

Aan de staatssecretaris van  
Infrastructuur en Waterstaat  
drs. V.L.W.A. Heijnen  
Postbus 20901  
2500 EX Den Haag

**DATUM** 13 juli 2022  
**KENMERK** CGM/220713-02  
**ONDERWERP** Advies pathogeniteitsclassificatie *Ophiocordyceps unilateralis* sensu lato

Geachte mevrouw Heijnen,

Naar aanleiding van een 2.13 verzoek van de Universiteit Utrecht om het schimmelsoortencomplex *Ophiocordyceps unilateralis* sensu lato op Bijlage 4 te plaatsen (IG 22-084\_2.13-000), deelt de COGEM u het volgende mee.

**Samenvatting:**

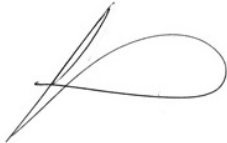
De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van het schimmelsoortencomplex *Ophiocordyceps unilateralis* sensu lato, in verband met de plaatsing van deze schimmel op Bijlage 4 (pathogene micro-organismen) van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen'.

*Ophiocordyceps unilateralis* sensu lato is een soortencomplex van schimmels die voornamelijk in tropische gebieden voorkomen, en ziekte kunnen veroorzaken in bepaalde mierensoorten. Tijdens het zoeken naar voedsel kunnen deze mieren geïnfecteerd raken met de schimmel en veranderen zij in 'zombie-mieren' die afwijkend gedrag vertonen. Deze 'zombie-mieren' verlaten het nest en bijten zich uiteindelijk vast aan de onderzijde van laaghangende bladeren of stokken. Hierna overlijden de mieren en groeien er vruchtlichamen van de schimmel uit de kop van de mier, en worden sporen gevormd die op de grond vallen en nieuwe mieren kunnen infecteren. Er zijn geen aanwijzingen dat schimmels uit dit soortencomplex ziekte kunnen veroorzaken bij mensen, planten, of andere dier- en insectensoorten.

De taxonomie van het *O. unilateralis* sensu lato complex is niet geheel duidelijk en aan verandering onderhevig. Dit in overweging nemende, adviseert de COGEM om de 25 soorten die behoren tot een specifieke taxonomische groep (de *O. unilateralis* 'core clade') in te delen in pathogeniteitsklasse 2 en te plaatsen op Bijlage 4 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. Y de Keulenaar, Hoofd Bureau ggo
- Ministerie van IenW, Directie Omgevingsveiligheid en milieurisico's, DG Milieu en Internationaal

*Met het oog op eventuele belangenverstrengeling, is COGEM lid dr. J.J.P.A. de Cock niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies*

# Pathogeniteitsclassificatie van het schimmelsoortcomplex *Ophiocordyceps unilateralis sensu lato*

## COGEM advies CGM/220713-02

### 1. Inleiding

Naar aanleiding van een verzoek van de Universiteit Utrecht (IG 22-084) is de COGEM gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse (zie appendix I) van het schimmelsoortencomplex *Ophiocordyceps unilateralis sensu lato*, in verband met plaatsing hiervan op Bijlage 4 van de ‘Regeling genetisch gemodificeerde organismen’ (Regeling ggo, pathogene micro-organismen).<sup>1</sup>

### 2. 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> Op dit moment bevindt het nomenclatuursysteem van schimmels zich nog steeds in een overgangssituatie waarbij de nieuwe naamgeving nog niet altijd consistent is doorgevoerd.

### 3. Het genus *Ophiocordyceps*

Het genus *Ophiocordyceps* (voorheen bekend als *Cordyceps*) behoort tot de familie *Ophiocordycipitaceae*, orde *Hypocreales* binnen het fyllum *Ascomycota*, en is in 1931 voor het eerst beschreven.<sup>3,4,5</sup> Het genus is polyfyletisch, en er worden meer dan 200 soorten tot dit genus gerekend die voorkomen in gematigde en (sub)tropische regio's.<sup>4,5</sup> Soorten binnen dit genus zijn entomopathogene schimmels die parasiteren op verschillende groepen insecten, onder meer binnen de orde *Lepidoptera* (vlinderachtigen), *Coleoptera* (keverachtigen) en de *Formicidae* (mieren).<sup>3,6</sup> Het genus bevat verschillende anamorfe groepen, i.e. *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Paraisaria* en *Byssostilbe*.<sup>6,7</sup>

#### 3.1 *Ophiocordyceps unilateralis sensu lato*

*O. unilateralis sensu lato* (anamorf: *Hirsutella formicarum*) is een soortencomplex waarvan de taxonomische indeling nog niet geheel duidelijk is. Er zijn verschillende publicaties over *O. unilateralis sensu lato* waarin wordt aangetoond dat isolaten, geïsoleerd uit verschillende miersoorten, verschillen vertonen in micromorfologische en genetische kenmerken.<sup>6,8</sup> Er is door Evans *et al.* in 2011 voor het eerst voorgesteld om de *O. unilateralis* isolaten te hernoemen op basis van de mierensoort waaruit deze waren geïsoleerd.<sup>8</sup> Sindsdien is er een toenemende mate van steun voor deze ‘one ant – one *Ophiocordyceps* species’ benadering. Er zijn echter ook beschrijvingen van soorten die tot *O. unilateralis sensu lato* worden gerekend, maar die zijn geïsoleerd uit een gebied met een gematigd

klimaat in de Verenigde Staten<sup>9</sup> en uit de bossen van Central Taiwan,<sup>10</sup> en in staat zijn meerdere miersoorten uit het genus *Polyrhachis* en/of *Camponotus* te infecteren.

Volgens Araújo *et al.* worden zowel de ‘*O. unilateralis* core clade’ als de *O. kniphofioides* sub-clade’ gerekend tot de *O. unilateralis* clade. In een publicatie uit 2018 wordt *O. kniphofioides* echter niet tot *O. unilateralis* sensu lato gerekend,<sup>11</sup> en betreft *O. unilateralis* sensu lato uitsluitend de soorten uit de *O. unilateralis* ‘core clade’.

Binnen de *O. unilateralis* ‘core clade’ worden 25 verschillende soorten erkend.<sup>7</sup> Deze soorten komen voornamelijk voor in de (sub)tropen van Azië en Noord- en Zuid-Amerika.

De volgende soorten worden gerekend tot de *O. unilateralis* ‘core clade’<sup>7</sup>: *O. kimflemingiae*, *O. camponoti-hippocrepidis*, *O. camponoti-renggeri*, *O. albacongiuae*, *O. camponot-nidulantis*, *O. camponoti-atricipis*, *O. camponoti-floridani*, *O. camponoti-balzani*, *O. camponoti-rufipedis*, *O. camponoti-femorati*, *O. camponoti-chartificis*, *O. camponoti-bispinosi*, *O. pulvinata*, *O. blakebarnesii*, *O. rami*, *O. naomipierceae*, *O. ootakii*, *O. halabalaensis*, *O. camponoti-saundersi*, *O. satoi* nom. et stat. nov., *O. polyrhachis-furcata*, *O. camponoti-leonardii*, *O. camponoti-melanotici*, *O. camponoti-indiani*, *O. camponoti-novogranadensis*.

#### **4. Pathogeniteit van *Ophiocordyceps unilateralis* sensu lato**

Het gastheerbereik van *O. unilateralis* lijkt beperkt te zijn tot (neo)tropische miersoorten. *O. unilateralis* soorten parasiteren op mieren uit de geslachtengroep Camponotini, met name op houtmieren (‘carpenter ants’) van het genus *Camponotus* en in enkele gevallen op mieren van het genus *Polyrhachis*.<sup>12</sup> Wanneer deze mieren in contact komen met de sporen van *O. unilateralis* s.l., dringen de sporen via de weke delen van het exoskelet binnen. De schimmel beïnvloedt het gedrag van de mier, waarna deze het nest verlaat en ‘zombie-achtig’ gedrag vertoont, waardoor de mier zich in willekeurige richting voortbeweegt en last krijg van stuiptrekkingen. Dit heeft tot gevolg dat de mier op de bodem valt en via het lagere bladerdak omhoog kruipt, waarna het zich uiteindelijk aan de onderzijde van een blad of stok vastbijt.<sup>12</sup> Na het bijten atrofiëren de onderkaakspieren van de mieren, waardoor de mieren vast komen te zitten en ook na de dood niet van het blad afvallen (de zogenaamde ‘death grip’).<sup>12</sup> Na de dood ontwikkelt de ascocarp zich uit de kop van de mier, waarin de ascosporen worden gevormd die uiteindelijk op de grond vallen en andere mieren kunnen infecteren. De soorten die tot de *O. unilateralis* ‘core clade’ gerekend worden, vertonen naast morfologische verschillen en diverse miersoorten als gastheer, ook verschillen ten opzichte van het soort bladeren en de locatie waar de geïnfecteerde mier zich vastbijt.<sup>7</sup>

#### **5. Eerder COGEM advies**

De COGEM heeft niet eerder geadviseerd over schimmelsoorten uit het genus *Ophiocordyceps* of de familie *Ophiocordycipitaceae*. De COGEM heeft wel eerder geadviseerd over de schimmelsoort *Akanthomyces attenuates*, die pathogeen is voor bladluizen, nematoden en mijten. COGEM adviseerde *A. attenuatus* in te delen in pathogeniteitsklasse 2.<sup>13</sup>

## 6. Classificaties door andere instanties

De 'Belgian Biosafety Server' heeft '*Cordyceps unilateralis*' (de oude naam van *Ophiocordyceps unilateralis*) ingedeeld als klasse 2 dierpathogeen.<sup>14</sup> De inschaling door deze buitenlandse instantie geldt als referentie en achtergrondinformatie bij de classificatie die door de COGEM wordt uitgevoerd.

## 7. Overweging en advies

Soorten uit het schimmelsoortencomplex *Ophiocordyceps unilateralis* sensu lato komen voornamelijk voor in tropische gebieden en zijn pathogeen voor mieren uit de geslachtengroep Camponotini.<sup>11</sup> Er zijn bij de COGEM geen aanwijzingen dat schimmels die tot dit soortencomplex behoren, pathogeen zijn voor mens, plant, of andere dier- en insectensoorten.

Mieren komen tijdens het foerageren in contact met sporen van de schimmel, waarna ze geïnfecteerd raken.<sup>12</sup> Nadat de mieren zijn geïnfecteerd, wordt het gedrag van de mieren zodanig beïnvloed, dat deze het nest verlaten en uiteindelijk sterven. Na de dood van de mier ontwikkelt zich uit het lichaam van de mier een vruchtlichaam waarin sporen worden gevormd. Deze sporen komen uiteindelijk op de grond terecht, waar ze weer een nieuwe mier kunnen infecteren.

De taxonomie van het soortcomplex *Ophiocordyceps unilateralis* is niet geheel duidelijk en aan verandering onderhevig, waardoor niet eenduidig is vast te stellen welke soorten tot *Ophiocordyceps unilateralis* sensu lato behoren. Een publicatie over de taxonomie beschrijft een monofyletische *O. unilateralis* 'core clade' waartoe, voor zover bekend, 25 soorten in worden erkend.<sup>7</sup> Wegens de aan verandering onderhevige taxonomie van het soortencomplex, wijst de COGEM er op dat het bij het classificeren van *O. unilateralis* sensu lato, noodzakelijk is om te specificeren welke soorten hiertoe worden gerekend. De soorten behorende tot de *O. unilateralis* 'core clade' (sensu Araújo *et al.*<sup>7</sup>) vertonen vergelijkbare pathogeniteit en gastheerbereik, en kunnen daarom als groep met overeenkomstige eigenschappen geïnclassificeerd worden. De COGEM is daarom van oordeel dat de 25 soorten behorende tot de *O. unilateralis* 'core clade' onder *O. unilateralis* sensu lato kunnen worden ingedeeld in een pathogeniteitsklasse.

Al het bovenstaande in overweging nemende, adviseert de COGEM de volgende soorten in te delen in pathogeniteitsklasse 2 en op te nemen in Bijlage 4 van de Regeling ggo<sup>1</sup>: *O. kimflemingiae*, *O. camponoti-hippocrepidis*, *O. camponoti-renggeri*, *O. albacongiuae*, *O. camponoti-nidulantis*, *O. camponoti-atricipis*, *O. camponoti-floridani*, *O. camponoti-balzani*, *O. camponoti-rufipedis*, *O. camponoti-femorati*, *O. camponoti-chartificis*, *O. camponoti-bispinosi*, *O. pulvinata*, *O. blakebarnesii*, *O. rami*, *O. naomipierceae*, *O. ootakii*, *O. halabalaensis*, *O. camponoti-saundersi*, *O. satoi* nom. et stat. nov., *O. polyrhachis-furcata*, *O. camponoti-leonardii*, *O. camponoti-melanotici*, *O. camponoti-indiani*, *O. camponoti-novogranadensis*, *O. unilateralis* (sensu stricto).

## Referenties

1. Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013.  
<https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2022-01-01> (bezocht: 30-06-2022)

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. Tسانathai K *et al.* (2019). Phylogenetic and morphological classification of *Ophiocordyceps* species on termites from Thailand. *Myckeys* 56: 101-129
4. Ban S *et al.* (2019). Three new species of *Ophiocordyceps* and overview of anamorph types in the genus and the family Ophiocordyceptaceae. *Mycol. Progress* 14: 1017
5. Pontoppidan MJ *et al.* (2009). Graveyards on the move: the spatio-temporal distribution of dead *Ophiocordyceps*-infected ants. *PloS One* 4: e4835
6. Kobmoo N *et al.* (2012). Molecular phylogenesis reveal host-specific divergence of *Ophiocordyceps unilateralis* sensu lato following its host ants. *Mol. Ecol.* 21: 3022-3031
7. Araújo JPM *et al.* (2018). Zombie-ant fungi across continents: 15 new species and new combinations within *Ophiocordyceps*. L. Myrmecophilous hirsutelloid species. *Stud. Mycol.* 90: 119-160
8. Evans HC (2011). Hidden diversity behind the zombie-ant fungus *Ophiocordyceps unilateralis*: four new species described from carpenter ants in Minas Gerais, Brazil. *PloS One* 6: e17024
9. De Bekker C *et al.* (2014). Species-specific ant brain manipulation by a specialized fungal parasite. *BMC Evol. Biol.* 14: 166
10. Lin WJ *et al.* (2020). Evaluating the tradeoffs of a generalist parasitoid fungus, *Ophiocordyceps unilateralis*, on different sympatric ant host. *Sci. Rep.* 10: 6428
11. Evans HC *et al.* (2018). Epitypification and re-description of the zombie-ant fungus, *Ophiocordyceps unilateralis* (*Ophiocordycipitaceae*). *FUSE* 1: 13-22
12. Hughes DP *et al.* (2011). Behavioral mechanisms and morphological symptoms of zombie ants dying from fungal infection. *BMC Ecol.* 11: 13
13. COGEM (2018). Advies pathogeniteitsclassificatie van de schimmel *Akanthomyces attenuatus* (syn. *Lecanicillium attenuatum*). COGEM advies CGM/181203-01
14. Belgian Biosafety Server – Belgian classification of micro-organisms based on their biological risk [https://www.biosafety.be/sites/default/files/fyto\\_fungi.pdf](https://www.biosafety.be/sites/default/files/fyto_fungi.pdf) (bezocht: 04-07-2022)

## **Appendix I. Pathogeniteitsclassificatie Regeling ggo**

Onder de ggo-regelgeving worden bij de pathogeniteitsclassificatie van een micro-organisme de risico's voor mens en milieu in ogenschouw genomen. Daartoe worden de 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.