

MORFOLOGIE, MICROSCOOP, MOLECULEN: WAT GEBEURT ER MET DE TAXONOMIE VAN DE AGARICALES?

Thomas W. Kuyper

sectie Bodemkwaliteit, Wageningen Universiteit, Postbus 8005, 6700 EC Wageningen

Kuyper, Th.W. 2002. Morphology, microscope, molecules – what is happening in the taxonomy of the agaricoid Basidiomycetes? *Coolia* 45(3): 121-132.

The use of molecular methods in the taxonomy of the agaricoid Basidiomycetes has led to substantial changes in the circumscription of orders and families, smaller changes in the circumscription of genera, and only very limited changes in species concepts. Although many of the higher taxa are now more natural, recognition of these taxa on the basis of morphology or microscopical characters has become much more difficult. A short introduction to molecular methods is provided. Examples of taxonomic changes in the classification of the agaricoid Basidiomycetes are given.

Onlangs verscheen de negende en nieuwste editie van de *Dictionary of the Fungi* (Kirk *et al.*, 2001). In deze dictionary wordt een volledig overzicht gegeven van het systeem der fungi, gaande van fyta en klassen, via ordes en families, tot aan de genera. Van elk genus is bovendien nog een schatting gegeven van het aantal soorten. Eén van de redacteurs van dit boek, Joost Stalpers, had mij verzocht aan deze publicatie bij te dragen voor wat betreft de Agaricales in wijde zin (plaatjeszwammen, boleten, russula's en melkzwammen, en agaricoïde gasteromyceten). Eén van de vragen waar ik mee geconfronteerd werd, was welke veranderingen in de taxonomie van de Basidiomyceten nu voldoende zeker waren om in dit boek te accepteren. Deze vragen betroffen onder andere de positie van de Gasteromyceten ten opzichte van de Hymenomyceten (Agaricales en Aphyllophorales), en de omschrijving van de Agaricales, Boletales en Russulales. In de omschrijving van deze groepen waren de afgelopen jaren aanzienlijke en radicale veranderingen voorgesteld, die voor het grootste deel gebaseerd waren op de resultaten van de toepassing van moleculaire methoden in de systematiek. Ik moest daarbij dus kiezen welke wijzigingen ik wenste te accepteren en er rekening mee houden dat mijn behandeling van de Agaricales en die van de Aphyllophorales door Joost op elkaar moesten passen. Het is tenslotte niet gewenst dat een deel van de Basidiomyceten door een progressieve mycoloog op zijn kop wordt gezet, terwijl een ander deel van dezelfde groep door een reactionaire mycoloog ongewijzigd blijft. De noodzaak om de moleculair-taxonische literatuur kritisch te beschouwen riep ogenblikkelijk ook de vraag op in hoeverre die nieuw gedefinieerde groepen ook feitelijk herkend konden worden op basis van morfologie of microscopische kenmerken.

Men hoort nogal eens de bewering dat de moleculaire taxonomie leidt tot geheel nieuwe indelingen die voor de leek nauwelijks te begrijpen zijn. De vraag is natuurlijk of dat werkelijk zo is. En, als dat zo mocht zijn, hoe "erg" is dat dan? Dat laatste is voor een belangrijk deel een kwestie van smaak. Om enige indruk te geven van het soort veranderingen dat door de toepassing van moleculaire methoden voorgesteld is, volgen hier allereerst enkele korte meerkeuze-opgaven. Daarmee kan een indruk verkregen worden hoe "erg" die veranderingen nu eigenlijk zijn en in welke mate men vooruitstrevend of ouderwets is. De antwoorden op deze opgaven, met een korte toelichting, worden verderop in deze bijdrage gegeven.

Vraag 1: Welke soort hoort in dit rijtje niet thuis?

- a. *Collybia tuberosa* (Purperknolcollybia)
- b. *Gymnopus dryophilus* (Gewoon eikenbladzwammetje)
- c. *Rhodocollybia maculata* (Roestvlekkenzwam)
- d. *Omphalotus illudens* (Lantaarnzwam)

Vraag 2: Welke soort hoort in dit rijtje niet thuis?

- a. *Inocybe geophylla* (Satijnvezelkop)
- b. *Hebeloma crustuliniforme* (Radijsvaalhoed)
- c. *Panaeolus foenisecii* (Gazonvlekplaat)
- d. *Agrocybe praecox* (Vroege leemhoed)

Vraag 3: Welke soort hoort in dit rijtje niet thuis?

- a. *Suillus granulatus* (Melkboleet)
- b. *Chalciporus piperatus* (Peperboleet)
- c. *Gomphidius roseus* (Roze spijkerzwam)
- d. *Rhizopogon luteolus* (Okerkleurige vezeltruffel)

Vraag 4: Welke soort hoort in dit rijtje niet thuis?

- a. *Gyrodon lividus* (Elzenboleet)
- b. *Melanogaster broomeianus* (Welriekende inkttruffel)
- c. *Paxillus involutus* (Gewone krulzoom)
- d. *Tapinella panuoides* (Ongesteelde krulzoom)

Vraag 5: Welke soort hoort in dit rijtje niet thuis?

- a. *Pleurotus ostreatus* (Gewone oesterzwam)
- b. *Lentinus tuber-regium* (een tropische soort met een groot, eetbaar sclerotium)
- c. *Hohenbuehelia culmicola* (Helmharpoenzwam)
- d. *Resupinatus applicatus* (Harig dwergoortje)

Vraag 6: Toepassing van moleculaire methoden leidt ertoe dat het geslacht *Panellus* (Schelpzwam) in de opvatting van Moser (5 soorten)

- a. ongewijzigd kan blijven.
- b. moet worden gesplitst in twee genera.
- c. moet worden gesplitst in drie genera.
- d. moet worden gesplitst in vier genera.

Vraag 7: Tot welk geslacht behoort de Geschubde inktzwam?

- a. *Coprinus*
- b. *Annularius*
- c. *Agaricus*
- d. Dat is een kwestie van smaak.

Vraag 8: Tot welke familie behoort *Rickenella fibula* (Oranje trechtertje)?

- a. Tricholomataceae
- b. Rickenellaceae
- c. Russulaceae
- d. Weet niet

Hoe maken wij uit bovenstaande mogelijkheden een keuze? Simpelweg is dit het resultaat van een classificatie die gebaseerd is op (veronderstelde) evolutionaire verwantschappen tussen soorten. En de vraag is dan ook hoe we die verwantschappen vaststellen en hoe we op basis daarvan tot een classificatie komen. Een classificatie kan gebruik maken van alle soorten kenmerken, zowel morfologische en microscopische als moleculaire kenmerken. Het is belangrijk om hier te wijzen op een belangrijk verschil tussen classificatie en identificatie van een soort. Voor classificatie geldt verwantschap als belangrijkste criterium. Een op evolutionaire verwantschappen gebaseerde classificatie wordt een natuurlijke classificatie genoemd. Voor identificatie, bijvoorbeeld met behulp van een determinatiesleutel, gelden andere criteria, met name gebruiksvriendelijkheid (hoe gemakkelijk is het om een collectie op naam te brengen) en betrouwbaarheid (hoe groot is de kans dat je bij determinatie verkeerd, of zelfs helemaal niet uitkomt). De kenmerken die gebruikt worden in een goede, gebruiksvriendelijke en betrouwbare sleutel, zijn gelukkig lang niet altijd dezelfde als de kenmerken die wijzen op verwantschap.

Kopiëren

Ik zal de werking van moleculaire methoden proberen uit te leggen aan de hand van een parallel, namelijk de reconstructie van teksten in handgeschreven manuscripten. Teksten worden voor een groot deel ongewijzigd overgenomen en doordat het aantal veranderingen relatief klein is, is de kans groot dat nieuw opgetreden fouten gekopieerd worden (zeker omdat de middeleeuwse kopiïsten soms niet wisten wat ze lazen maar alleen letters kopieerden), en dat woorden (lettercombinaties) die verdwenen zijn voor eeuwig zijn verdwenen. Een voorbeeld ter illustratie. Hieronder staan drie rijen letters (niet noodzakelijkerwijs een zin; net als een streng DNA, het erfelijke materiaal dat door moleculair taxonomen gewoonlijk wordt gebruikt voor de reconstructie van verwantschappen tussen soorten, zijn het alleen maar letters; alleen hier zijn het er 26 en bij DNA zijn er maar 4 letters):

DE Z E Z I N B E T E K E N T N I E T S	(A)
DE Z E Z I N B E T E K E N T F I E T S	(B)
DE Z E Z I N B E T E K E N T F L E T S	(C)

Er zijn drie manieren (er zijn er zes, maar ze zijn symmetrisch) waarop deze "zinnen" in een reeks gezet kunnen worden: A-B-C; A-C-B; B-A-C. (De drie andere manieren zijn C-B-A; B-C-A; C-A-B). Zijn de drie reeksen even waarschijnlijk? Met simpel tellen blijkt dat voor de reeks A-B-C er tweemaal een letter veranderd is (van N naar F, en van I naar L), en bij de reeksen A-C-B en B-A-C er driemaal een letter veranderd is (van N naar I, van F naar L en een terugverandering van L naar I; resp. van F naar N, van N terug naar F en van I naar L). Gegeven het feit dat veranderingen onwaarschijnlijk zijn (17 van de 20 letters zijn in het geheel niet veranderd), is er een goede reden om de reeks met de minste veranderingen als meest waarschijnlijk op te vatten. In feite werken programma's voor reconstructie van kenmerken (zowel morfologische als moleculaire kenmerken) op dezelfde manier. Ze tellen voor elke mogelijke reeks met hoeveel veranderingen dat gepaard gaat en kiezen dan de reeks met het kleinste aantal veranderingen. Neem in plaats van de voorbeelden A, B en C maar 3 soorten met de volgende kenmerken: A – gladde kleurloze sporen; B – gladde bruine sporen; C – geornamenteerde bruine sporen. Over die spelregel (de beste reeks is de reeks met het minste aantal veranderingen) is iedereen het eens. De

vraag doet zich alleen voor hoe we precies tellen. Telt elke verandering gelijk? Er zijn wellicht argumenten te bedenken om niet elke verandering gelijk te tellen. Kijken we eens naar een ander voorbeeld:

D E Z E Z I N B E T E K E N T N I E T S	(D)
D E Z E V I S B E T E K E N T A L L E S	(E)
D F Z F V I S B F T F K F N T N I F T S	(F)

Bij de reeks D-E-F hebben we $6 + 9 = 15$ stappen, bij de reeks D-F-E $8 + 9 = 17$ stappen, en bij de reeks E-D-F $6 + 8 = 14$ stappen. De reeks E-D-F lijkt dan de meest waarschijnlijke. Als we echter zien dat er 6 maal sprake is van de overgang van de letter E naar F (of F naar E) en we zouden die minder willen tellen (bijvoorbeeld slechts 1 keer), dan wordt het aantal overgangen bij D-E-F $6 + 5 = 11$; bij D-F-E $3 + 5 = 8$ stappen; bij E-D-F $6 + 3 = 9$ stappen. Dus door een andere weging wordt de reeks D-F-E waarschijnlijker dan de reeks E-D-F, die bij gelijk tellen van elke verandering de meest waarschijnlijke weg was.

Letters kunnen niet alleen veranderen, maar ook kunnen letters wegvallen of toegevoegd worden. Bij de moleculaire systematiek speelt dit verschijnsel een zeer belangrijke rol. Vergelijken we deze twee zinnen:

D E Z Z E Z I N B E T E K E N T I E T S	(G)
D E Z E Z I N B E T E K E N T N I E T S	(H)

Het lijkt dat we 13 stappen nodig hebben voor deze overstap. Maar met een simpele truc kunnen we deze dertien stappen terugbrengen tot twee!

D E Z Z E Z I N B E T E K E N T . I E T S	(I)
D E . Z E Z I N B E T E K E N T N I E T S	(J)

Door twee gaten aan te nemen passen de "zinnen" precies. Hoever mag je gaan met het aannemen van gaten? Hoe groot mogen de gaten zijn? Tellen alle gaten gelijk of tellen grotere gaten zwaarder?

D E Z E V O L Z I N B E T E K E N T N I E T S	(K)
D E Z E Z I N B E T E K E N T D U S N I E T S	(L)

Veertien stappen in dit geval. Met dezelfde truc brengen we dit terug tot...? Zes? Of twee?

D E Z E V O L Z I N B E T E K E N T . . . N I E T S	(M)
D E Z E . . . Z I N B E T E K E N T D U S N I E T S	(N)

Tot nog toe zijn zinnen (rijen van letters) in een reeks gezet, zonder dat de richting aangegeven is waarin de reeks gelezen moet worden. Zo'n richtingloze reeks heet een netwerk, en om van een netwerk een verwantschapsboom te maken, is nog een extra stap vereist. Daarvoor is het nodig dat er bepaald wordt welke letterrij de oorspronkelijke is; de richting van de reeks volgt daar dan automatisch uit. Het kiezen / aanwijzen van zo'n "oorspronkelijke zin" (een "buitengroep" in het jargon) is soms problematisch. Voor zo'n buitengroep is het nodig dat die minder verwant is met de overige rijen dan elk van die

overige reeksen onderling. In het geval van moleculaire systematiek van basidiomyceten doen we dat door als buitengroep bijvoorbeeld een ascomyceet te kiezen. In dat geval hebben we goede redenen om aan te nemen dat de verschillende geslachten van de basidiomyceten onderling meer verwant zijn dan elk met die ascomyceet. Daardoor kan de verwantschapsboom binnen de Agaricales worden opgebouwd. Ook kunnen we natuurlijk twee buitengroepen nemen, bijvoorbeeld een ascomyceet en een heterobasidiomycete. In dat geval verwachten we dat de eerste buitengroep voor de Agaricales de heterobasidiomycete is, de eerste buitengroep voor beide basidiomyceten de ascomyceet. Als een verkeerde buitengroep is gekozen, is de kans aanwezig dat de daarop gebaseerde verwantschapsboom van twijfelachtige kwaliteit is.

Moleculaire spelregels

Het maken van verwantschapsbomen is dus een "spel" met gedefinieerde "spelregels". Over de "spelregels" valt te twisten (en dat gebeurt dan ook), en het is daarom goed te bedenken dat een analyse van veranderingsstappen (in het jargon heet dat een cladistische analyse) op basis van moleculaire kenmerken verschillende uitkomsten kan hebben. Daarna komt de vraag op welke manier we zo'n verwantschapsboom vertalen in een classificatie. Het heeft immers weinig zin om zo'n verwantschapsschema te maken en vervolgens een classificatie op te stellen die daarmee geen rekening houdt. Ook daarvoor gelden spelregels en de belangrijkste spelregel is dat de voorgestelde indeling niet in strijd mag zijn met het verwantschapsschema.

Als we het eens zijn over de spelregels, blijft er nog een belangrijk punt: De argumentatie is uiteindelijk op een waarschijnlijkheidsargument gebaseerd. Is waarschijnlijkheid een voldoende krachtig argument om tot radicale veranderingen over te gaan? Dat ligt er natuurlijk aan hoe waarschijnlijk iets is. En juist op dat gebied kan de moleculaire systematiek zich bewijzen (en heeft zich ook bewezen) naast de traditionele methoden. Met moleculaire methoden heb je veel meer kenmerken. Waar een morfologisch taxonoom blij mag zijn met 30 kenmerken die gebruikt kunnen worden voor een indeling, heeft een moleculair taxonoom al snel een groter aantal kenmerken tot zijn beschikking: bij twee stukjes DNA van elk 500 basenparen, waarbij 90% niet variabel is, heb je toch al honderd bruikbare kenmerken. Die grote aantallen gegevens (kenmerken) die je verzamelen kunt hebben ertoe geleid dat er methodes ontwikkeld zijn om de mate van waarschijnlijkheid te berekenen, en je kunt die methoden gebruiken om na te gaan of een andere indeling alleen een beetje minder waarschijnlijk is of veel onwaarschijnlijker.

Enkele voorbeelden ter illustratie. De geslachten *Clitocybe* (Trechterzwam) en *Lepista* (Schijnridderzwam) verschillen in één microscopisch kenmerk, namelijk gladde tegenover geornamenteerde sporen. Op die basis worden ze in de *Flora agaricina neerlandica* gescheiden (Noordeloos & Kuyper, 1995). Met moleculaire methoden komt er een andere indeling uit en blijken zowel *Clitocybe* als *Lepista* niet natuurlijk te zijn. We kunnen echter ook de computer (want als er met grote aantallen soorten en kenmerken gewerkt wordt is het beter om de toepassing van de spelregels te automatiseren) opdragen een verwantsschapsschema te maken waarbij *Clitocybe* en *Lepista* volgens het sporencriterium onderscheiden zijn, en nagaan hoeveel minder waarschijnlijk (of met hoeveel extra stappen gepaard) zo'n verwantschapsboom is. De uitkomst is in dit geval dat zo'n schema zoveel extra stappen noodzakelijk maakt dat het zeer onwaarschijnlijk is dat die boom juist is. En daarom zouden we bijvoorbeeld het geslacht *Lepista* moeten opgeven en *Clitocybe* opnieuw moeten indelen. Overigens: in de *Flora agaricina neerlandica* staat al

aangegeven dat het onderscheid tussen *Clitocybe* en *Lepista* eerder conventioneel is dan natuurlijk (Kuyper, 1995). Andere kenmerken (bijv. cyanofilie van de sporenwand, bepaalde chemische kenmerken, sporenvorm, pigmentatie) gaven namelijk ook al aan dat de oude indeling niet zo heel erg goed was.

Een tweede voorbeeld. *Hebeloma* (Vaalhoed) en *Alnicola* (Zompzwam) worden op basis van de structuur van de hoedhuid onderscheiden. Met moleculaire methoden lijkt die indeling niet de beste, omdat de zompzwammen met knotsvormige cheilocystiden zoals *A. bohémica* (Zilversteelzompzwam) meer verwant lijken met soorten van *Hebeloma* dan met de zompzwammen met cheilocystiden met een naaldvormig uitsteeksel zoals *A. escharoides* (Bleke zompzwam). Maar in dit geval geeft de computer aan dat de oude indeling maar een klein beetje slechter (minder waarschijnlijk) is dan een nieuwe (waarbij een deel van *Alnicola* in *Hebeloma* terecht zou komen), en hoeven we voorlopig de oude indeling nog niet op te geven (Aanen *et al.*, 2000).

In de begintijd van de moleculaire systematiek werd vaak één verwantschapsboom gepubliceerd en dat gold als onbetwifelbare basis voor nieuwe taxonomische inzichten. Inmiddels weten we beter. We willen niet alleen zo'n schema, we willen ook gegevens op basis waarvan we kunnen constateren hoeveel structuur er in de gegevens zit, hoe goed gesteund de voorgestelde indeling is en hoeveel minder waarschijnlijk andere-indelingen zijn. Alleen als aan die drie voorwaarden voldaan is, hebben we een nieuw verwantschapsschema op basis waarvan we taxonomische veranderingen kunnen voorstellen. Overigens wordt zo'n vergelijkende test lang niet altijd uitgevoerd. Een recent gepubliceerde moleculaire analyse van *Panellus* (Schelpzwam) laat zien dat het genus zoals thans omschreven weinig natuurlijk is en over 4 genera verdeeld zou moeten worden (Jin *et al.*, 2001). Maar in dat onderzoek is helaas niet nagegaan in hoeverre andere indelingen, waarbij *Panellus* minder zou worden opgesplitst, ook nog aanvaardbaar zijn.

Consequenties

Inmiddels zijn veel verwantschapsbomen gepubliceerd, en er zijn ook voldoende bomen waarbij we redelijkerwijs kunnen beoordelen hoe robuust de nieuw voorgestelde indeling is. Voor die gevallen is dan ook een (soms radicaal) nieuwe indeling voorgesteld in de nieuwste editie van de dictionary. De belangrijkste veranderingen in de taxonomie van de agaricoïde fungi zijn als volgt:

De Gasteromyceten bestaan NIET! Gasteromyceten (basidiomyceten waarbij de sporen niet meer actief worden afgeschoten) komen op verschillende plaatsen in het systeem van de hogere basidiomyceten voor (Hibbett *et al.*, 1997, 2000; Hibbett & Thorn, 2001). Dat werd al lang vermoed, maar inmiddels is dit vermoeden wel zekerheid geworden en komen de Gasteromyceten voor het eerst ook niet meer als taxonomische categorie in de dictionary voor. In 4 van de 8 ordes van de Homobasidiomyceten komen gasteromyceten (met een kleine letter g, om aan te geven dat het geen taxonomische categorie meer is) voor.

Singer (1986) had gelijk! Echte plaatjeszwammen komen in 4 ordes van de Homobasidiomyceten voor, nl. Agaricales, Boletales, Russulales en Polyporales (Hibbett *et al.*, 2000; Hibbett & Thorn, 2001). Het merendeel van de soorten die door Pegler (1983) tot het geslacht *Lentinus* worden gerekend, behoort tot de Polyporales. Het geslacht *Lentinus* dient echter opgesplitst te worden. Bij die nieuwe onderverdeling speelt de ecologie een grotere rol. Soorten van het geslacht *Neolentinus* (zoals *N. lepideus*, Schubbighe taaiplaat) vormen bruinrot, terwijl soorten van de geslachten *Panus* (zoals *P. conchatus*, Trechertertaaiplaat) en *Lentinus* in engere zin (zoals *L. tigrinus*, Tiggertaaiplaat) witrot

vormen. Laatstgenoemde soort is zeer nauw verwant aan de soorten van het geslacht *Polyporus* (Hibbett & Vilgalys, 1993). Er zijn nog geen goede redenen om de Agaricales verder op te splitsen, zoals Kühner (1980) en Jülich (1982) hebben voorgesteld. Daarvoor is het betreffende gedeelte van de boom onvoldoende opgehelderd en waarschijnlijk is het ook niet goed mogelijk om de structuur verder op te helderen (Moncalvo *et al.*, 2000).

De Hygrophoraceae bestaan niet. Dat staat overigens ook al in de Flora agaricina neerlandica (Bas, 1988), waar we de familie opgeheven hebben, maar het is aannemelijk dat de Hygrophoraceae uit twee niet verwante groepen bestaan, nl. de ectomycorrhizavormende Hygrophori en de saprotrofe Hygrocybes.

De Tricholomataceae en de Cortinariaceae waren (en zijn voor een deel nog steeds) "vuilnisbak"-families, m.a.w. ze zijn vooral gekenmerkt doordat ze soorten bevatten die NIET tot andere goed gekarakteriseerde families behoren (Moncalvo *et al.*, 2000).

De Tricholomataceae moeten we in elk geval in twee families splitsen, de Marasmiaceae en de Tricholomataceae in engere zin. Die laatste familie is nog steeds een beetje een rommeltje; dat moet nog verder opgesplitst worden en dan zal ook met de Marasmiaceae en met genera als *Clitocybe* (Trechterzwam) en *Omphalina* (Trechtertje) worden afgerekend (Lutzoni, 1997; Lutzoni & Vilgalys, 1997; Moncalvo *et al.*, 2000). Kühner (1980) had die onderverdeling al voorgesteld en hij had gelijk. *Laccaria* (Fopzwam) hoort voorlopig nog in een eigen familie, al is het mogelijk tot waarschijnlijk dat de naaste verwanten van *Laccaria* bruinspoorders zijn (bijvoorbeeld gordijnzwammen) en geen witspoorders.

In de omgrenzing tussen Tricholomataceae en Marasmiaceae blijken alle genera die ectomycorrhiza vormen tot de Tricholomataceae te behoren, de twee genera die orchideeënmycorrhiza vormen tot de Marasmiaceae. Vrijwel alle witsporige cyphelloïde fungi behoren tot de Marasmiaceae; bioluminescentie, het vermogen in het donker op te lichten, zoals bij *Omphalotus* (Lantaarnzwam) en *Armillaria* (Honingzwam), is mogelijk ook karakteristiek voor de Marasmiaceae. Het optreden van cheilo- en/of pleurocystiden, en een gedifferentieerde hoedhuid (hyfen *en brosse*) komt veel vaker bij de Marasmiaceae dan bij de Tricholomataceae voor. Sarcodimitische steelweefsels, een speciale opbouw van de steel beschreven door Corner (1966), komt ook hoofdzakelijk bij de Marasmiaceae voor. Honderd procent betrouwbaar zijn deze generalisaties nog niet, ook al omdat de positie van *Mycena*, *Hemimycena* en *Hydropus* nog niet voldoende opgehelderd is. Daar moet nog veel werk gebeuren en dan zal vermoedelijk blijken dat ook het geslacht *Mycena* opgesplitst moet worden (Moncalvo *et al.*, 2000).

Door Antonín & Noordeloos (1997) is *Collybia* in drieën gesplitst, *Collybia* ss. str., *Gymnopus* en *Rhodocollybia*. Moleculaire methoden bevestigen die uitkomst grotendeels, maar - wat erger is - *Collybia* hoort in de Tricholomataceae en de andere twee in de Marasmiaceae. Morfologisch niet onbegrijpelijk want de eerste heeft geen cheilocystiden en een simpele hoedhuid, de andere twee bezitten cheilocystiden en een vaak complexe hoedhuid (Moncalvo *et al.*, 2000). Bovendien: kunt u eigenlijk uitleggen hoe je morfologisch een klein exemplaar van *Clitocybe candicans* (Kleine bostrechterszwam) feilloos kunt onderscheiden van een groot uitgevallen exemplaar van *Collybia amanitae* (Dwergcollybia)?

Rickenella is een groot probleem. In de stamboom komt de soort met behoorlijk goede steun uit in de *Russula*-groep, maar morfologisch staat de soort zeer dicht bij *Hemimycena* en *Mycena* (vergelijk bijvoorbeeld *Rickenella fibula* (Oranje trechtertje) en *Mycena acicula* (Oranje dwergmycena)). Er is geen enkel kenmerk te bedenken dat

Rickenella in de richting van de Russulales zou kunnen schuiven. We weten niet waardoor deze merkwaardige positie van *Rickenella* verklaard moet worden.

Pleurotus (Oesterzwam) behoort niet tot de Polyporaceae, maar vormt samen met *Hohenbuehelia* (Harpoenzwam) een eigen groep, familie Pleurotaceae. Beide genera zijn gekarakteriseerd door het vermogen om aaltjes te vangen. *Resupinatus* (Dwergoortje), vroeger naast *Hohenbuehelia* geplaatst, kan geen aaltjes vangen en behoort tot de Tricholomataceae. De soort die vroeger *Lentinus tuber-regium* heette, blijkt op grond van moleculaire kenmerken tot *Pleurotus* te horen. Later bleek ook die soort in staat aaltjes te vangen (Thorn *et al.*, 2000).

De Entolomataceae bleken niet als zodanig herkenbaar, maar omdat de groep microscopisch zeer goed gekenmerkt is (unieke sporenstructuur) en moleculair onvoldoende onderzocht, is er geen enkele reden de Entolomataceae op te geven.

De Pluteaceae en Amanitaceae zijn zeer nauw aan elkaar verwant, en er zijn veel redenen om beide families te combineren. Het is meer een kwestie van smaak of men ze apart wil beschouwen of wil combineren.

De Cortinariaceae zijn heterogeen, en de Crepidotaceae zijn nog in het geheel niet onderzocht. Daar vallen nog flink wat veranderingen aan te brengen. De eerste gegevens lijken erop te wijzen dat *Inocybe* (Vezelkop) en *Cortinarius* (Gordijnzwam) niet zo heel nauw aan elkaar verwant zijn, om over *Hebeloma* (Vaalhoed) maar te zwijgen, want dat laatste geslacht blijkt zeer nauw met *Agrocybe* (Leemhoed) verwant te zijn (Aanen *et al.*, 2000; Moncalvo *et al.*, 2000).

De Bolbitiaceae lijken uit twee delen te bestaan: *Agrocybe* en *Conocybe* + *Bolbitius*. Hier zijn microscopische kenmerken voldoende reden om de familie toch maar te handhaven, zij het dat er enkele genera bijkomen. Enerzijds *Panaeolus* (nog voorstelbaar als een soort donkersporige Bolbitiaceae; samen met *Conocybe* en *Bolbitius*), anderzijds ook *Alnicola* en *Hebeloma* (samen met *Agrocybe* – dit blijkt uit twee verschillende stukjes DNA). Die classificatie lijkt zeer verrassend en nauwelijks geloofwaardig. Of toch? Duur Aanen heeft voor zijn studie van *Hebeloma* een stamboom gemaakt van *Hebeloma* en *Alnicola*. Het bleek dat binnen *Hebeloma* de oorspronkelijke toestand een saprotrofe levenswijze is op relatief voedselrijke standplaatsen en dat vorming van mycorrhiza daaruit ontstaan is (Aanen *et al.*, 2000). Ook binnen *Alnicola* komen soorten voor die geen mycorrhiza vormen maar op brandplekken voorkomen. De verschillen in levenswijze (Bolbitiaceae saprotroof in voedselrijke milieus en *Hebeloma* plus *Alnicola* ectomycorrhizavormend) zijn dus recent ontstaan en gelden niet volledig voor beide (als ectomycorrhizavormers veronderstelde) genera. Andere kenmerken sluiten zo'n verwantschap evenmin uit (celluleuze hoedhuid bij *Alnicola*, in Bolbitiaceae vinden we soorten met gladde en geornamenteerde sporen, soorten met en zonder kiemporie, etc.). De nauwe verwantschap tussen *Hebeloma* en *Alnicola* was overigens al door Kühner (1980) voorgesteld.

Coprinaceae. Hier vinden we twee grote problemen waar de moleculaire systematiek botst met de traditionele opvattingen. Op de eerste plaats bleek dat *Coprinus comatus* (Geschubde inktzwam) buiten de overige inktzwammen viel en, wat nog veel erger was, bij vervolgonderzoek bleek deze soort geheel binnen de familie van de Agaricaceae te passen, in de buurt van *Agaricus*, de echte champignon! (Hopple & Vilgalys, 1999; Johnson, 1999; Johnson & Vilgalys, 1998). Natuurlijk, er zijn enkele kenmerken die deze soort tot een minder typische inktzwam maken (de sporenbinnenwand zwelt niet op wanneer je die kookt in geconcentreerd zwavelzuur; de hoedhuid is geen hymeniderm maar

eerder een cutis; het vlees wordt aan de lucht rozerood), maar men heeft altijd gedacht dat het hele kenmerkencomplex dat met het vervloeien van de lamellen te maken heeft, inclusief de zeer dicht opeenstaande plaatjes en de typische cellen die de plaatjes apart houden, een unieke uitvinding waren. Dus ook hier geldt, net als bij *Rickenella*, de vraag welke classificatie er verkeerd is. Ik neig ertoe in dit geval de moleculair taxonomen te geloven (plaatsing van *C. comatus* in de Agaricaceae wordt sterk gesteund, evenals die van enkele verwante gastroïde taxa zoals *Podaxis* en *Montagnea*). In deel 5 van de Flora agaricina neerlandica wordt eveneens geconcludeerd dat *Coprinus comatus* eigenlijk in het deel over de Agaricaceae thuishoort, maar dat om praktische redenen de soort nog in het inktzwammen-deel komt (Vellinga, 2001). *Coprinus comatus* is bovendien de typesoort van *Coprinus*, dus deze nieuwe indeling heeft ook ernstige nomenclatorische gevolgen. Daarover is het laatste woord nog niet gesproken. Tweede probleem met de inktzwammen is dat de rest van de soorten in een groep staat samen met *Psathyrella* en *Lacrymaria*, maar dat binnen deze groep het kenmerk van vervloeiende lamellen oorspronkelijk is, en dat *Psathyrella* en *Lacrymaria* afgeleid zijn van (en dus teruggekeerd van het pad van) *Coprinus*. Wijst dat erop dat het kenmerk-complex toch gemakkelijker verworven en verloren kan worden dan we gedacht hebben? Een gevolg van deze indeling zou kunnen zijn dat het merendeel van de inktzwammen over 3 verschillende geslachten verdeeld moet worden (Redhead *et al.*, 2001).

Russulaceae. Hier verandert voor de agaricoloog niets, al zijn de inzichten in de verwantschap tussen Russulaceae en een aantal Aphyllophorales gewijzigd (Bruns *et al.*, 1998; Hibbett & Thorn, 2001). In de nieuw omschreven orde van de Russulales vinden we paddestoelen met plaatjes (*Russula*, *Lentinellus*), gaatjes (*Heterobasidion*), stekels (*Hericium*) of met een glad hymenium (*Stereum*, *Peniophora*). Daarnaast lijkt het zeer waarschijnlijk dat de gastroïde genera uit de Russulaceae opgeheven moeten worden en binnen *Russula* en *Lactarius* moeten worden gebracht (Miller *et al.*, 2001).

Boletaceae. Hier waren naast de traditionele morfologische en microscopische kenmerken ook verschillende pigmentchemische kenmerken beschikbaar. Op basis van deze kenmerken had men al voorspeld dat allerlei gasteromyceten zeer nauw verwant waren aan de Boletales. De moleculaire methoden hebben die conclusie bevestigd. Zo staan nu *Scleroderma*, *Pisolithus* en *Astraeus* als eigen familie in de Boletales, naast *Gyroporus*. Het zou mij niet verbazen als over tien jaar *Gyroporus* in de familie van de Sclerodermataceae is geplaatst. Ook *Rhizopogon* blijkt een vertegenwoordiger van de Boletales, en staat in een groep samen met *Suillus* en *Gomphidius*. Ecologisch zijn ze alledrie gelijk: zeer sterke voorkeur voor naaldbomen en uitsluitend tot het noordelijk halfrond beperkt (dat geldt voor geen der andere boleten). Maar het beste bewijs wordt geleverd door de taxa zelf: *Gomphidius*-soorten parasiteren op *Suillus*-soorten (denk aan *G. roseus* en *S. bovinus*) en *Rhizopogon*-soorten! Ook hier geldt dat in 10 jaar het zeer wel mogelijk is dat de Gomphidiaceae, Suillaceae en Rhizopogonaceae in één familie worden geplaatst (Kretzer *et al.*, 1996; Bruns *et al.*, 1998; Grubisha *et al.*, 2001). Noordeloos (2000) deed reeds een belangrijke stap door *Suillus* en *Gomphidius* in één familie te plaatsen.

Paxillus. *Paxillus* valt in twee groepen uiteen (Noordeloos, 2000). Ze verschillen morfologisch (aan- of afwezigheid van cheilocystiden) en ecologisch (ectomycorrizavormend of op naaldbout groeiend). Ook moleculair bleken beide groepen sterk verschillend, zo sterk dat ze in verschillende families thuishoren. *Paxillus* hoort samen met *Gyrodon* en *Melanogaster* in een familie van ectomycorrizavormende soorten; *Tapinella* in een bruinrot-veroorzakende familie met *Hygrophoropsis* en mogelijk ook *Serpula* en

Coniophora (Bresinsky *et al.*, 1999; Jarosch & Besl, 2001). In eerder onderzoek is gevonden dat bruinrot van boleetachtigen van een bijzonder type is, zodat hier de ecologie ook als goede aanwijzing voor de systematische verwantschap gebruikt kan worden.

Kenmerken

Welke conclusies kunnen we trekken nu dit lijstje met taxonomische veranderingen de revue gepasseerd is? Het lijkt erop dat het gebruik van moleculaire methoden heeft geleid tot (zeer) aanzienlijke veranderingen in de omschrijvingen van ordes en families. Overigens spelen families nauwelijks een rol binnen de taxonomie van de Europese plaatjeszwammen, waar we tot nog toe twee "vuilnisbak"-families hadden waartoe het merendeel der soorten behoorde naast een stuk of tien kleine families die wel goed gekarakteriseerd waren. Op geslachtsniveau zijn de veranderingen al veel beperkter, en waar zich veranderingen hebben voorgedaan (*Paxillus*, *Collybia*, *Panellus*) is het niet moeilijk om ondersteunende kenmerken in de morfologie en microscopie te vinden. Daarnaast lijken moleculaire methoden soms geschikt om tegengas te bieden aan de trend om voor randgevallen maar nieuwe eigen geslachten op te richten. Het soortniveau is hier niet genoemd: dit komt doordat de moleculaire systematiek in dat opzicht maar zeer beperkt tot veranderingen heeft geleid. Er is dus geen reden om te vrezen dat slechts met een DNA-kit een paddestoel te determineren zou zijn!

Er is overigens geen reden om *a priori* moleculaire kenmerken belangrijker te vinden dan morfologische of microscopische. Classificaties gebaseerd op elk type kenmerken kunnen tot verrassende ontdekkingen leiden maar kunnen er ook naast zitten. Garantie geeft geen enkele taxonomische methode. Macromorfologen zaten er naast bij *Collybia* (een geslacht waarvan de omschrijving sinds begin negentiende eeuw nauwelijks veranderd was), mycologen met een microscoop bij de positie van *Panaeolus* en *Hebeloma*, en moleculair taxonomen zitten er vermoedelijk naast met *Rickenella* (en bij *Coprinus comatus*, naar sommigen hopen – al lijkt me dat weinig waarschijnlijk). Als moleculaire methoden beter zijn, komt dat uitsluitend doordat meer kenmerken bekeken worden en doordat alternatieve classificaties vergeleken en getoetst kunnen worden.

Bovendien moeten we niet vergeten dat moleculaire methoden soms ook bevestigen wat eerdere taxonomen al vermoed hadden. We letten natuurlijk vooral op de veranderingen die door nieuwe methoden ontstaan, maar we doen er fout aan te denken dat het systeem dus radicaal omgegooid wordt. Dat geldt in zekere zin zelfs voor de gasteromyceten. Het was al lang duidelijk dat de gasteromyceten geen natuurlijke groep vormden, maar zo lang nog niet duidelijk was tot welke verwantschapsgroepen de verschillende gasteromyceten behoorden, leek het velen beter een groep, waarin niemand meer geloofde, om conventionele redenen te handhaven, dan om radicaal nieuwe systemen die niet goed toetsbaar waren, te introduceren. De moleculaire systematiek heeft dus niet de twijfel omtrent de gasteromyceten opgeroepen, maar juist aan de twijfels wat dan wel een betere indeling zou zijn, voorlopig een einde gemaakt. Daarnaast moeten we ook erkennen dat oude kenmerken door de nieuwe methoden geherwaardeerd zijn en dat daardoor de taxonomische betekenis van ecologische kenmerken groter is geworden. Wie had er gedacht, dat de eigenschap van sommige plaatjeszwammen om aaltjes te vangen of het unieke type bruinrot van boleetachtigen nu van taxonomisch grote betekenis zou worden beschouwd?

Tenslotte volgen hier de antwoorden op de in het begin van dit artikel gestelde vragen:

Vraag 1: Antwoord a.

Vraag 2: Antwoord a.

Vraag 3: Antwoord b.

Vraag 4: Antwoord d.

Vraag 5: Antwoord d.

Vraag 6: Antwoord d.

Vraag 7: Antwoord d is het meest goed, maar geen van de andere antwoorden is fout. Op het ogenblik is *C. comatus* (Geschubde inktzwam) de typesoort van het geslacht *Coprinus*. *Coprinus comatus* is nauwelijks met de andere inktzwammen verwant, maar wel met de Agaricaceae. De nomenclatuurcommissie moet zich nu uitspreken of het gewenst is de naam *Coprinus* te blijven gebruiken voor het kleine aantal soorten rond *C. comatus* (zo'n 5 soorten) of voor de overgrote meerderheid van de soorten (zo'n 500), en dan hoort de Geschubde inktzwam in het geslacht *Annularius* thuis. De naam *Agaricus comatus* werd in 1821 voor de soort gebruikt, maar gezien de nauwe verwantschap tussen de Geschubde inktzwam en de Champignons is het niet uitgesloten dat dat in de toekomst weer opnieuw gaat gebeuren.

Vraag 8: Antwoord d is het meest goed, maar geen van de andere antwoorden is fout. De positie van *Rickenella* is een probleem. De morfologische kenmerken wijzen op een nauwe verwantschap met *Mycena* en vooral *Hemimycena*, maar op grond van de moleculaire kenmerken komt de soort in de Russulaceae terecht. Aangezien mycologen zich niet kunnen voorstellen dat die indeling overleefd zal blijven als meer soorten of meer moleculen onderzocht zijn, is het goed mogelijk dat het probleem wordt "opgelost" door voor *Rickenella* maar een eigen familie te maken (zoals voor soorten die een beetje uitzonderlijk zijn binnen een genus al snel een nieuw geslacht gemaakt wordt).

Literatuur

- Aanen, D.K., T.W. Kuyper, T. Boekhout & R.F. Hoekstra 2000. Phylogenetic relationships in the genus *Hebeloma* based on ITS 1 and 2 sequences, with special emphasis on the *Hebeloma crustuliniforme* complex. *Mycologia* 92: 269-282.
- Antonín, V. & M.E. Noordeloos 1997. A monograph of *Marasmius*, *Collybia* and related genera in Europe. Part 2: *Collybia*, *Gymnopus*, *Rhodocollybia*, *Crinipellis*, *Chaetocalathus*, and additions to *Marasmiellus*. *Libri botanici* 17: 1-256.
- Bas, C. 1988. Tricholomataceae. *Flora agaricina neerlandica* 2: 65-70.
- Bresinsky, A., M. Jaros, M. Fischer, I. Schönberger & B. Wittmann-Bresinsky 1999. Phylogenetic relationships within *Paxillus* s.l. (Basidiomycetes, Boletales): separation of a southern hemisphere genus. *Plant Biol.* 1: 327-333.
- Bruns, T.D., T.M. Szaro, M. Gardes, K.W. Cullings, J.J. Pan, D.L. Taylor, T.R. Horton, A. Kretzer, M. Garbelotto & Y. Li 1998. A sequence database for the identification of ectomycorrhizal basidiomycetes by phylogenetic analysis. *Molec. Ecol.* 7: 257-272.
- Corner, E.J.H. 1966. A monograph of cantharelloid fungi. *Ann. Bot. Mem.* 2.
- Grubisha, L.C., J.M. Trappe, R. Molina & J.W. Spatafora 2001. Biology of the ectomycorrhizal fungus *Rhizopogon* V. Phylogenetic relationships in the Boletales inferred from LSU rDNA sequences. *Mycologia* 93: 82-89.
- Hibbett, D.S., L.-B. Gilbert & M.J. Donoghue 2000. Evolutionary instability of ectomycorrhizal symbioses in basidiomycetes. *Nature* 407: 506-508.

- Hibbett, D.S., E.M. Pine, E. Langer, G. Langer & M.J. Donoghue 1997. Evolution of gilled mushrooms and puffballs inferred from ribosomal DNA sequences. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 94: 12002-12006.
- Hibbett, D.S. & R.G. Thorn 2001. Basidiomycota: Homobasidiomycetes. In: *The Mycota VII, part B (Systematics and evolution)*, p. 121-168.
- Hibbett, D.S. & R. Vilgalys 1993. Phylogenetic relationships of *Lentinus* (Basidiomycotina) inferred from molecular and morphological characters. *Syst. Bot.* 18: 409-433.
- Hopple, J.S. & R. Vilgalys 1999. Phylogenetic relationships in the mushroom genus *Coprinus* and dark-spored allies based on sequence data from the nuclear gene coding for the large ribosomal subunit RNA: divergent domains, outgroups and monophyly. *Mol. Phyl. Evol.* 13: 1-19.
- Jarosch, M. & H. Besl 201. *Leucogyrophana*, a polyphyletic genus of the order Boletales (Basidiomycetes). *Plant Biol.* 3: 443-448.
- Jin, J., K.W. Hughes & R.H. Petersen 2001. Phylogenetic relationships of *Panellus* (Agaricales) and related species based on morphology and ribosomal large subunit DNA sequences. *Mycotaxon* 79: 7-21.
- Johnson, J. 1999. Phylogenetic relationships within *Lepiota* sensu lato based on morphological and molecular data. *Mycologia* 91: 43-458.
- Johnson, J. & R. Vilgalys 1998. Phylogenetic systematics of *Lepiota* sensu lato based on nuclear large subunit rDNA evidence. *Mycologia* 90: 971-979.
- Jülich, W. 1982. Higher taxa of Basidiomycetes. *Bibl. Mycol.* 85. J. Cramer, Vaduz.
- Kirk, P.M., Cannon, P.F., David, J.C., Stalpers, J.A. 2001. *Dictionary of the fungi*, 9th edition. CABI Publishing, Wallingford.
- Kretzer, A., Y. Li, T. Szaro & T.D. Bruns 1996. Internal transcribed spacer sequences from 38 recognized species of *Suillus* sensu lato: phylogenetic and taxonomic implications. *Mycologia* 8: 776-785.
- Kühner, R. 1980. Les Hyménomycètes agaricoides. *Bull. Mens. Soc. Linn. Lyon* 49 (no spéc.): 1-1027.
- Kuyper, Th.W. 1995. *Clitocybe*. *Flora agaricina neerlandica* 3: 42-62.
- Lutzoni, F.M. 1997. Phylogeny of lichen- and non-lichen-forming omphalinoid mushrooms and the utility for testing for combinability among multiple data sets. *Syst. Biol.* 46: 373-406.
- Lutzoni, F.M. & R. Vilgalys 1995. Integration of morphological and molecular data sets in estimating fungal phylogenies. *Can. J. Bot.* 73 (Suppl.): S649-S659.
- Miller, S.L., T.M. McClean, J.F. Walker & B. Buyck 2001. A molecular phylogeny of the Russulales including agaricoid, gasteroid and pleurotoid taxa. *Mycologia* 93: 344-354.
- Moncalvo, J.M., F.M. Lutzoni, S.A. Rehner, J. Johnson & R. Vilgalys 2000. Phylogenetic relationships of agaricoid fungi based on nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. *Syst. Biol.* 49: 278-305.
- Noordeloos, M.E. 2000. Hoe vaak ik thuis in de Boleten 2. Van Koeienboleet tot Krulzoom. *Coolia* 43: 75-98.
- Noordeloos, M.E. & Th.W. Kuyper 1995. *Lepista*. *Flora agaricina neerlandica* 3: 67-75.
- Pegler, D.N. 1983. The genus *Lentinus*: a world monograph. *Kew Bull. Add. Ser.* 10: 1-281.
- Singer, R. 1986. *The Agaricales in modern taxonomy*, 4th edition. Koeltz Verlag.
- Thorn, R.G., J.M. Moncalvo, C.A. Reddy & R. Vilgalys 2000. Phylogenetic analyses and the distribution of nematophagy support a monophyletic Pleurotaceae within the polyphyletic pleurotoid-lentinoid fungi. *Mycologia* 92: 241-252.
- Vellinga, E.C. 2001. Agaricaceae. *Flora agaricina neerlandica* 5: 21-22.