

Advies betreffende: **Aanvullend advies over “Vouwing en kwaliteitscontrole van glycoproteïnen in het endoplasmatisch reticulum”**

Kennisgever: **Universiteit Utrecht**

COGEM kenmerk
CGM/030224-03

BGGO nummer
00-117/2

Datum advies
28 februari 2003

Inleiding

De schimmel *Ashbya gossypii* is een filamenteuze ascomyceet die in het begin van de vorige eeuw in Amerika veel aandacht heeft gekregen vanwege de schade die deze schimmel aanrichtte in de katoenteelt. *A. gossypii* behoort binnen het schimmelrijk tot de divisie Ascomycetae en kan alleen overgedragen worden met behulp van insecten (*Leptoglossus* species, schildwantsen). Het organisme vormt een hyffennetwerk, en wordt samen met vele gistsoorten als *Saccharomyces*, *Torula* en *Schizosaccharomyces*, ingedeeld binnen de klasse van Hemiascomycetes. In de plantenziektekunde krijgt de groep van Hemiascomycetes weinig aandacht, omdat de groep voornamelijk bestaat uit asci-vormende gisten, die niet plantpathogeen zijn. De meeste soorten spelen een belangrijke rol bij drank- en voedselbereiding. In Europa wordt slechts één organisme binnen de groep van Hemiascomycetes beschouwd als plantpathogeen, namelijk *Taphrina deformans*, de veroorzaker van krulziekte op *Prunus* spp. Het genoom van *A. gossypii* is volledig gesequenced en blijkt het kleinste genoom van een vrij-levende eukaryoot te zijn. In de industrie worden riboflavine (B12) overproducerende *A. gossypii* stammen gebruikt voor de productie van vitamines.

Het doel van de aanvrager is om de vouwing en kwaliteitscontrole te onderzoeken van influenzavirus- en HIV-eiwitten in het endoplasmatisch reticulum. Daarnaast worden genproducten onderzocht die betrokken zijn bij het reguleren en in stand houden van membraantransport in de cel, eiwit-eiwit interacties en chaperone-activiteiten. Hiertoe wordt gebruik gemaakt van genetisch gemodificeerde *A. gossypii* welke twee niet-reverteerbare mutaties in de genen LEU2 en THR4 bevat. De aanvrager heeft reeds een toestemming voor kloneringshandelingen op C-I niveau, maar verzoekt om omlaagschaling naar VMT niveau.

Eerder heeft de COGEM geadviseerd (CGM/030127-04) betreffende de kennisgeving GGO 00-117/2, getiteld ‘Vouwing en kwaliteitscontrole van glycoproteïnen in het endoplasmatisch reticulum’, van de Universiteit Utrecht. In dit advies geeft de COGEM aan dat de werkzaamheden met *Ashbya gossypii* op VMT niveau uitgevoerd kunnen worden. Het Bureau GGO (ministerie van VROM) heeft aanvullende vragen gesteld met betrekking tot de verspreiding van *A. gossypii*, het optreden van mogelijke verwanten van katoen als gastheer, het gebruik van auxotrofe markers en op basis van welke argumenten de COGEM omlaagschaling mogelijk acht.

Overwegingen en advies

Pathogeniteit en gastheerbereik

A. gossypii is oorspronkelijk beschreven als een plantpathogeen van katoen. De schimmel kan de jonge katoenbol infecteren en rot veroorzaken. Publicaties over de schade op katoen zijn hoofdzakelijk afkomstig uit het begin van de vorige eeuw. De COGEM is van mening dat er sprake is van een zeer beperkte plantpathogeniteit.

Bovendien komt de gastheerplant katoen niet voor in Nederland, waardoor groei en sporulatie op katoen onmogelijk is. Experimenten om tabak en tomaat te infecteren waren tot nu toe niet succesvol. Uit literatuuronderzoek^{1,2} blijkt dat *A. gossypii* een bladvlekkenziekte op boon (*Phaseolus vulgaris*) kan veroorzaken. De afwezigheid van vervolgpunten indiceert dat de ernst en de omvang van de ziekte op boon gering is. Tevens is gepubliceerd³ dat *A. gossypii* geïsoleerd kan worden uit insecten die gevangen werden in een citrusplantage. Uit deze publicatie is onduidelijk of de schimmel ook op citrusplanten werd gevonden.

In Nederland komen geen kruisbare verwanten voor van katoen. Katoen behoort tot de familie der *Malvaceae* waarvan de volgende soorten in Nederland voorkomen: *Abutilon*, *Hibiscus*, *Althaea*, en *Malva*. Deze soorten staan fylogenetisch zo ver van katoen af, dat uitkruising uit te sluiten is.

Verspreidingsgebied en vector

De vestigingscondities voor *A. gossypii* in Nederland en Noordwest Europa lijken ongunstig te zijn. Het is een warmteminnende schimmel die voorkomt in subtropisch tot mediteraan en mogelijk tropische gebieden (^{1,2} Brazilië, ³ Cuba, ⁴ Iran, ⁵ Verenigde Staten, Californië).

De schimmel kan aanwezig zijn op geïmporteerde katoen⁴. Import van besmette katoen vindt hoogstwaarschijnlijk ook in Nederland plaats. Toch is deze schimmel nooit in Nederland aangetroffen.

In Nederland acht de COGEM verspreiding van sporen via insecten niet aannemelijk aangezien de verantwoordelijke insecten (*Leptoglossus* species) hier niet voorkomen. Hoewel *Leptoglossus* soorten beschreven worden als vector, is het niet volledig uit te sluiten dat andere plantenvoedende (zuigende) insecten kunnen bijdragen aan de verspreiding van *A. gossypii*⁶.

Additionele overwegingen

De in de aanvraag gebruikte laboratoriumstam van *A. gossypii* bevat mutaties in de genen LEU2 en THR4. Zonder toevoegingen van hoge concentraties van de aminozuren leucine en threonine kan deze stam van *A. gossypii* niet groeien of sporuleren en vindt kieming van sporen onder natuurlijke omstandigheden niet plaats. Hierbij dient opgemerkt te worden dat informatie met betrekking tot welk construct gebruikt wordt voor de transformatie niet in het dossier aanwezig is, waardoor het onduidelijk is of de gebruikte vector beide functionele auxotrofe markers bevat.

De regelgeving in Duitsland en Zwitserland geeft aan dat *A. gossypii* al meer dan 10 jaar geclassificeerd is in de laagste risicogroep. Tevens zijn er voor zover bekend geen meldingen van menselijke of dierlijke infecties door *A. gossypii*.

Conclusies en Advies

De COGEM heeft in een eerder advies aangegeven dat de werkzaamheden met *A. gossypii* op VMT niveau uitgevoerd kunnen worden. Dit advies tot inschaling blijft gehandhaafd op basis van het feit dat het een milde plantpathogeen betreft, de gastheerplant katoen en gunstige verspreidingsomstandigheden niet voorkomen in Nederland. Het eventueel voorkomen op andere gastheerplanten dan katoen wordt door het slechts sporadisch voorkomen van publicaties over *A. gossypii* als pathogeen van andere planten als niet waarschijnlijk beschouwd.

Op basis van alle bovenstaande vermelde gegevens en argumenten concludeert de COGEM dat er geen onaanvaardbare risico's voor mens en milieu optreden wanneer de werkzaamheden met *A. gossypii* op VMT niveau ingeschaald worden.

Het advies om ggo-werkzaamheden met deze plantpathogene schimmel op VMT-niveau in te schalen is gebaseerd op het totale pakket van overwegingen en is specifiek voor deze genetisch gemodificeerde stam van *A. gossypii*. Dit betekent dat bij toekomstige inschalingen van werkzaamheden met plant-pathogene schimmels dit telkens per geval bekeken moet worden.

Referenties

¹Menten, J.O.M., Giacomelli, W.J., Tulmann, N.A., Ando, A. 1979. Occurrence of *Ashbya gossypii* (Ashby & Nowell) Guilliermond, causing yeast spot in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds in Sao Paulo State. Summa Phytopathologica 5: 173-177 (Portugees).

²Menten, J.O.M., Giacomelli, W.J., Tulmann, N.A., Ando, A. 1979. Effect of yeast spot on the quality of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. Fitopatologia Brasileira 4: 493-501 (Portugees).

³Dammer, K.H., Ravelo, H.G. 1990. Infection of *Leptoglossus gonagra* (Fabr.) with *Nematospora coryli* Peglion and *Ashbya gossypii* (Ashby & Nowell) Guilliermond in a citrus plantation in the Republic of Cuba. Archiv für Phytopathologie und Pflanzenschutz 26: 71-78.

⁴Raynal, G. 1973. *Aspergillus niger* v. Tiegh., *Rhizopus stolonifer* (Ehr. ex Fr.) Lind, and two agents of stigmatomycosis, responsible for the coloration of cotton fibres in Iran. Coton et Fibres Tropicales 28: 297-300 (Frans).

⁵Watkins, G.M. 1981. Compendium of cotton diseases. APS Press, Minnesota, US.

⁶Holliday, P. 1998. A dictionary of plant pathology, 2nd edition. Cambridge university press.