothallic mating system and multinucleate cells. *Mycol. Res.* 109: 314-318