

Aan de minister van  
Infrastructuur en Waterstaat  
drs. B. Visser  
Postbus 20901  
2500 EX Den Haag

**DATUM** 15 december 2021  
**KENMERK** CGM/211215-01  
**ONDERWERP** Advies pathogeniteitsklasse van de schimmel *Myrothecium indicum*

Geachte mevrouw Visser,

Naar aanleiding van een verzoek van Ginkgo Bioworks Netherlands B.V. om de schimmelsoort *Myrothecium indicum* op Bijlage 2, lijst A1 (apathogene organismen) van de Regeling ggo te plaatsen (IG 21-182\_2.13-000), deelt de COGEM u het volgende mee.

**Samenvatting:**

De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de schimmelsoort *Myrothecium indicum* en de plaatsing van deze schimmel op Bijlage 2, lijst A1 van de Regeling ggo.

*M. indicum* is beter bekend onder de namen *Myrothecium leucotrichum* en *Xepicula leucotricha*. De schimmel is voor het eerst geïsoleerd uit grond in India. *M. indicum* kan bepaalde mycotoxines produceren, die in celkweek schadelijke effecten kunnen veroorzaken. Gezondheidseffecten bij mens of dier onder natuurlijke omstandigheden zijn niet beschreven. Wel zijn er aanwijzingen dat de schimmel ziekte kan veroorzaken bij verschillende plantensoorten. Alles in overweging nemende, adviseert de COGEM om *M. indicum* in te delen in pathogeniteitsklasse 2 als plantpathogene schimmel.

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

Hoogachtend,



Prof. dr. ing. Sybe Schaap  
Vorzitter COGEM

c.c.           - Drs. Y. de Keulenaar, Hoofd Bureau ggo  
                  - Ministerie van IenW, Directie Omgevingsveiligheid en milieurisico's, DG  
                  Milieu en Internationaal

# **Pathogeniteitsclassificatie van de schimmel *Xepicula leucotricha* (syn. *Myrothecium indicum* en *Myrothecium leucotrichum*)**

## **COGEM advies CGM/211215-01**

### **1. Inleiding**

Naar aanleiding van een verzoek van Ginkgo Bioworks Netherlands B.V. (IG 21-182) is de COGEM gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de schimmelsoort *Myrothecium indicum*. Tevens is de COGEM gevraagd te adviseren over de plaatsing van deze soort op Bijlage 2, lijst A1 van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen' (Regeling ggo).<sup>1</sup> Deze bijlage bestaat uit een lijst van micro-organismen die apathogeen zijn voor mens, dier of plant. Opname op Bijlage 2, lijst A1 betekent dat onder ML-I laboratoriumcondities met het betreffende micro-organisme ggo's vervaardigd mogen worden indien hierbij vectoren worden gebruikt die wél, of inserties die níet, op de A-lijsten staan (lijst A2 veilige vectoren en lijst A3 inserties).

### **2. Pathogeniteitsclassificatie Regeling Genetisch Gemodificeerde Organismen (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.

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 ggo geplaatst worden.

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.

### 3. Taxonomie en naamgeving

De taxonomie van schimmels is complex. Mede door de toenemende informatie over genoomsequenties is de taxonomie aan verandering onderhevig. Dit vraagt om een zorgvuldige identificatie van de te gebruiken schimmelsoort. Veel schimmels hebben zowel een geslachtelijk (teleomorf) als een ongeslachtelijk (anamorf) stadium. Omdat zij er in deze stadia verschillend uitzien, hebben verscheidene schimmels in het verleden meerdere soortnamen gekregen. In 2011 is door het 'International Botanical Congress' besloten dat het tot dan toe gebruikelijke duale nomenclatuursysteem van schimmels komt te vervallen en dat vanaf januari 2013 één schimmel slechts één naam mag hebben.<sup>2</sup> De nieuwe naamgeving is nog niet altijd consistent doorgevoerd.

### 4. Genus *Myrothecium*

*Myrothecium*-soorten behoren tot de familie van de *Stachybotryaceae* en komen wereldwijd voor. Het genus *Myrothecium* betreft uitsluitend anamorfe schimmels; zij planten zich alleen asexueel voort door middel van conidiën (sporen). De meeste soorten uit dit genus worden als saprofyten of endofyten op dood of afstervend plantmateriaal gevonden.<sup>3,4,5</sup> Door productie van secundaire metabolieten en daarmee onder andere gepaard gaande fungicide, antibacteriële of insecticide activiteit, worden soorten uit het genus als potentiële kandidaten voor verschillende biotechnologische toepassingen beschouwd.<sup>3,4</sup> Sommige *Myrothecium*-soorten, met name *Myrothecium verrucaria* en *Myrothecium roridum*,<sup>a</sup> produceren mycotoxines, zogenaamde trichothecenen, waaronder 'verrucarins' en 'roridins'.<sup>3,4</sup> Trichothecenen zijn zeer diverse verbindingen die de synthese van eiwitten en de replicatie van DNA remmen en cytotoxische effecten hebben.<sup>3</sup>

In het genus *Myrothecium* komen soorten voor die ziekte kunnen veroorzaken in planten, zoals bladvlekkenziekte ('*Myrothecium* leaf spot disease').<sup>3,4</sup> De bekendste soorten uit dit genus die geassocieerd zijn met ziekten bij planten betreffen *M. roridum* en *M. verrucaria*.<sup>3,4,5</sup> De mogelijke gezondheidseffecten van *Myrothecium*-soorten op de mens zijn (nog) niet onderzocht.<sup>3,5</sup>

---

<sup>a</sup> Deze twee schimmelsoorten zijn in 2016 op basis van fylogenetisch onderzoek in verschillende genera geplaatst en zijn hernoemd als *Albifimbria verrucaria* en *Paramyrothecium roridum*.<sup>4</sup>

## 5. *Myrothecium indicum* / *Myrothecium leucotrichum*

*Myrothecium indicum* is een anamorfe filamenteuze schimmel die in 1963 geïsoleerd is uit braakliggende grond in India.<sup>10</sup> *M. indicum* wordt als synoniem beschouwd van *Myrothecium leucotrichum*. In 1993 is voorgesteld *M. leucotrichum* te hernoemen als *Xepicula leucotricha*, en deze naam wordt in recente wetenschappelijke literatuur en in verschillende taxonomische bronnen gehanteerd.<sup>4,6,7,8,9,10</sup> In onderstaande paragrafen worden de namen echter gehanteerd zoals zij in de betreffende literatuurstudies genoemd zijn.

*M. leucotrichum* is in staat macrocyclische trichothecenen te produceren.<sup>11,12</sup> Cultuurfiltraat met de bioactieve componenten van *M. leucotrichum* kan in celweek cytotoxische effecten hebben en kan fenotypische veranderingen veroorzaken bij ontwikkelende zebra-embryo's.<sup>11,12,13</sup> Of deze bioactieve componenten onder natuurlijke omstandigheden gezondheidseffecten kunnen hebben, is onbekend. In weidegebieden waar de schimmel voorkomt, is er geen bewijs gevonden dat deze schimmel of diens bioactieve componenten gezondheidsproblemen veroorzaken bij grazers.<sup>12,13</sup>

In verschillende publicaties wordt melding gemaakt van ziekte bij planten veroorzaakt door *M. leucotrichum*. Zo worden in een onderzoek gepubliceerd in 1973 bladvlekken gerapporteerd na het besproeien van jonge zaadplanten met een sporensuspensie van *M. leucotrichum*. Ook planten gekweekt op grond geïnoculeerd met *M. leucotrichum* vertoonden ziektesymptomen.<sup>14</sup> Tevens veroorzaakte filtraat van de schimmel schade aan gesneden scheuten van Soja en 'cowpea', wat een aanwijzing vormde voor de productie van toxines.<sup>14</sup> Ook is filtraat van de schimmel groeiremmend voor verschillende plantpathogene schimmels.<sup>15</sup> In een meer recent onderzoek (2020) wordt melding gemaakt dat *X. leucotricha* (*M. leucotrichum*) geïsoleerd is (welswaar met lage frequentie) uit bladeren met bladvlekken van watermeloenen (*Citrullus lanatus*), en een enkele keer uit symptomatisch blad van Cassabanana (*Sicana odorifera*). Uit experimenten waarbij verschillende concentraties sporen (conidia) over de gehele plant werden gespreid, is gebleken dat *X. leucotricha*, - in vergelijking met andere onderzochte plantpathogene schimmelsoorten – weliswaar minder laesies veroorzaakt bij watermeloen en andere onderzochte gewassen (tomaat en 'Southern pea'), maar dat bij watermeloen de ernst van de effecten (gemeten als het percentage van het blad dat aangetast is per plant) voor *X. leucotricha* het grootst was van de onderzochte schimmelsoorten.<sup>16</sup>

## 6. Eerder COGEM advies

De COGEM heeft in 2015 onderzoek laten uitvoeren door de Wageningen Universiteit.<sup>17,18</sup> In dit onderzoek zijn de pathogeniteitsclassificatielijsten voor bacteriën en schimmels van de COGEM geanalyseerd, waarbij de lijsten met apathogene micro-organismen van destijds werden gescreend op mogelijke plantpathogenen en verwekkers van bewaarziekten. Voor deze analyse is o.a. een lijst met plant-pathogene schimmelsoorten geraadpleegd, gebaseerd op 'APS common names of Plant Diseases'.<sup>19</sup> In deze lijst is het genus *Myrothecium* ingedeeld als plant-pathogene schimmel. Tevens is het genus *Myrothecium* genoemd als genus waarvan vertegenwoordigers trichothecenen vormen, in een advies over toxine-producerende genen uit 2005.<sup>20</sup> De COGEM heeft niet eerder geadviseerd over de pathogeniteitsklasse van schimmels uit de genera *Myrothecium* of *Xepicula*.

## 7. Pathogeniteitsclassificaties andere beoordelende instanties

Het 'Westerdijk Fungal Biodiversity Institute' heeft *X. leucotricha* ingedeeld in BSL 1,<sup>10</sup> gebaseerd op humane pathogeniteit. Het Zwitserse 'Federal Office for the Environment' (FOEN) vermeldt alleen *M. roridum* en *M. verrucaria* als plantpathogenen in risicogroep 1, met de opmerking dat sommige plantpathogene soorten als klasse 2 moeten worden beschouwd als ze een groter risico vormen, bijvoorbeeld wanneer zij niet van Europese oorsprong zijn, resistent zijn tegen fungiciden of de eigenschappen van de schimmel nog niet goed in kaart zijn gebracht.<sup>21</sup> *M. indicum*, *M. leucotrichum* of *X. leucotricha* staan niet op de Zwitserse lijst. Op de lijsten van de Belgische 'Service Biosafety and Biotechnology' (SBB) staat enkel *M. roridum* vermeldt als plantpathogeen van klasse 2. *M. indicum*, *M. leucotrichum* of *X. leucotricha* worden niet vermeld op de lijsten humaan-, dier- of plantpathogene schimmels.<sup>22</sup> In de 'Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen' (DSMZ) zijn eveneens alleen *M. verrucaria* en *M. roridum* ingedeeld, en geplaatst in risicogroep 1.<sup>23</sup> Door de American Type Culture Collection (ATCC) wordt, gebaseerd op pathogeniteit voor de mens, *M. leucotrichum* ingedeeld in BSL 1.<sup>24</sup>

## 8. Overweging en advies

*M. indicum*, beter bekend als *X. leucotricha* of *M. leucotrichum*, is oorspronkelijk geïsoleerd uit de bodem. De soort behoort tot een genus waarvan vertegenwoordigers voorkomen die plantpathogeen zijn. *M. leucotricum* kan bepaalde mycotoxines produceren; macrocyclische trichothecenen. Deze mycotoxines kunnen in celweek cytotoxische effecten veroorzaken, maar gezondheidseffecten bij mens of dier onder natuurlijke omstandigheden zijn, voor zover bekend bij de COGEM, niet beschreven in de wetenschappelijke literatuur. In de 'Atlas of Clinical Fungi', waar klinisch relevante schimmelsoorten worden benoemd, zijn *M. indicum* of diens synoniemen niet opgenomen.<sup>25</sup> Er zijn in de wetenschappelijke literatuur aanwijzingen gevonden voor plantpathogeniteit.<sup>14,16</sup> *M. indicum* (syn. *M. leucotricum* of *X. leucotricha*) is tevens opgenomen in de online database met informatie over schimmelsoorten die ziekten bij planten veroorzaken van de 'United States Department of Agriculture' (USDA).<sup>26</sup>

Het bovenstaande in overweging nemende, adviseert de COGEM *M. indicum* (syn. *M. leucotrichum* en tegenwoordig bekend als *X. leucotricha*) in te delen in pathogeniteitsklasse 2 als plantpathogene schimmel.

## Referenties

1. Ministerie van Infrastructuur en Milieu (2014). Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. <https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2021-04-01> (bezoekt op 23-09-2021)
2. Hawksworth DL (2011). A new dawn for the naming of fungi: impacts of decisions made in Melbourne in July 2011 on the future publication and regulation of fungal names. *IMA Fungus* 2: 155-162
3. Elkhateeb WA & Daba GM (2019). *Myrothecium* as promising model for biotechnological applications, potentials and challenges. *Biomed. J. Sci. Tech. Res.* 16: 12126-12131
4. Lombard L *et al.* (2016). Generic hyper-diversity in *Stachybotriaceae*. *Persoonia* 36: 156-246

5. Chen Y *et al.* (2016). Mycosphere Essays 2. *Myrothecium*. Mycosphere 7: 64–80
6. Species Fungorum. <http://www.speciesfungorum.org/Names/SynSpecies.asp?RecordID=359685> (bezocht op 6-12-2021)
7. National Center for Biotechnology Information (NCBI) Taxonomy browser. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi> (bezocht op 6-12-2021)
8. Encyclopedia of Life. *Xepicula leucotricha* (Peck) Nag Raj 1993. <https://eol.org/pages/998688/names> (bezocht op 6-12-2021)
9. Mycobank Database. Fungal Databases, Nomenclature & Species Banks. <https://www.mycobank.org/page/Simple%20names%20search> (bezocht op 6-12-2021)
10. Westerdijk Institute. Culture collection of fungi and yeasts. CBS 131.64 (*Xepicula leucotricha*) <https://wi.knaw.nl/details/80/17492> (bezocht op 6-12-2021)
11. Hoeksma J *et al.* (2019). A new perspective on fungal metabolites: identification of bioactive compounds from fungi using zebrafish embryogenesis as read-out. *Sci. Rep.* 9: 17546
12. Mantle PG (1991). Chapter 7: Miscellaneous toxigenic fungi. In: *Mycotoxins and Animal Foods*. Eds. Smith JE & Henderson RS, CRC Press, Inc.
13. Di Menna ME *et al.* (1973). The incidence of the genus *Myrothecium* in New Zealand pastures and its relation to animal disease. *J. Gen. Microbiol.* 79: 81-87
14. Nguyen TH *et al.* (1973). Seed-borne species of *Myrothecium* and their pathogenic potential. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 61: 347–354
15. Suryanarayana K & Ramalingam A (1980). Effect of metabolites of *Myrothecium leucotrichum* on the germination of spores of plant pathogenic fungi. *Curr. Sci.* 49: 442-444
16. Rennberger G & Keinath AP (2020). Phytotoxicity and mammalian cytotoxicity of macrocyclic trichothecene mycotoxins from *Myrothecium verrucaria*. *Phytochemistry* 59: 309-313
17. Van der Vlugt RAA *et al.* (2015) Screening of the COGEM lists of non-pathogenic bacteria and fungi for postharvest diseases and plant pathogens. COGEM onderzoeksrapport 2015-06
18. COGEM (2015) Adviserende en signalerende aanbiedingsbrief bij rapport ‘Screening of the COGEM lists of non-pathogenic bacteria and fungi for postharvest diseases and plant pathogens’ CGM/151126-01
19. The American Phytopathological Society (APS) Common Names for Plant Diseases <http://www.apsnet.org/publications/commonnames/Pages/default.aspx> (bezocht op 6-12-2021)
20. COGEM (2005). Classificatie van toxine producerende genen. COGEM advies CGM/050628-01
21. Federal Office for the Environment (FOEN). Classification of Organisms. Part 4: fungi. Status November 2004. <https://www.bafu.admin.ch/bafu/en/home/topics/biotechnology/publications-studies/publications/classification-of-organisms.html> (bezocht op 6-12-2021)
22. Belgian Biosafety Server. Revised lists of pathogens and their corresponding class of biological risk. <https://www.biosafety.be/content/tools-belgian-classification-micro-organisms-based-their-biological-risks> (bezocht op 6-12-2021)
23. DSMZ. German Collection of Microorganisms and Cell Cultures GmbH. <https://www.dsmz.de/> (bezocht op 6-12-2021)
24. American Type Culture Collection. <https://www.lgcstandards-atcc.org/> (bezocht op 6-12-2021)

25. The Atlas of Clinical Fungi. <https://www.clinicalfungi.org/page/Atlas%20Online> (bezoekt op 6-12-2021)
26. USDA ARS Fungal database. <https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/> (bezoekt op 6-12-2021)