

Zeitschrift: Mycologia Helvetica

Band: 8 (1996)

Heft: 2

Artikel: Wie vermögen molekulare Daten die Klassifikation von Crepidotus-Arten zu verändern?

Autor: Senn-Irlet, Béatrice / Hofstetter, Valérie

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-1036438>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 07.10.2024

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Wie vermögen molekulare Daten die Klassifikation von *Crepidotus*-Arten zu verändern?

Béatrice Senn-Irlet & Valérie Hofstetter

Institut de Botanique Systématique et de Géobotanique, Université de Lausanne,
Bâtiment de Biologie, CH-1015 Lausanne-Dorigny

In den letzten 10 Jahren wurde es möglich, mit Hilfe von Entdeckungen und technischen Revolutionen auf dem Gebiet der Molekularbiologie eine gänzlich neue Ebene von Merkmalkombinationen zu erforschen, deren Einfluss auf die Systematik noch nicht in vollem Umfange abgeschätzt werden kann. Jedoch steht ausser Zweifel, dass diese neuen Techniken der Taxonomie als Ganzes einen mächtigen Innovationsschub bringen und der taxonomischen Forschung auf verschiedensten Ebenen neuen Auftrieb geben werden. Neu ist insbesondere, dass Organismen miteinander verglichen werden können, die morphologisch kaum ähnlich sind, etwa indem man Merkmale der hochkonservierten ribosomalen Gene vergleicht. Merkmalarmer Organismengruppen erhalten plötzlich die notwendige Merkmalfülle, wird die von statistischen Klassifikationsmethoden verlangt.

Und sofort stellt sich die Frage, inwieweit eine molekulare Taxonomie die gängigen Vorstellungen bestätigen oder über den Haufen werfen wird.

Neueste Untersuchungen zeigen immerhin, dass der bisherige Kenntnis- und Interpretationsstand über Verteilung und Evolution von hauptsächlich morphologischen Merkmalen im Vergleich mit molekularen Merkmalen weitgehend Bestätigung findet.

Der eigentliche Vorteil molekularer Merkmale in der Mykologie dürfte jedoch möglicherweise weniger in der Taxonomie zu finden sein als vielmehr auf dem Gebiet der Evolutions- und Populationsbiologie. Populationsstrukturen, Merkmalevolution und Artbildungsprozesse konnten bisher für Höhere Pilze kaum studiert werden.

Fallbeispiel *Crepidotus* (Fr.) Staude (Agaricales, Basidiomycetes)

Durch eingehende eigene Untersuchungen (Senn-Irlet 1994 a, 1994 b, 1994 c, 1995, Senn-Irlet & Scheidegger 1994) konnte für diese eher merkmalarmer Gattung eines braunsporigen Lamellenpilzes eine annähernd ausreichende Merkmalfülle gefunden werden, welche sowohl eine phänetische wie auch eine phylogenetische Analyse erlaubt. Als sehr hilfreich erwiesen sich dabei

neben den mikromorphologischen Merkmalen insbesondere Ultrastrukturmerkmale der Sporenoberfläche sowie Beobachtungen am Mycel in isolierten Reinkulturen.

Die **phänetische Analyse** (vgl. Senn-Irlet 1995; Pfeile auf der linken Seite in Fig. 1) zeigt in einer Hauptkomponentenanalyse für die 20 europäischen Taxa klar drei Gruppen, die sich im Clusterdiagramm in zwei Untergattungen mit zwei Sektionen aufteilen: Subgenus *Crepidotus* (Typus: *Crepidotus mollis*) und Subgenus *Dochmiopus* (Typus: *C. variabilis*). Subgenus *Dochmiopus* präsentiert sich ziemlich vielgestaltig und muss sinnvollerweise weiter aufgeteilt werden in Sektionen und Untersektionen.

Eine **phylogenetische Rekonstruktion** (vgl. Fig. 1) präsentiert ein von der phänetischen Analyse etwas abweichendes Resultat. Zwar wird die Unterteilung in zwei Gruppen entsprechend den zwei Untergattungen in der Nomenklatur der Phylogenetik Schwestergruppen genannt – unterstützt,

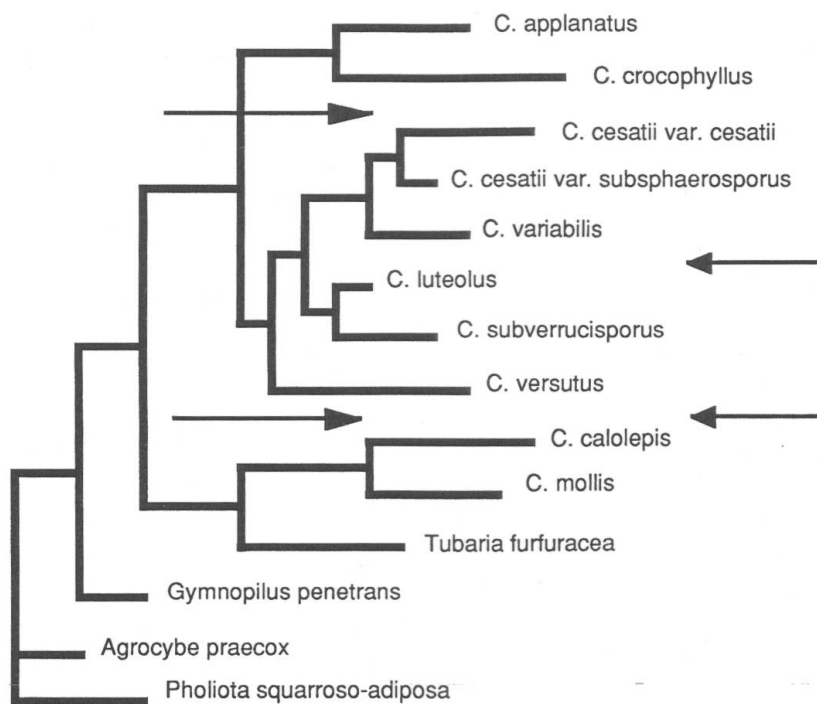


Fig. 1. Phylogenetische Rekonstruktion aufgrund von 31 morphologischen Merkmalen der Fruchtkörper und des Mycels in Reinkultur. Gezeigt ist einer von 61 gleichwertigen Bäumen mit 72 Schritten und einem Konsistenzindex von 0.473. Die Pfeile markieren die Unterteilung in Grossgruppen innerhalb der Gattung *Crepidotus*, nach rechts weisende Pfeile verdeutlichen die Aufspaltung in zwei Schwestergruppen aufgrund der hier gezeigten phylogenetischen Analyse, nach links weisende Pfeile zeigen die Unterteilung wie sie aus phänetischen Analysen resultiert. Man beachte, dass die Untergattung *Dochmiopus* (*C. applanatus* bis *C. versutus*) monophyletisch ist, die ganze Gattung jedoch nicht.

jedoch spaltet sich in der Untergattung *Dochmiopus* vor allem die Artengruppe *Crepidotus applanatus* – *C. crocophyllus* ab (morphologisch gemeinsames Merkmal ist die baculate Sporenornamentation im REM-Bild) deutlich ab.

Molekulare Untersuchungen – im vorliegenden Fall wurden Teile der 25S Untereinheit der ribosomalen DNA sequenziert – ergeben Resultate, deren Auswertung mit phylogenetischen Methoden ein abweichendes Bild ergibt (Fig. 2 und 3). In der Detailanalyse (Fig. 2) zeigt sich, dass im untersuchten Genabschnitt *Crepidotus crocophyllus* sich mit 34 abweichenden Basenpaaren am deutlichsten von den anderen *Crepidotus*-Arten unterscheidet. Die nah verwandten Arten wie *Crepidotus mollis* und *C. calolepis*, unterscheiden sich nur geringfügig und stehen in dieser Analyse *C. variabilis* sehr nahe. Die infraspezifisch als Varietäten abgetrennten *C. cesatii* var. *cesatii* und var. *subsphaerosporus* unterscheiden sich nur wenig und bilden eine Gruppe für sich, welche *C. variabilis* als Schwestergruppe hat.

Die Sequenzen wurden für diese Analyse mit BendScanner SQ eingelesen, mit den Programmen AssemblyLine und MacVector 5.0 aligniert. Für die phylogenetische Analyse wurde PAUP 3.1 verwendet.

Wie wahr, beziehungsweise wie aussagekräftig sind nun diese Rekonstruktionsversuche in Bezug auf die Stammesgeschichte in dieser Gattung? Ein etwas kritischerer Blick auch auf die Statistik zeigt uns folgendes:

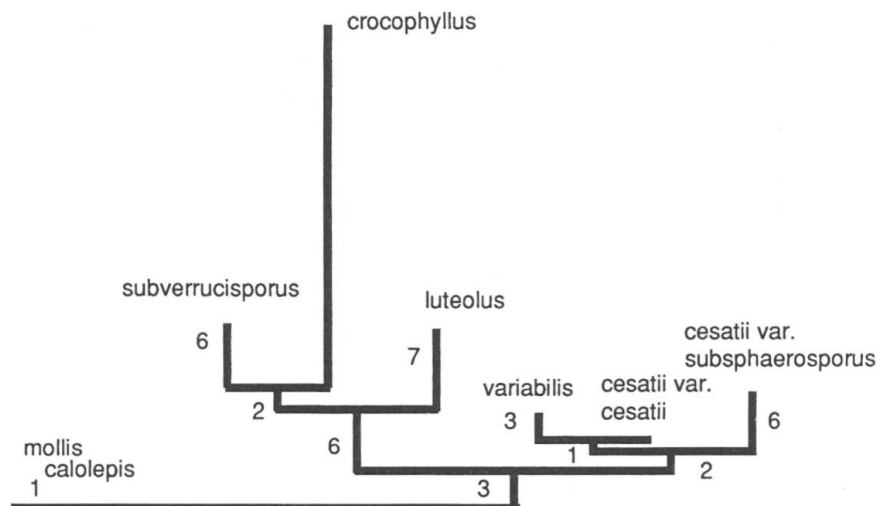


Fig. 2. Rekonstruierter «Genbaum» von 9 *Crepidotus*-Kollektionen mit *Micromphale performans* als Aussengruppe, basierend auf 300 Basen der 25 S ribosomalen DNA. Dargestellt ist der einzige resultierende Baum diverser Analysen unter Angabe der genetischen Diversität (Konsistenzindex = 0.72). *Crepidotus crocophyllus* zeigt am meisten Abweichungen.

Das Resultat, d.h. die Topologie des Baumes – sie wird vorsichtig als Rekonstruktionsvorschlag bezeichnet – ist klar abhängig bereits von der Lesqualität der Gels bzw. der daraus resultierenden Photoplatten, und der verwendeten mathematischen Modelle für das sogenannte Alignment, das Homologisieren der Basensequenzen diverser Arten, und von den Algorithmen der Phylogenetikprogramme. Und selbst das in der Systematik weit verbreitete Programm PAUP zeigt uns – abhängig von den Daten und den gewählten mathematischen Modellen natürlich – verschiedene Lösungen. Den gemeinsamen kleinsten Nenner verschiedener Lösungen können wir im «consensus tree» veranschaulichen (vgl. Fig. 3 mit einem leicht andern Datensatz)

Kritische Bemerkungen zu Schwierigkeiten bei stammesgeschichtlichen Rekonstruktionen, basierend auf molekularen Daten

- **Wahl der Gene:** Pilz-DNA wird auf 3×10^7 Basenpaare geschätzt. Zuviel um auf dieser Ebene analysiert werden zu können! Aus der enormen Fülle an Genen muss eine Wahl getroffen werden, die wiederum subjektiven Kriterien unterworfen ist.

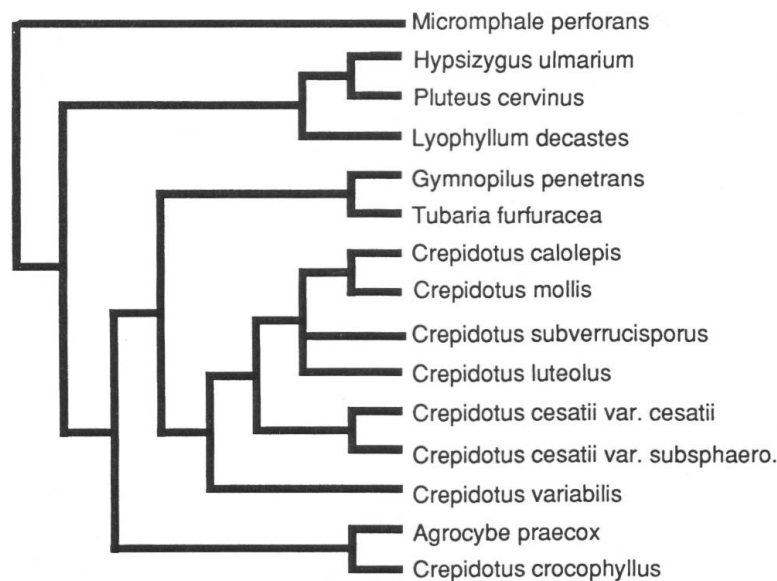


Fig. 3. Phylogenetischer Rekonstruktionsvorschlag ausgewählter Agaricales, dargestellt als Dendrogramm. Gezeigt ist ein sogenannter «strict consensus tree», eine Darstellung mit Ästen, welche von jeder gleichwertigen Rekonstruktion unterstützt werden. Verwendung fanden hier 163 Merkmale (=Basen) der 25 S ribosomalen DNA; die «branch and bound»-Methode brauchte minimal 373 Schritte, um diesen «Genbaum» mit einem Konsistenzindex von 0.592 aufzubauen. Mit Ausnahme von *Crepidotus crocophyllus* werden nun die *Crepidotus*-Arten eine monophyletische Gruppe, worin die Untergattung *Crepidotus* gänzlich eingebunden ist.

Allgemein gelten die für Ribosomen codierenden Gene als sehr konserviert («mutationsresistent») und deshalb für phylogenetische Analysen gut geeignet. Sie erlauben mit einigen Einschränkungen im weiteren einen Vergleich zwischen sehr unterschiedlichen Gattungen, Familien und selbst Reichen.

- **Technische Schwierigkeiten:** Auch mit Unterstützung eines ganzen Industriezweiges und mit einer rasanten technologischen Entwicklung auf dem Gebiet der Molekularbiologie sind die Techniken noch nicht in jedem Fall so ausgereift, dass sie problemlos von Nicht-Molekularbiologen angewendet werden können. Öfters treten mit dem zu untersuchenden Material – und offensichtlich speziell mit Pilzen! – spezifische Probleme auf. Herbarmaterial ergab erst in wenigen Fällen befriedigende Resultate, auch wenn erste Publikationen (Bruns et al., 1990; Lee & Taylor, 1990) von Erfolgen berichten. Meist ist man auf Frischmaterial oder gut lyophilisiertes Material angewiesen.
- **Kosten:** Pro Basenpaar ist mit Kosten von gegenwärtig ungefähr 50 Rappen zu rechnen (vgl. Neue Zürcher Zeitung September 1995).
- **Mathematische Modelle zur Rekonstruktion.** Es stellt sich rasch die Frage, mit welcher statistischen Sicherheit die Stammesgeschichte rekonstruiert werden kann. Für einen sinnvollen Vergleich einer grösseren Anzahl von Gensequenzen, welche auch auf unterschiedliche Substitutionsraten (vgl. Tabelle 1) Rücksicht nehmen können, fehlen nämlich

Tabelle 1: Vergleich von Nukleoidsequenzen von 9 *Crepidotus*-Kollektionen (vgl. Fig. 2) in Bezug auf Anzahl übereinstimmende Sequenzen (= «matches») und Art und Weise der nicht übereinstimmenden Sequenzen. Zu beachten ist, dass unter letzteren vor allem Deletionen und unter den Substitutionen Transitionen deutlich häufiger sind als Transversionen.

Primerregion	25 S rDNA		
	LR15	LR21	LR16
Anzahl Basen	159	301	300
«Matches»	48%	97%	86%
Insertionen	–	–	–
Deletionen	37%	–	2%
Transitionen (AT-GC)	18%	3%	10%
Transversionen (AT-TA, GC-CG)	3,7%	0,5%	2%

noch weitgehend gute numerische Methoden und oft auch die notwendigen Computerkapazitäten.

Folgende Gretchenfragen stellen sich bei molekularen Stammbäumen:

(i) Wann ist ein Ast statistisch gesichert verschieden von Null? (ii) Wann ist eine Topologie eines Dendrogrammes statistisch signifikant? (iii) Wann sind zwei Dendrogramme (Bäume) signifikant verschieden? (iv) Wie kann das richtige, das wahre Dendrogramm gefunden werden?

Alle Versuche der phylogenetischen Rekonstruktion basieren zurzeit noch auf folgenden Annahmen, von denen bei genauem Hinsehen keine absolut stimmt, wie unabhängige Evolution der Loci, gleiche Mutationsraten der Loci («molecular clock»), reversible Mutationsprozesse.

Schlussfolgerungen

Wie erreichen wir die Zielsetzung einer wissenschaftlich fundierten Systematik, d.h. insbesondere eine auf der Stammesgeschichte beruhende Klassifikation?

Es braucht in erster Linie gute Daten! Welcher Art diese Daten sind, spielt keine Rolle. Sie können morphologischer Art sein, sie können aber auch molekular sein.

Die molekularen Daten zeigen so quasi das tiefste Niveau des Materiellen an, die Erbsubstanz an und für sich. Wie allerdings der Phänotyp, d.h. die morphologische oder physiologische Eigenschaft, aus dem Genotyp, d.h. aus dem Erbmaterial, zustande kommt, ist weiterhin eine weitgehend offene Frage. Wir sind heute in der Lage dank molekularen Techniken Aussagen zu machen, wie diese unterste Ebene aussieht, die genetische nämlich, und wir können sehen, wie die oberste, das äussere Erscheinungsbild eines Organismus ist, wir wissen aber noch sehr wenig über die Zwischenschritte. Die Kritik von Hillis (1987) zielt in die gleiche Richtung, wenn er schreibt, dass eine wichtige Kritik an der Verwendung molekularer Daten sei, dass Moleküle keine Information zur Ontogenie oder zu Entwicklungsmöglichkeiten enthalten, wie dies bei morphologischen Merkmalen der Fall ist.

Dank

Die molekularen Techniken konnten während eines Forschungsaufenthaltes an der Duke University in Durham, NC, erlernt werden. Rytas Vilgalys sei an dieser Stelle herzlich gedankt.

Literatur

- Bruns, T.D.; R. Fogel & J.W. Taylor. 1990. Amplification and sequencing of DNA from fungal herbarium specimens. *Mycologia* 82: 175–184.
- Bruns, T.D. & J.D. Palmer. 1989. Evolution of Mushroom Mitochondrial DNA: *Suillus* and Related Genera. *J. Mol. Evol.* 28: 349–362.
- Hillis, D.M. 1987. Molecular versus morphological approaches to systematics. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 18: 23–42.
- Lee, S.B. & J.W. Taylor. 1990. Isolation of DNA from fungal mycelia and single spores. In Innis et al. (eds.) «PCR Protocols. A guide to methods and applications», 282–287.
- Senn-Irlet, B. 1992. Type studies in *Crepidotus*. In *Persoonia* 14(4): 515–623.
- Senn-Irlet, B. 1992. Type studies in *Crepidotus* II. In *Persoonia* 15(2): 155–167.
- Senn-Irlet, B. 1994 a. Interaktionen zwischen verschiedenen *Crepidotus*-Arten in Kultur. *Zeitschrift für Mykologie* 60 (1): 73–80.
- Senn-Irlet, B. 1994 b. Culture morphology of *Crepidotus* species. *Mycotaxon* 52: 59–72.
- Senn-Irlet, B. 1994 c. Taxonomy of mycelial and fruit-body characters in *Crepidotus*. In Lotter & Ammann (eds.) *Diss. Bot.* 234: 25–30 .
- Senn-Irlet, B. 1995. The genus *Crepidotus* in Europe. In *Persoonia* 16(1): 1–80.
- Senn-Irlet, B. & Ch. Scheidegger. 1994. Stephanocysts in *Crepidotus applanatus*. *Myc. Res.* 98: 419–421.