



ECTOMYCORRHIZAPADDENSTOELEN EN DE EVOLUTIE VAN HUN GASTHEERSPECIFICITEIT

Jorinde Nuytinck

Naturalis Biodiversity Center, Postbus 9517, 2300 RA Leiden

jorinde.nuytinck@naturalis.nl

Nuytinck, J. 2019. Evolution of host specificity in ectomycorrhizal fungi. *Coolia* 62(2): 97–101.

This paper briefly reviews recent progress in the study of the evolution of host specificity in ectomycorrhizal fungi. Trees have obviously been an important factor in the geographical spreading of ectomycorrhizal fungi, and in several cases the genetic population structure of tree species is reflected in that of the associated fungi. On the other hand, in fungi with a broad host range, not all individuals may be able to colonize all possible hosts of the species. On a molecular scale, fungi are able to colonize their host by silencing the latter's defence mechanism against invaders, by secretion of highly specific small messenger molecules.

Een boeiend en terugkerend thema op mycologenbijeenkomsten is de gastheerspecificiteit van ectomycorrhizapaddenstoelen. Gastheerrelaties zijn belangrijke informatie om tot betere determinaties te komen en hoe meer mycologen aandachtig deze relaties documenteren, hoe beter we de ecologie van ectomycorrhizapaddenstoelen begrijpen. Maar er is meer. Je hebt je misschien ook wel eens afgevraagd hoe een paddenstoel zijn gastheer precies herkent en waarom een plant toelaat dat er hyfen in zijn wortels groeien. Of waarom sommige paddenstoelen zeer gastheerspecifiek zijn, terwijl andere juist een brede gastheer-range hebben en welke gevolgen dat heeft. Recent wetenschappelijk onderzoek licht een tip van de sluier op en hieronder volgt een poging om een en ander te verduidelijken.

Ongeveer 20.000 à 25.000 soorten fungi vormen ectomycorrhiza met 6000–8000 soorten voornamelijk houtige planten. Eigenlijk is dat maar een klein percentage van het totaal aantal fungi en planten op aarde, respectievelijk 0.5–0.7% en ca. 2%, maar toch is de ectomycorrhizasymbiose van groot belang omdat de gastheerplanten de vegetatie en het landschap bepalen in grote delen van de wereld. Ze zijn ecologisch en economisch heel belangrijk, denk bijv. aan Pinaceae, Fagaceae en Betulaceae maar ook aan Nothofagaceae, Leptospermoideae (in de Myrtaceae met o.a. *Eucalyptus*), Dipterocarpaceae ('plankwortelbomen') en Caesalpinaceae in de zuidelijke hemisfeer. Ze domineren in mediterrane, gematigde, boreale tot arctische vegetaties in de hele noordelijke hemisfeer, maar zijn ook belangrijk in regenwouden, in drogere vegetaties in Afrika zoals de miombo, in India en zuidoost Azië met bijv. veel Dipterocarpaceae tot in Australië en in Zuid-Amerika.

De ectomycorrhiza-levenswijze is vele keren onafhankelijk ontstaan in de evolutie van de fungi. Een recente studie gebaseerd op moleculaire fylogenie spreekt van minstens 80 keer (Tedersoo & Smith, 2013) en het zou gaan om minstens 250 genera. Er is nog veel veldwerk en morfologisch werk nodig om dit te bevestigen en naast Basidiomyceten en Ascomyceten zijn er ook enkele ectomycorrhizavormers onder de vroegere Zygomyceten, een groep die ondertussen opgesplitst is. *Endogone* is zo'n voorbeeld, met *Endogone lactiflua*, de melkende wiertruffel, als zeer zeldzame vertegenwoordiger in Nederland.



We weten niet precies hoe oud de ectomycorrhizasymbiose is omdat fossielen van fungi extreem zeldzaam zijn. Alleszins zijn ectomycorrhiza veel jonger dan arbusculaire of endomycorrhiza. De oudste fossielen van ectomycorrhiza-worteltjes dateren van ca. 50 miljoen jaar geleden (LePage et al., 1997): wellicht een boleet uit een geslacht verwant aan de moderne geslachten *Suillus* of *Xerocomus* op *Pinus*-worteltjes. Je kunt afbeeldingen vinden op www.allesoverpaddenstoelen.nl. De oudste plantenfossielen van de Pinaceae dateren van ongeveer 150 miljoen jaar geleden en die familie is de oudste van alle huidige gastheren. Daarom en mede op basis van moleculair-fylogenetische aanwijzingen denkt men dat ectomycorrhiza 100 à 200 miljoen jaar geleden ontstonden. Men denkt dat de snelle diversificatie van de bloemplanten en het ontstaan van de ectomycorrhiza-symbiose samengingen. Fungi hebben planten geholpen om gematigde en boreale streken te veroveren. De eerste ectomycorrhiza-symbioses met bloemplanten zouden in de paleotropen ontstaan zijn en grote groepen basidiomycota zoals Boletaceae, Russulaceae, Cortinariaceae en Amanitaceae zouden geëvolueerd en gediversifieerd zijn terwijl ook hun gastheren diversifieerden, terwijl in het tertiair gematigde bossen ontstonden in een droger en koeler klimaat.

Een antwoord op de vraag hoe gastheren een rol spelen bij de evolutie en soortvorming van ectomycorrhizapaddenstoelen kan op verschillende niveau's gezocht worden. Van de allerkleinste moleculaire schaal (hoe herkennen een plant en een paddenstoel elkaar en wat gebeurt er precies bij de vorming van worteltjes?), over populatieniveau (wat is de invloed van de gastheer op het voorkomen van een soort?) tot hogere taxonomische niveau's (waarbij er duidelijk verschillende patronen in gastheerspecificiteit zijn tussen genera, wat leidt tot vragen over soortvorming en wereldwijde biogeografische verspreiding van taxa).

De allerkleinste moleculaire schaal

De twee opvallendste morfologische structuren die je kunt waarnemen in ectomycorrhiza-worteltjes zijn de mantel, die als een sok rond de fijne wortels zit, en het Hartig net – zo genoemd naar de ontdekker ervan – dat zich tussen de epidermis en cortexcellen van de wortel bevindt (figuur 2). De hyfen dringen bij ectomycorrhiza nooit binnen in de plantencellen, maar groeien in de ruimte tussen de cellen. Voordat deze structuren gevormd worden, en zelfs voordat er fysiek contact is tussen beide symbionten, vindt er al interactie plaats tussen hyfen en plantenwortel. Hyfen scheiden hormonen en andere vluchtige stoffen af in de bodem die er o.a. voor zorgen dat er meer korte worteltjes gevormd worden, zodat het kolonisatieop-

pervlak zich vergroot. Planten produceren terzelfdertijd ook stoffen die bijv. de groei van hyfen beïnvloeden. Via het wortelmutsje dringen hyfen de wortel binnen. Ze groeien tussen de epidermiscellen en gaan eerst de mantel vormen. Als de binnenste lagen van de mantel goed gevormd



Figuur 1. *Laccaria bicolor*, Tweekleurige fopzwam, een van de soorten die in cultuur gebracht kunnen worden voor de studie naar ectomycorrhiza. (Foto: Nico Dam)



Figuur 2. *Lactarius deliciosus* + *Pinus nigra*-ectomycorrhiza, A. worteltipje, B. dwarse doorsnede door het worteltipje met duidelijk zichtbare mantel aan de buitenzijde en Hartig net tussen de cortex-cellen. (Foto's: Jorinde Nuytinck)

zijn, ontwikkelen zich daar hyfen die het Hartig net vormen. Ter hoogte van het Hartig net is er een grote oppervlakte van intens contact tussen plant en zwam waar intensieve uitwisseling van nutriënten plaatsvindt.

Recent is het mogelijk geworden het hele genoom van organismen te ontcijferen. Handig voor de studie van ectomycorrhiza zijn soorten die in cultuur gebracht kunnen worden, o.a. Tweekleurige fopzwam (*Laccaria bicolor*) + zaailingen van populier, Smalsporige vaalhoed (*Hebeloma cylindrosporum*) + zaailingen van den, en Zwarte truffel (*Tuber melanosporum*) + zaailingen van hazelaar. Aan de hand van de genomen van deze fungi heeft men het intrigerende vraagstuk kunnen oplossen hoe precies beide partners elkaar herkennen als nuttige partners.

Planten bezitten een uitgebreid mechanisme om indringers en parasieten te lijf te gaan. Ze doen dat onder andere door gebruik te maken van plantenhormonen. Jasmonaten, waaronder jasmijnzuur, zijn plantenhormonen die een hele reeks verdedigingsmechanismen van de plant in actie kunnen stellen.

Ectomycorrhizaschimmels moeten in hun gastheer die plantenhormonen kunnen omzeilen en hebben daar een ingenieus mechanisme voor ontwikkeld dat nu ontrafeld wordt (Martin et al. 2016). Als hyfen van een Tweekleurige fopzwam tussen de wortelcellen van een populier beginnen te groeien, dan maken ze een specifiek, klein eiwit aan dat migreert tot in de kern van de plantencellen. Het kleine eiwit bindt op een plaats in de plantenkern die de jasmonaatgenen in ruststand houdt. De hele verdedigingsreactie komt dus nooit op gang want de Tweekleurige fopzwam en populier zijn zo samen geëvolueerd dat ze elkaar herkennen als nuttige partners. Nu wordt er niet één klein eiwit maar wel duizenden eiwitten specifiek bij de vorming van ectomycorrhiza aangemaakt. Verdere opheldering van dit mechanisme zal helpen verklaren hoe gastheerspecificiteit werkt. Men noemt die kleine eiwitten 'effectoren' en meer specifiek 'mycorrhiza-induced small secreted proteins'.

Een verrassend resultaat is dat er bij vergelijking van het herkenningsmechanisme van Tweekleurige fopzwam met dat van Smalsporige vaalhoed of Zwarte truffel bijna geen



Figuur 3. *Paxillus involutus*, Gewone krulzoom: het lijkt erop dat individuen van deze paddenstoel niet altijd met dezelfde boomsoorten een symbiose aangaan, maar ook een andere of bredere voorkeur kunnen hebben. (Foto: Anneke van der Putte)

en nutriënt-transporters onafhankelijk ontwikkeld, wat nog eens de convergente evolutie van de ectomycorrhizasymbiose bevestigt.

Populaties van een soort

We denken aan gastheerspecificiteit als een eigenschap die vastligt voor een soort. *Lactarius deterrimus* zal altijd bij sparren groeien, *Lactarius deliciosus* bij dennen, *Lactarius hepaticus* kan met meerdere naaldbomen samengroeien en *Lactarius tabidus* groeit vaak bij beuken, maar kan ook bij eiken of bij sparren groeien. We veronderstellen dat alle individuen van de Rimpelende melkzwam met al die bomen een symbiose kunnen vormen. *Paxillus involutus*, de Gewone Krulzoom, heeft ook een brede gastheer-range, en ook daar veronderstellen we dat alle Gewone krulzomen met bijv. berken en sparren kunnen groeien. Kweekexperimenten bewijzen echter het tegendeel. Sommige Gewone krulzomen kunnen niet met spar noch met berk een symbiose aangaan, maar wel met andere boomsoorten in natuurlijke omstandigheden. Dat geldt ook voor de recenter beschreven *Paxillus validus* (Grote krulzoom) en *Paxillus obscurusporus* (Donkersporige krulzoom), zo hebben experimenten uitgewezen. Binnen deze soorten lijkt er dus natuurlijke variatie te bestaan in de gastheerspecificiteit, waarbij sommige individuen bredere en andere specifiekere voorkeuren hebben. Het is niet duidelijk in welke richting deze evolutie gaat, van breed naar nauw of omgekeerd of beide, maar de hypothese is wel dat deze switch snel kan gebeuren. En omdat individuen getest werden die op dezelfde locatie groeiden is het niet de ecologie van de standplaats die selecteert (Hedh et al. 2009).

Meerdere mycologen hebben gesuggereerd dat klimaatveranderingen zoals de ijstijden van de afgelopen 2,5 miljoen jaar en bijhorende veranderende vegetaties de vorming van ectomycorrhizasoorten sterk hebben beïnvloed. Klimaatveranderingen veroorzaakten het herhaaldelijk terugtrekken van vegetaties naar refugia (gebieden waar een bepaalde vegetatiesoort kon overleven) in o.a. Zuid-Europa en vervolgens weer expansie van daaruit. Als je verschillende genera vergelijkt zie je echter verschillende patronen optreden. Voor melkzwammen bijv. is de hypothese dat gastheerswitches soortvorming bevorderen. Maar als je *Hebeloma* beschouwt, is er relatief weinig diversiteit in gastheren, maar toch een grote soortenrijkdom. Soortvorming lijkt hier onder invloed van andere krachten te zijn opgetreden, met behoud van de symbiose met Salicaceae. Eén van de eerste studies die het effect van ijstijden en migratie van gastheren op de ectomycorrhiza-partner bekeek, ging over de Zwarte truffel (Murat et al. 2004). *Tuber melanosporum* komt voor in Zuid-Europa op





kalkrijke grond en vormt ectomycorrhiza met voornamelijk eik en hazelaar. Minstens vijf verschillende factoren beïnvloeden het voorkomen van Zwarte truffel: het voorkomen van de gastheren, de verspreiding van de sporen door mycofage dieren, bodemgesteldheid en klimaat, geografische barrières (bijv. de Middellandse Zee limiteert verspreiding naar Noord-Afrika) en historische gebeurtenissen, zoals de ijstijden.

Er blijken in Frankrijk twee duidelijk genetisch verschillende populaties van Zwarte truffel voor te komen: één in westelijk Frankrijk en de andere in de Rhônevallei en noordelijker tot in de Lorraine. Daaruit blijkt dat een geografische barrière als het Centraal massief een belangrijke invloed heeft op de uitwisseling van genetische informatie tussen truffelpopulaties. Bovendien komt de tweedeling in een westelijke en oostelijke Zwarte truffel-populatie helemaal overeen met de populatiestructuur bij eiken, lindes en hazelaars zoals afgeleid uit hun DNA, maar ook uit fossiele pollen. De hypothese is dat eiken de migratie van *Tuber melanosporum* uit het Italiaanse refugium sterk beïnvloed hebben.

Hoger taxonomisch niveau

Als we niet naar populaties maar naar soorten, genera en hogere taxa kijken, kunnen we ons afvragen of de overgang van saprotroof naar ectomycorrhiza-vormer leidt tot de vorming van meer soorten of tot een periode van snelle soortvorming. Dat past in de theorie dat een grote verandering, zoals deze verandering in levensstijl, toegang geeft tot nieuwe niches wat evolutie kan versnellen. Een recente studie (Sanchez-Garcia & Matheny, 2016) bestudeert dit in een suborde van de Agaricales, de Tricholomatinæ, een groep met ongeveer 30 genera. In twee groepen werd het voorkomen van een duidelijk snellere soortvorming bij overgang van saprotrofe levensstijl naar ectomycorrhizavormer waargenomen: bij de Ridderzwammen (*Tricholoma*) en in de Bossatijnzwammen (*Rhodopodium*-groep in *Entoloma*). Voor *Tricholoma* wordt gedacht dat hun succesvolle historische expansie te wijten is aan de dominantie van de belangrijkste gastheren, maar tegelijkertijd ook aan de mogelijkheid om met verschillende gastheren ectomycorrhiza te vormen. Dit patroon geldt echter niet voor alle ectomycorrhizavormers in de Tricholomatinæ. Ondanks deze nieuwe inzichten valt er dus nog veel te ontdekken over de evolutie van ectomycorrhizapaddenstoelen en hun gastheren.

Literatuur

- Hedh, J., Johansson, T. & Tunlid, A. 2009. Variation in host specificity and gene content in strains from genetically isolated lineages of the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus*. *Mycorrhiza* 19: 549–558.
- LePage, B.A., Currah, R.S., Stockey, R.A. & Rothwell, G.W. 1997. Fossil Ectomycorrhizae from the Middle Eocene. *American Journal of Botany* 84: 410–412.
- Martin, F., Kohler, A., Murat, C., Veneault-Fourrey, C. & Hibbett, D.S. 2016. Unearthing the roots of ectomycorrhizal symbioses. *Nature Microbiology Reviews* 14: 760–773.
- Murat, C., Díez, J., Luis, P., Delaruelle, C., Dupré, C., Chevalier, G., Bonfante, P. and Martin, F. 2004. Polymorphism at the ribosomal DNA ITS and its relation to postglacial re-colonization routes of the Perigord truffle *Tuber melanosporum*. *New Phytologist* 164: 401–411.
- Sanchez-Garcia, M. & Matheny, P.B. 2016. Is the switch to an ectomycorrhizal state an evolutionary key innovation in mushroom-forming fungi? A case study in the Tricholomatineae (Agaricales). *Evolution* 71: 51–65.
- Tedersoo, L. & Smith, M.E. 2013. Lineages of ectomycorrhizal fungi revisited: Foraging strategies and novel lineages revealed by sequences from belowground. *Fungal Biology Reviews* 27: 83–99.

