

Warum DNA-Sequenzierungen an Pilzen auch für Amateur-Mykologen wichtig sind

GEERT SCHMIDT-STOHN * & BERNHARD OERTEL **

eingegangen am 23.06.2015

ZUSAMMENFASSUNG

Die Beschreibung und Abgrenzung von Pilzarten allein aufgrund morphologischer Merkmale reicht in einigen schwierigen Gruppen bei *Cortinarius* und auch bei vielen anderen Pilzgattungen nicht mehr aus. In Ergänzung dazu bietet heute die DNA-Sequenzierung eine Methode, mit deren Hilfe schon viele taxonomische Probleme gelöst werden konnten. Viele Pilzfreunde fühlen sich jedoch durch die neuen molekulargenetischen Methoden und deren Ergebnisse überfordert und befürchten, dadurch vom Fortschritt des Wissens in der Mykologie abgeschnitten zu werden. Bemühen sich aber die Profi-Mykologen, ihre Methoden und Ergebnisse anschaulich und verständlich zu präsentieren, und sind die Amateure aufgeschlossen und interessiert, dann profitieren alle von den durch die neuen Methoden möglichen Erkenntnissen. DNA-Sequenzierungen sind derzeit schon recht preiswert zu bekommen, und die zur Auswertung benötigten Programme stehen meist kostenlos jedem zur Verfügung. Deshalb können engagierte Amateure sich schnell einarbeiten und selbst oder in Zusammenarbeit mit Berufsmykologen zur Forschung beitragen. Durch die neuen Methoden eröffnet sich ein weites Feld verschiedener Anwendungen, auf die in dieser Arbeit näher eingegangen wird.

RÉSUMÉ

Pour quelques groupes difficiles du genre *Cortinarius*, mais aussi pour de nombreux autres genres, une description et une délimitation des espèces fondées uniquement sur des caractères morphologiques ne sont plus suffisantes. Pour compléter cette approche, le séquençage de l'ADN offre aujourd'hui une méthode à l'aide de laquelle on a déjà pu résoudre beaucoup de problèmes taxinomiques. Toutefois, beaucoup de mycologues amateurs se sentent dépassés par les nouvelles méthodes de génétique moléculaire et leurs résultats et craignent d'être de ce fait coupés des progrès de la connaissance en mycologie. Mais si les mycologues professionnels se donnent la peine de présenter leurs méthodes et leurs résultats de façon claire et compréhensible, et si les amateurs sont ouverts et intéressés, tous profitent des apports possibles des nouvelles méthodes. Les séquençages ADN peuvent être obtenus dès à présent à des prix très accessibles et les programmes nécessaires à leur exploitation sont la plupart du temps disponibles gratuitement. C'est pourquoi les amateurs engagés peuvent s'initier rapidement et contribuer à la recherche par eux-mêmes ou en collaboration avec des mycologues professionnels. Les nouvelles méthodes ouvrent un vaste champ d'applications diverses que nous étudions de plus près dans cet article.

* Geert Schmidt-Stohn, Burgstraße 25, D-29553 Bienenbüttel; geert.schmidt-stohn@t-online.de

** Bernhard Oertel, INRES, Universität Bonn, Auf dem Hügel 6, D-53121 Bonn; b.oertel@uni-bonn.de

RIASSUNTO

In alcuni gruppi difficili del genere *Cortinarius* e in molti altri generi fungini, la descrizione e la distinzione che si limitano soltanto ai caratteri morfologici non sono sufficienti. Oggi il sequenziamento del DNA rappresenta un metodo ulteriore che ha contribuito a risolvere molti problemi tassonomici. Per molti appassionati della micologia i nuovi metodi di genetica molecolare e i loro risultati appaiono eccessivamente impegnativi, per cui questi temono di essere esclusi dal progresso della conoscenza in micologia. Tuttavia, se i micologi professionisti si impegnano a presentare i loro metodi e risultati in maniera chiara e comprensibile e se i dilettanti manifestano disponibilità e interesse, tutti ne trarranno un beneficio. Attualmente il sequenziamento del DNA è già ottenibile a prezzi abbastanza contenuti e i programmi per l'interpretazione dei dati sono spesso disponibili per chiunque gratuitamente. Pertanto, i dilettanti impegnati possono impraticarsi rapidamente con la materia e possono apportare, da soli o in collaborazione con micologi professionisti, un contributo alla ricerca. I nuovi metodi offrono molte possibilità di applicazione. Questi saranno approfonditi di seguito in questo lavoro.

RESUMEN

La descripción y la distinción entre las especies fúngicas, basadas tan solo en los caracteres morfológicos, no son suficientes en algunos de los grupos dificultosos de los *Cortinarius*, así como en otros géneros de hongos. La secuenciación del ADN es un método suplementario que ofrece soluciones a muchos problemas taxonómicos. Sin embargo, muchos micólogos no profesionales, se sienten desbordados por los nuevos métodos genéticos moleculares y sus resultados, temiendo ser apartados del progreso en el conocimiento de la micología. Pero si los micólogos profesionales son capaces de presentar estos métodos y resultados de forma clara y comprensible y los no profesionales muestran interés y receptividad, entonces todos se beneficiarán del potencial de estos nuevos métodos. La secuenciación del ADN no suele ser demasiado cara y su evaluación requiere programas que habitualmente se pueden descargar libremente y están al alcance de todos. Por tanto, los micólogos no profesionales con dedicación, pueden iniciarse de forma relativamente rápida y contribuir a la investigación por ellos mismos o colaborando con los profesionales. Los nuevos métodos abren un amplio panel de aplicaciones, las cuales se estudian en detalle a lo largo de este artículo.

SUMMARY

The description and distinction of fungal species solely on the basis of morphological characters is no longer adequate in a number of difficult groups in *Cortinarius* and in many other fungal genera. DNA-sequencing is a supplementary method that offers solutions to many taxonomic problems. However many non-professional mycologists feel overwhelmed by the new molecular genetic methods and their results, and are afraid of being left behind in the advance of mycological knowledge. But if the professional mycologists are able to present their methods and results clearly and comprehensibly and the non-professionals are receptive and interested, then all will benefit from the potential of the new methods. DNA sequencing is currently becoming relatively inexpensive and the evaluation needs programs which are usually free of charge and available for everyone. Therefore, all dedicated non-professionals can get involved relatively easily and can contribute to the research by themselves or in collaboration with professionals. The new methods open a wide range of applications which are discussed in detail in this paper.

Einleitung

Im Vortragsteil der Cortinarien-Tagung 2014 in Oberhof entwickelte sich eine lebhaft Diskussions darüber, ob und inwieweit die Analyse von Gensequenzen auch für einen Amateur-

(Hobby-)Mykologen interessant und wertvoll sein könnte oder ob diese mit modernen Techniken erhaltenen Ergebnisse nicht eher Verwirrung stiften und den Amateur vom Fortschritt des Wissens in der Mykologie abkoppeln. Die Skeptiker hätten recht, wenn es den professionell arbeitenden Mykologen nicht gelänge, ihre Forschungen auch den vielen anderen Interessierten plausibel darzustellen und sie daran teilhaben zu lassen; das würde letztlich zu einer Entfremdung von Profis und Amateuren führen. Eine solche Entwicklung wird sich sicher kaum einer wünschen, da beide aufeinander angewiesen sind. Schließlich wurden zahlreiche sequenzierte Kollektionen von Amateuren gesammelt, beschrieben und fotografiert.

Ausgelöst wurde die Diskussion in Oberhof durch zwei Artikel in Nr. 16 unseres Journals, in denen – auf genetischen Analysen basierend – die Sektionen *Purpurascetes* und *Multiformes* behandelt wurden (SAAR et al., 2014, S. 140-161; BRANDRUD et al., 2014, S. 162-199). Eine französische bzw. deutsche Fassung dieser Artikel finden sich in diesem Heft. Über die *Multiformes* hielt T. E. BRANDRUD zusätzlich einen viel beachteten Vortrag mit anschließender Diskussion über die Bedeutung von DNA-Analysen für die Pilzforschung. In sehr lebhafter Debatte trug ein Pilzfreund dabei Bedenken gegenüber dieser Entwicklung vor. Diese Diskussion wurde am folgenden Tag in einer von der Tagungsleitung eigens angesetzten Veranstaltung unter der Moderation der beiden Autoren dieses Beitrags fortgesetzt. Einige der dabei ausgetauschten Argumente sollen hier zusammengefasst und ergänzt werden, damit auch diejenigen Pilzfreunde, die nicht anwesend waren, sich hier informieren können.

Die J.E.C.-DNA-Gruppe

Das Präsidium der J.E.C. hat früh erkannt, welche Bedeutung genetisch-molekularbiologische Untersuchungen für die Taxonomie der Gattung *Cortinarius* haben können. Deshalb wurde der Vorschlag zur Gründung einer Arbeitsgruppe innerhalb der J.E.C. bereitwillig aufgenommen und eine Unterstützung und Förderung durch die J.E.C. zugesagt. So konnte die Arbeitsgruppe im Jahre 2008 in Prénoval mit den Mitgliedern FRANCESCO BELLÙ (Italien), TOR ERIK BRANDRUD (Norwegen), BÁLINT DIMA (Ungarn), TOBIAS G. FRØSLEV (Dänemark), BERNHARD OERTEL, GÜNTER SAAR, GEERT SCHMIDT-STOHN (alle Deutschland) und KARL SOOP (Schweden) gegründet werden. Seither treffen sich die Mitglieder jährlich einmal anlässlich der Cortinarien-Tagung sowie ein weiteres Mal zu einem dreitägigen Workshop, der bisher jeweils im März stattfand. Dabei werden Funde der vorjährigen Pilzsaison präsentiert und besprochen, und es wird entschieden, welche Kollektionen sequenziert werden sollen. Außerdem werden die neuesten Sequenzierungsergebnisse vorgestellt und die daraus entwickelten phylogenetischen Bäume diskutiert. Ein sehr wichtiger Punkt bei den Treffen sind außerdem Publikationen, welche von der Gruppe geplant und vorbereitet werden. Ohne diese Tage intensiver gemeinsamer Arbeit könnte die Gruppe ihre Ziele nicht erreichen. In den Zeiten zwischen den Treffen findet natürlich ein intensiver Austausch per E-mail statt.

Ziele

Übereinstimmend mit dem Präsidium der J.E.C. beschlossen wir, schwerpunktmäßig solche Gruppen der Gattung *Cortinarius* zu bearbeiten, die noch relativ unerforscht und bei denen traditionelle makro- und mikromorphologische Methoden allein wenig erfolgversprechend sind. Die Methoden wandeln sich in den Naturwissenschaften entsprechend der technischen Entwicklung ständig. Diese Methoden zu verstehen und auch noch selbst anzuwenden, ist für den Amateur zwar nicht ganz leicht, mit entsprechendem Einsatz aber durchaus möglich. Ein gutes Mikroskop ist ab ca. 2000 Euro zu haben, ein wesentlich leistungsfähigeres Forschungsmikroskop kann mehr als das Zehnfache kosten, und ein Raster-Elektronenmikroskop kann nur von speziell ausgebildeten Fachkräften in einem wissenschaftlichen Institut betrieben werden. Das gleiche gilt für die Aufbereitung von Pilzproben für molekulargenetische Analysen, die nur in entsprechend ausgerü-

steten Laboratorien möglich ist. Ein Amateur kann seine Pilzprobe an spezialisierte Laboratorien schicken (Hinweise können bei den Autoren erfragt werden) und schon für ca. 20 Euro eine ITS-Sequenzierung bekommen. Auch die für eine Auswertung benötigten Programme stehen jedem als free-ware kostenlos zur Verfügung.

Auf die Erkenntnisse, die durch moderne und auch aufwändige Methoden möglich sind, kann nämlich nicht verzichtet werden. Gerade hier eröffnet sich ein weites Feld der Zusammenarbeit von Amateuren und Profi-Mykologen, wobei Ersteren durchaus nicht nur die Rolle von Zuträgern zukommen muss. Voraussetzung dafür ist allerdings, dass auch die Amateur-Mykologen bereit sind, sich bis zu einem gewissen Grade mit den neuen Methoden und ihrer Arbeitsweise zu beschäftigen und auseinanderzusetzen. Dazu können wiederum Profis oder entsprechend vorgebildete Amateure durch für alle verständliche Publikationen und Vorträge ihren Beitrag leisten.

Methoden

Einen einführenden, allgemein verständlichen Beitrag über die theoretischen Voraussetzungen, die technische Durchführung und die Auswertung molekular-genetischer Methoden bei Pilzen haben SCHMIDT-STOHN & OERTEL (2009) in dieser Zeitschrift veröffentlicht. Auch wenn sich seither die Methoden verändert und die Programme zur Auswertung verfeinert haben, kann dieser Beitrag auch heute noch zum besseren Verständnis der DNA-Analyse dienen. Dort werden auch Hinweise für die Deutung von Phylogrammen und eine kritische Betrachtung der Ergebnisse gegeben.

Die Artkonzepte - Was ist eine Spezies - eine Art?

Diese Frage ist für jeden Taxonomen und ebenso für jeden Pilzbestimmer wichtig. Um sie beantworten zu können, muss zunächst einmal definiert werden, was wir unter einer Art verstehen wollen. Je nach den Kriterien, die dabei im Vordergrund stehen, gibt es verschiedene Konzepte.

1. Das Morphologische Artkonzept

Beim Ansprechen von Pilzen im Gelände erfassen wir zunächst bestimmte makroskopische Merkmalskombinationen und zusätzlich bestimmte Einzelmerkmale, die für eine Art charakteristisch sind. Können wir eine Kollektion so nicht benennen, werden für die Diagnose zusätzlich mikroskopische Merkmale herangezogen. All diese Merkmale beziehen sich auf das Erscheinungsbild – es sind morphologische Merkmale. In der Geländearbeit zur Kartierung von Pilzen ist nur die morphologische Definition einer Pilzart praktikabel. Eine Unterscheidung zwischen einer Art, Unterart, Varietät etc. ist so aber kaum möglich, da die Gewichtung der Merkmale sehr schwierig zu objektivieren ist. Es ist deshalb auch müßig, darüber zu streiten, ob für die Trennung von zwei Arten 1, 2 oder sogar 3 Merkmale herangezogen werden müssen – es kommt auf die Qualität der Merkmale an.

Da die Bewertung und Gewichtung der Merkmale beim Morphologischen Artkonzept wenig objektiv, sondern eher subjektiv ist, eröffnet sich hier eine Spielwiese für zwei Schulen: die Splitter und die Lumpen. Während Splitter geneigt sind, auch kleinere Merkmalsabweichungen für eine Abtrennung als Varietät oder Art heranzuziehen, gestehen die Lumpen auf Artebene eine viel größere Merkmalsvariation zu und sind bei der Neubeschreibung von Arten wesentlich vorsichtiger. Die Erfahrung zeigt, dass von extremen Splittern beschriebene Arten meist schwieriger eindeutig zu bestimmen sind und die Wahrscheinlichkeit, später widerlegt zu werden, bei diesem Konzept viel größer ist als bei den Lumpen. Beide arbeiten jedoch letztlich nach subjektiven Kriterien. Gesucht wird aber eine möglichst objektive Artdefinition.

2. Das Biologische Artkonzept

Objektiver lassen sich Arten als Fortpflanzungsgemeinschaft definieren: Individuen einer Art sind untereinander kreuzbar und produzieren dabei fertile Nachkommen. Leider ist der Umkehrschluss nicht erlaubt, d.h. nicht kreuzbare Individuen gehören nicht notwendigerweise zu verschiedenen Arten, weil innerartliche Kreuzungsbarrieren bestehen, die zu einer genetisch vielfältigeren Nachkommenschaft führen können. Die Kreuzungsanalyse bei Pilzen wird im Labor meist mit Einspormyzelien durchgeführt und ist z.B. bei Tintlingen sehr erfolgreich. Da aber viele Pilze (z.B. alle *Cortinarius*-Arten als obligate Mykorrhizapilze) bisher nicht oder nur mit sehr großem Aufwand auf Nährmedien im Labor kultivierbar sind, ist das bei Tieren und Pflanzen recht erfolgreiche Biologische Artkonzept bei sehr vielen Pilzen leider nicht anwendbar.

3. Das Genetisches Artkonzept

Dieses Konzept – in seiner reinen Form angewendet – würde bedeuten, dass man Arten allein an Hand der genanalytisch festgestellten Unterschiede ihrer DNA definieren würde. Solche Unterschiede sind messbar und könnten zu der Aussage führen, dass z.B. Art A sich von Art B durch 1, 2, 3.....17... Basen der DNA unterscheidet. Der Genauigkeit halber würde man zusätzlich angeben, auf welchen untersuchten Bereich der DNA sich die Unterschiede beziehen (ITS-, LSU-, RPB1-, RPB2- oder auch weitere Regionen auf der DNA; vgl. SCHMIDT-STOHN & OERTEL, 2009). Ein so definierter Artbegriff ginge jedoch vollkommen an der biologischen Realität vorbei, weil nämlich Individuen einer Art meist nicht genetisch identisch sind und innerartliche Unterschiede der DNA nicht etwa die Ausnahme, sondern vielmehr die Regel sind. Denken wir nur einmal an die eigene Spezies *Homo sapiens*, dann ist völlig klar, dass es sich hier nach dem Biologischen Artkonzept um eine Art handelt, deren Individuen aber selbstverständlich mitnichten genetisch gleich sind. Hier würden also zwei Artbegriffe kollidieren und zu vollkommen verschiedenen Ergebnissen führen. Und auch bei Pilzen findet man durchaus auch eine innerartliche genetische Variation.

Ein allein genetisch definiertes Taxon dürfte man daher nicht mehr «Art» nennen, sondern man müsste dafür einen neuen Begriff verwenden. In der Literatur wird heute häufig der Begriff «operational taxonomic unit (OTU)» benutzt, solange noch kein Artname vergeben wurde. Dennoch können solche nur durch ihre DNA-Sequenz definierten Taxa selbstverständlich zunächst einmal zur Inventarisierung verwendet werden, ehe sie später auch morphologisch charakterisiert und damit vielleicht zu einer Art im herkömmlichen Sinn werden. Taxa, die sich nicht morphologisch abgrenzen lassen, würden dann nur durch ihre Sequenz definiert. Eine solche Zweiteilung wird sich wahrscheinlich in der Taxonomie etablieren.

Welcher Weg vielleicht zu einer weiterhin einheitlich anwendbaren Taxonomie unter Einbeziehung der Genanalyse führt, soll im Kapitel «Schlussfolgerungen» in dieser Arbeit erläutert werden.

Taxonomie und Genanalyse

Es lässt sich kaum noch bestreiten, dass eine ausschließlich auf makro- und mikromorphologischen Merkmalen beruhende Pilztaxonomie mittlerweile an ihre Grenzen stößt. Das soll heißen, dass selbst bei Ausreizung aller Möglichkeiten der genauen Beschreibung und Erfassung von Makro- und Mikromerkmalen, unter Einsatz chemischer Reagenzien und bei Berücksichtigung der Ökologie der Arten, eine grundlegende Klärung der Artabgrenzung in vielen Pilzgruppen nicht mehr möglich ist. Dazu zwei Beispiele aus der Gattung *Cortinarius*: 1. bestimmte große Telamonien («*Sordescentes*» bzw. «*Bovini*») sind mit der gegenwärtig verfügbaren Literatur praktisch nicht bestimmbar, da weder genau bekannt ist, wie viele Arten es überhaupt gibt, noch Klarheit über die Abgrenzung der zurzeit mit Namen versehenen Taxa besteht, und 2. haben DNA-Analysen im *Cortinarius infractus*-Komplex gezeigt, dass mit mindestens 10 genetisch abgrenzbaren Taxa zu rechnen ist, an deren morphologischer Charakterisierung gerade gearbeitet

wird. Hier wird es wahrscheinlich nicht gelingen, alle genetisch trennbaren Taxa auch morphologisch eindeutig zu definieren.

Solche genetisch, aber nicht morphologisch trennbaren Arten werden heute als «Kryptospezies» oder «kryptische Arten» bezeichnet. Diese Begriffe wurden ursprünglich für Arten geprägt, die sich nach dem Biologischen Artkonzept (keine Erzeugung fertiler Nachkommen, s.o.) trennen ließen, nach ihrer Morphologie aber nicht. Solche Taxa hat man auch früher in einem Aggregat (Abk. agg.) unter einem Namen zusammengefasst. Es wird jedoch immer einige Mykologen geben, die meinen, dass sich ihre Kollektion doch von anderen unterscheiden lässt; sie lösen deshalb dieses Taxon aus dem Aggregat heraus und beschreiben es als neue Art. Das mag in manchen Fällen legitim sein, führt aber dazu, dass sich immer mehr Taxa in der Literatur ansammeln, die nur schwer oder überhaupt nicht eindeutig bestimmbar sind. Diese Situation war auch schon in den letzten Ausgaben der Kleinen Kryptogamenflora von MOSER z.B. in der Gattung *Cortinarius* gegeben und hat sich in neueren Publikationen wie z.B. dem Atlas des Cortinaires verstärkt. Ein Schlüssel gibt zwar ein gewisses Versprechen, dass man damit die jeweiligen Arten bestimmen kann; diese Hoffnung trägt aber in vielen Fällen, da man je nach Ausprägung und Einschätzung der abgefragten Merkmale zu völlig verschiedenen Ergebnissen kommen kann. Das war allerdings schon immer so und ist nicht etwa eine Folge der DNA-Sequenzierungen. Hier bietet das Konzept der Kryptospezies (oder einer kryptischen Art) eine praktikable Lösung, wenn solche Taxa z.B. in einem Schlüssel gekennzeichnet und zu einem Aggregat zusammengefasst werden.

Wo liegt der Grund für die oft unklare Abgrenzung der Arten? Wir können mit den oben genannten klassischen Methoden der Taxonomie die Variationsbreite der Merkmale grundsätzlich nicht genau erfassen, sondern nur abschätzen. Wie ist eine Farbabweichung oder eine etwas andere Sporengröße taxonomisch zu bewerten, liegt eine Abweichung noch im Rahmen der Variationsbreite der Art oder schon nicht mehr? Hierfür liefern die herkömmlichen Methoden keine eindeutigen Anhaltspunkte.

Anders die genetisch-molekularbiologischen Methoden. Die genetische Analyse liefert eine eindeutige Information, ob zwei untersuchte Individuen (Pilzfruchtkörper) genetisch gleich oder verschieden sind (auch mit der Einschränkung, dass stets nicht die gesamte DNA, sondern nur relativ kleine Teilbereiche von ihr analysiert wurden). Sind die untersuchten Individuen in diesen DNA-Teilabschnitten genetisch gleich, dann besteht kaum ein Zweifel, dass sie zu derselben Art gehören. Sind sie aber genetisch verschieden, dann braucht nur noch entschieden zu werden, ob der festgestellte Unterschied ausreicht, um von zwei verschiedenen Arten zu sprechen. Dies wäre die Aufgabe eines Gattungsspezialisten.

Ein Beispiel: angenommen, wir sammeln 10 Kollektionen der häufigen Art *Cortinarius anserinus* und dokumentieren akribisch alle Makro- und Mikromerkmale. Dabei komme heraus, dass man nach Hutfarben, Knollenform und Sporengröße 3 Gruppen bilden kann. Wären diese Unterschiede konstant, könnte man vielleicht 3 Taxa auf Varietäts- oder Artebene daraus machen. Jetzt sind die Taxonomen gefragt: haben wir einen «Splitter» vor uns, der eine Vorliebe für feine Untergliederungen hat, werden 3 Varietäten oder Arten daraus; anders beim «Lumper» – er fasst lieber zusammen und belässt es bei einem Taxon mit einer großen Variationsbreite.

Aber welche Auffassung ist die richtige? Diese Entscheidung lässt sich heute mit Hilfe der DNA-Analyse treffen. Gibt es genetische Unterschiede zwischen den 3 Gruppen, hatte der Splitter recht, sind sie genetisch gleich oder sehr ähnlich, dann bestätigt das Ergebnis den Lumper.

Es gibt auch schon viele reale Beispiele! Schaut man bei LIIMATAINEN et al. (2014) im Phylogramm auf S. 115 unter *C. largus* nach, dann findet man, dass insgesamt 12 Taxa unter verschiedenen Namen beschrieben wurden, die an den untersuchten DNA-Bereichen alle genetisch vollkommen gleich sind (s. Fig. 1), ein Beispiel dafür, dass die Aufspaltung in verschiedene Arten hier nicht berechtigt ist, weil die zweifellos zu beobachtende Variation der Merkmale nicht konstant ist und keine genetische Basis hat. Das extreme Splitting ist hier also klar widerlegt worden.

Anders bei den *Calochroi*. Hier stellte sich heraus, dass das Lumping in vielen Fällen nicht berechtigt war. In den Zeiten vor der DNA-Analyse wurde die Artenzahl in dieser Gruppe nämlich deutlich unterschätzt. Mittlerweile hat man dank der DNA-Analyse (Sequenzierung) hier große genetische Unterschiede festgestellt und ist heute sogar in der Lage, viele Arten auch ohne Genanalyse zu unterscheiden. Ein wichtiges Merkmal, dessen Wert man erst durch die Genanalysen richtig einschätzen konnte, ist die von OERTEL & LABER (1986) in die Literatur eingeführte KOH-Reaktion an der Knollenunterseite von Phlegmacien (vgl. auch OERTEL, SCHMIDT-STOHN & SAAR, 2009). Dieses auch am Exsikkat sicher zu beobachtende Merkmal kongruiert exakt mit den genetisch unterscheidbaren Taxa und erlaubt es heute, zusammen mit der KOH-Reaktion auf der Huthaut, eine Vielzahl neuer *Calochroi* sicher anzusprechen. Hier wurde also an Hand der Methoden der Genanalyse der Wert des Merkmals «KOH-Reaktion» für taxonomische Zwecke nachgewiesen, da eine verschiedene KOH-Reaktion stets auch mit genetischen Unterschieden korreliert war.

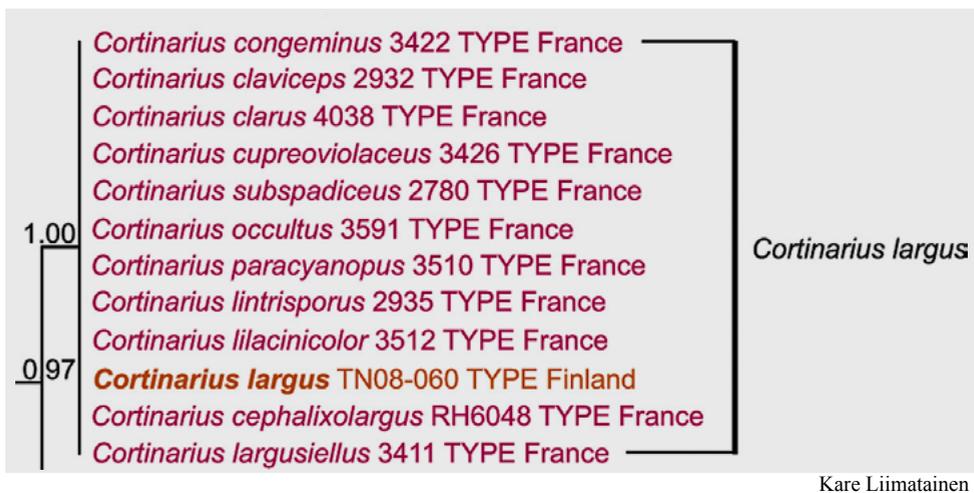


Fig. 1 — Ausschnitt aus einem Phylogramm von LIIMATAINEN et al. (2014).
Cortinarius largus TN08-060 ist ein Neotypus aus Finnland,
 alle anderen sind genetisch identische, synonyme Taxa (s. LIIMATAINEN loc. cit. S. 120).

Was können wir aus diesen Beispielen schließen? Mit der Einführung der DNA-Analysen in die Pilztaxonomie haben wir ein wirksames Werkzeug an der Hand, eine rein zufällige, etwa durch wechselnde Umwelt- oder Standortbedingungen hervorgerufene Merkmalsvariation von einer «echten», konstanten Variation zu unterscheiden, die genetisch bedingt ist und zur Charakterisierung eines Taxons dienen kann. Es ist hier sogar die Frage zu stellen, ob es heute überhaupt noch zu rechtfertigen ist, eine neue Art ohne eine vorherige Genanalyse und ohne eine darauf beruhende Abgrenzung zu ähnlichen Arten zu beschreiben. Durch die frühere Praxis, die es jedem Autor selbst überließ, den Wert bestimmter Merkmale zur Artabgrenzung zu bestimmen, ist es ja erst zu der heutigen z. T. extrem unübersichtlichen Situation in der Taxonomie bestimmter Gruppen (z.B. in der Untergattung *Telamonia*) gekommen. Leider wurden bei der ansehnlichen Publikation über die Telamonien Flanderns von A. DE HAAN et al. (2013) die Möglichkeiten der Sequenzierung noch nicht genutzt, so dass trotz der guten Darstellung manche Taxa und ihre Benennung unsicher bleiben. Eine nachträgliche Sequenzierung der in diesem Buch behandelten Taxa/Kollektionen wäre sehr wünschenswert und würde diese Arbeit noch wertvoller für die Erforschung der Untergattung *Telamonia* machen.

Ein naheliegender Einwand lautet: Würde man eine DNA-Analyse zur Voraussetzung für die Beschreibung neuer Arten machen, dann verwehrte man dem Amateur die Möglichkeit einer Erstbeschreibung. Davon kann aber heute kaum mehr die Rede sein. Eine Sequenzierung ist zurzeit schon für ca. 20 Euro zu haben, und es gibt in vielen Ländern Förder-Programme, die es auch Amateuren erlauben, Kollektionen analysieren und auswerten zu lassen und dann an einer entsprechenden Publikation teilzuhaben. Die J.E.C.-DNA-Gruppe ist ein gutes Beispiel für diese Art der Kooperation.



Foto: Geert Schmidt-Stohn

Fig. 2 — *Cortinarius largus* Koll. SSt13-027, Deutschland, Meckl.-Vorp., Plauer Stadtwald.

Grenzfälle der Genanalyse

Es war schon oben davon die Rede, dass sich DNA-Sequenzen in verschiedener Weise unterscheiden können. Bezogen auf die untersuchte DNA-Region (ITS, LSU etc.) ist – etwas vereinfacht ausgedrückt – der geringste Unterschied 1 Base, nach oben ist die Zahl unterschiedlicher Basen theoretisch durch die Länge der untersuchten Region begrenzt. Die entscheidende Frage ist nun, wie die zwischen zwei Sequenzen festgestellten Unterschiede taxonomisch zu bewerten sind. Leider lässt sich diese Frage nicht generell beantworten. Wie schon oben erläutert, müssen wir stets mit einer gewissen innerartlichen Variation rechnen. Und diese innerartliche Variation ist nicht überall vorhanden und auch nicht überall gleich. Die Bewertung solcher Unterschiede ist nämlich im Zusammenhang mit den morphologischen Merkmalen zu sehen. Gibt es da deutliche Unterschiede zwischen zwei Kollektionen, dann reichen dem Taxonomen gegebenenfalls 1, 2 oder 3 unterschiedliche Basen, um zwei Arten voneinander abzugrenzen. Gibt es hingegen keine oder nur geringe morphologische Differenzen, dann werden 1-3 unterschiedliche Basen nicht zu einer Artabtrennung genügen. Wollte man eine Artabtrennung bei gleicher Morphologie

lediglich mit Unterschieden der DNA begründen, widerspräche das allem, was wir bisher unter einer Art verstehen (s.o. Artkonzepte). Ein Kompromiss ist hier die Kryptospezies, bei der aber letztlich offen bleibt, ob sie das Ergebnis innerartlicher Variation oder tatsächlich eine nach dem Biologischen Artkonzept eigenständige Art ist.

Es gibt auch Extremfälle von Artenpaaren, bei denen bis heute keine Unterschiede in der DNA gefunden wurden, obwohl sie sich morphologisch so deutlich unterscheiden, dass man sie ohne weiteres als verschiedene Arten erkennen kann: solche Paare sind *C. ionochlorus* und *C. atrovirens* (vgl. Fig. 3 u. 4) sowie *C. claroflavus* und *C. xanthophyllus*. Möglicherweise werden hier irgendwann mit neuen Techniken in anderen als den bisher untersuchten DNA-Regionen doch Unterschiede gefunden. Solche Beispiele gibt es auch bei bestimmten Ascomyceten, die sich morphologisch deutlich, in der DNA-Sequenz der ITS-Region aber überhaupt nicht unterscheiden.

Wir sehen: die DNA-Analyse ist zwar sehr leistungsfähig, lässt sich aber nicht nach einem generell gültigen Schema anwenden. Sie liefert zwar objektive Ergebnisse, sollte jedoch nur in Ausnahmefällen das alleinige Kriterium für eine Art sein.



Foto: Geert Schmidt-Stohn

Fig. 3 — *Cortinarius ionochlorus* SSt98-230, Deutschland, Sachs.-Anh., Huy.

Neueste Entwicklungen

Auf der Internetseite <http://www.indexfungorum.org/Names/IndexFungorumPublicationsListing.asp> gibt es jetzt die Möglichkeit, eine neue Art als sog. «e-publication» zu veröffentlichen. Hier wird eine Beschreibung gegeben, die Abgrenzung der Art erfolgt aber zunächst nur genetisch. So findet sich z.B. auf dieser Seite unter «Index Fungorum no. 201.pdf» die Neubeschreibung von *C. angustisporus* Kytov., Niskanen & Liimat., sp. nov. Neben einer relativ kurzen Beschreibung heißt es über die Art aus der Untergattung *Telamonia*, dass sie sich genetisch von allen anderen *Telamonia*-Arten deutlich unterscheidet (genauere Daten dort nachzulesen). Damit wurde die Art nach jetzt geltenden Regeln gültig publiziert, ohne dass dort herausgearbeitet wurde, inwieweit auch morphologische Unterschiede die Art charakterisieren. Auch Fotos oder Zeichnungen fehlen. Es bleibt zu hoffen, dass die Arten dieser sog. «e-publications» in späteren Publikationen

ausführlicher behandelt werden, wenn ausreichendes Vergleichsmaterial zur Verfügung steht. Ansonsten könnten andere Mykologen diese Art nur an ihrer Sequenz identifizieren.

Den Autoren dieses Beitrages ist natürlich bewusst, dass die «e-publications» dem heute in der Wissenschaft herrschenden Zwang zu einer immer schnelleren Publikation von Ergebnissen geschuldet sind. Die Gründe dafür sollen hier nicht erörtert werden.



Foto: Geert Schmidt-Stohn

Fig. 4 — *Cortinarius atrovirens* Koll. SSt08-100, Frankreich, Le Maréchet, Mont Noir.

Namengebung

Ein Problem, mit dem alle Taxonomen zu kämpfen haben, ist das der Namengebung. Wie dieses Problem entsteht, ist schnell erklärt: jemand beschreibt eine Art, befolgt dabei alle zum jeweiligen Zeitpunkt geltenden Regeln und publiziert sie dann gültig in einem Buch, einer Zeitschrift und heute auch auf einer speziellen Plattform im Internet. Im Idealfall hat der Autor dabei alle Regeln beachtet, seine Beschreibung ist genau und ausführlich, er hat die neue Art sorgfältig gegen andere ähnliche abgegrenzt, eine ausreichende Anzahl reifer Sporen wurde sorgfältig gemessen und Fehlmessungen durch Kontrollen ausgeschlossen, es gibt ein gemaltes Bild oder Foto der Art sowie ein gut erhaltenes Exsikkat als Beleg in einem öffentlichen Herbarium und es ist ein gültiger Name vergeben worden. Dann haben spätere Finder eine gute, aber immer noch keine absolut sichere Chance, diese Art auch eindeutig zu identifizieren.

Die Realität sieht leider anders aus. Die Art wird in einer unbekanntem, wenig verbreiteten Zeitschrift publiziert, die Beschreibung kann zu knapp und ungenau sein und eine Abgrenzung zu anderen ähnlichen Arten fehlt vielleicht völlig, das Bild oder Foto ist wenig aussagekräftig und zeigt die Merkmale nicht deutlich genug, manchmal gibt es sogar nur eine oberflächliche Strichzeichnung. Oder es zeigt sich bei späterer Nachuntersuchung des Belegs, dass er schlecht getrocknet wurde und deshalb verdorben ist oder sogar eine Mischkollektion aus verschiedenen Arten darstellt. Und schließlich entspricht der gewählte Name möglicherweise nicht den Nomenklaturregeln oder ist aus verschiedensten anderen Gründen ungültig. Alle diese genannten Mängel sind leider nicht die seltene Ausnahme, sondern kommen häufiger vor. Sie führen auch

dazu, dass schon beschriebene Arten unter einem anderen Namen neu beschrieben werden. Oder spätere Autoren stellen die Ungültigkeit eines Namens fest und vergeben einen neuen.

So kommt es zu dem schon oben erwähnten Namens-Wirrwarr, den zu entwirren eine niemals endende Beschäftigung für Generationen von Mykologen bedeutet. Diese Arbeit würde wesentlich erleichtert, wenn in Zukunft für jede neu beschriebene Art deren Sequenz bei Unite oder der GenBank (NCBI) hinterlegt würde. Die Unite-Datenbank nimmt seit kurzem nicht mehr nur Sequenzen von Mykorrhizapilzen auf, sondern hat sich jetzt für alle Pilze geöffnet. Sie hat den Vorteil, dass hier auch Funddaten, Finder und Fotos hinterlegt werden können. Ein Abgleich mit den betreffenden Datenbanken könnte dann noch vor der Publikation einer neuen Art zeigen, ob diese vielleicht vorher schon publiziert wurde. Es ist eigentlich überfällig, dass in den Internationalen Nomenklatur-Code eine entsprechende Vorschrift eingefügt wird. Bis dahin könnten die wissenschaftlichen Zeitschriften dafür sorgen, dass nur Arten mit einer hinterlegten Sequenz publiziert werden können.

Untersuchung von Typen

Bei der Klärung zweifelhafter Namensgebung ist die Untersuchung des Typusmaterials die beste Methode. Die Hinterlegung von Typen in öffentlichen Herbarien sollte deshalb zwingend vorgeschrieben werden, damit Untersuchungsmaterial leicht zugänglich ist. In den letzten Jahren sind die DNA-Analyse-Methoden so verfeinert worden, dass sogar sehr alte und weniger gut erhaltene Exsikkate von Typen erfolgreich sequenziert werden können. Hier hat sich die finnische *Cortinarius*-Arbeitsgruppe um LIIMATAINEN, NISKANEN u.a. einen Namen gemacht und erst im vergangenen Jahr eine umfangreiche Typusstudie vorgelegt (LIIMATAINEN et al., 2014). Hier hat B. DIMA einen sehr wertvollen Beitrag geleistet, weil er viele Typus-Exsikkate in mühevoller, akribischer Arbeit in Herbarien gesucht, gefunden und damit verfügbar gemacht hat. Mit der Publikation sind die Typus-Sequenzen in für jedermann zugänglichen Datenbanken hinterlegt und stehen für einen Abgleich zur Verfügung. Diese Arbeit wird zu großen Fortschritten in der Taxonomie der Untergattung *Phlegmacium* führen. Eine ähnliche Studie in der Untergattung *Telamonia* wird hoffentlich nicht mehr lange auf sich warten lassen. Stehen Typussequenzen zur Verfügung, werden 1. viele bisher strittige taxonomische Fragen eindeutig zu beantworten sein und wird es 2. zu einer umfassenden Bereinigung der Literatur von mehrfach unter verschiedenen Namen beschriebenen Arten kommen. Dieser Effekt wurde oben am Beispiel von *C. largus* erläutert.

Schlussfolgerungen und Ausblick

1. Wesentliche Fortschritte sind in den Naturwissenschaften fast immer durch neue Entwicklungen bei den Methoden erreicht worden. Hätten die Mykologen früherer Zeiten das Mikroskop als neues Hilfsmittel abgelehnt, dann wären wir in der Mykologie vielleicht heute noch auf dem Stand von Fries. Die neuen Techniken zur DNA-Analyse sind ein wichtiges Werkzeug zur Klärung von Fragen, die bisher nicht beantwortet werden konnten. Wir werden mit diesen Methoden neue Erkenntnisse in Pilzgruppen gewinnen, die bisher schlicht als unbestimmbar galten.

2. Nicht jeder Mykologe wird diese Methoden selbst durchführen, sich ihrer jedoch bedienen können. Möglichkeiten, sich auf einem allgemein verständlichen Niveau zu informieren, stehen bereits zur Verfügung und sind im Zeitalter der elektronischen Medien leicht zugänglich. Zur Klärung spezieller Fragen gibt es Tagungen, auf denen sich Amateure und Profis treffen und austauschen können.

3. Mit der Sequenzierung von Typus-Kollektionen und der Hinterlegung dieser Sequenzen in öffentlich zugänglichen Datenbanken gibt es jetzt endlich die Möglichkeit, zweifelhafte

Zuordnungen von Namen zu überprüfen und falsche zu korrigieren sowie auch bis dahin nicht bestimmbare Funde korrekt zu benennen.

Aber Vorsicht! Die meisten Sequenzen in Datenbanken stammen nicht von Typusmaterial. Im Prinzip kann nämlich jeder die Sequenzen eigener Funde einreichen und unter einem selbst gewählten Namen hinterlegen. Deshalb ist Vorsicht geboten, wenn man die Sequenz einer eigenen Kollektion mit einer Datenbank vergleicht (BLAST), um einen Namen dafür zu finden. Angenommen man findet dann bei einer hohen Übereinstimmung der Sequenzen (99-100 %) einen Namen, dann muss dieser nicht richtig sein; die Administration der Datenbank überprüft nämlich die eingereichten Datensätze nur formal, aber nicht nach taxonomischen Gesichtspunkten. Bei Unite werden inzwischen Werkzeuge zur Verfügung gestellt, die eine Überprüfung von Namen ermöglichen. Verantwortlich für die Namengebung sind immer die Autoren, und diese irren sich öfter, als man es gemeinhin vermutet. Eine eindeutige Aussage liefert nur die Übereinstimmung mit der Sequenz einer Typuskollektion.

4. Viele Arten sind sehr selten, und es gibt vielleicht überhaupt nur 1-3 Kollektionen. Hier ist eine Abschätzung der morphologischen Variationsbreite überhaupt nicht möglich, und die Abgrenzung von Arten ist sehr schwierig. Gerade hier kann die DNA-Analyse helfen, Merkmalsunterschiede richtig zu bewerten: korrelieren genetische Unterschiede mit bestimmten morphologischen Abweichungen, dann ist das ein starkes Indiz für getrennte Arten. In sehr vielen Fällen (z.B. *Calochroi*, *Multiformes*) hat man erst durch genetische Analysen gewisse morphologische Unterschiede richtig bewerten können, so dass man heute bereits Arten makroskopisch unterscheiden kann, die früher nicht eindeutig zu trennen waren.

5. Welches Artkonzept wollen wir anwenden? Das Biologische scheidet leider aus, da es bei keinem der Mykorrhiza-gebundenen Pilze anwendbar ist. Ein rein Genetisches Konzept kann zu Taxa führen, die sicher nicht immer dem entsprechen, was wir heute unter einer Art verstehen. Und da das Morphologische Artkonzept allein nicht ausreicht, liegt es nahe, dieses mit einem Genetischen Konzept zu kombinieren. Genau so wird in der modernen Pilztaxonomie verfahren: einer ausführlichen Beschreibung wird die zugehörige Sequenz hinzugefügt, und es werden die morphologischen und genetischen Unterschiede dieses Taxons zu nahe verwandten Taxa herausgearbeitet. Dabei mag sich herausstellen, dass sowohl die morphologischen als auch die genetischen Unterschiede so groß sind, dass man von einer eigenen Art sprechen kann. Dies ist der einfachste Fall.

Sollten jedoch trotz morphologischer Unterschiede genetische fehlen oder unbedeutend sein, ist die Entscheidung nicht mehr so eindeutig und muss vom Taxonomen in Abwägung aller Kriterien getroffen werden. Beispiele für solche Fälle wurden oben genannt.

Sind aber die genetischen Unterschiede bedeutend und groß genug, die morphologischen hingegen gering, dann spricht einiges dafür, sich auch hier für eine eigenständige Art, gegebenenfalls für eine Kryptospezies zu entscheiden. Solche Arten in einem Bestimmungsschlüssel von anderen abzugrenzen, so dass eine eindeutige Bestimmung möglich ist, wird oft sehr schwierig oder sogar unmöglich sein.

Ein Beispiel dafür ist der Schlüssel der Sekt. *Multiformes* (BRANDRUD et al. 2014, deutsche Version in diesem Heft), mit dem wahrscheinlich nur derjenige, der sich ohnehin schon eingehend mit dieser Sektion beschäftigt hat, zu eindeutigen, einigermaßen sicheren Ergebnissen kommen wird. Mit einem künftigen Schlüssel zu den *Infra*cti oder auch einem zu den *Sordescentes/Aprini/Bovini* wird die Situation wahrscheinlich ähnlich sein. An kritischen Stellen künftiger Schlüssel sollte darauf hingewiesen werden, dass eine sichere Bestimmung hier kaum möglich ist und ein Aggregat aus zwei oder mehr kryptischen Arten als Ergebnis angeboten werden muss. Dies trüge der Tatsache Rechnung, dass sich wohl niemals alle in der Natur vorhandenen Arten nach morphologischen Merkmalen sicher werden bestimmen lassen.

6. Ob ein Taxon als Art zu betrachten ist, wird auch in Zukunft nicht der Molekulargenetiker zu entscheiden haben, sondern ein Taxonom an Hand morphologischer, chemischer und ökologischer Merkmale, die von DNA-Sequenzen gestützt werden. Die Erfahrungen der letzten Jahre haben aber gezeigt, dass in der Gattung *Cortinarius* bei einer genetischen Differenz von ca. $\geq 1\%$ in der ITS-Region in der Regel von getrennten Arten auszugehen ist. Bei einer Gesamtlänge der ITS-Region von ca. 600 Basen wäre das also ein Unterschied in ≥ 6 Basen. Bei Nachuntersuchungen der morphologischen Merkmale hat sich herausgestellt, dass solche genetischen Unterschiede fast immer mit morphologischen korreliert waren. Deshalb ist es gerechtfertigt, eine neue Art zunächst nur auf Grund genetischer Unterschiede zu beschreiben und zu publizieren, wenn nur eine oder sehr wenige Kollektionen zur Verfügung stehen, um dann später mit einem dafür ausreichenden Material auch die morphologischen Unterschiede und die Abgrenzung zu Nachbararten herauszuarbeiten.

7. Durch die Ergebnisse der Genanalysen sind bisher die gemäßigten Lumper und allenfalls noch die gemäßigten Splitter bestätigt worden, die extremen Splitter mit ihrem sehr engen Artkonzept eher nicht. Es gibt aber auch Fälle, in denen sich die weite Artauffassung nicht bestätigt hat. Man kann also mit Hilfe der genetischen Analysen die Variationsbreite der morphologischen Merkmale weit besser einschätzen als ohne diese.

8. Die genetisch-phylogenetischen Methoden werden unbedingt benötigt, um endlich das taxonomische Durcheinander in einigen Gruppen entwirren zu können. Hier sind z.B. bestimmte Gruppen in der Untergattung *Telamonia* wie die *Obtusi*, die *Bovini-Sordescences* oder die *Hinnulei-Safranopedes* zu nennen. Hier wird allein mit der Morphologie keine Lösung zu finden sein (BRANDRUD et al., in prep.).

9. Mit der Entwicklung der Methoden der DNA-Analyse eröffnet sich nun erstmals auch die Möglichkeit, eine Sammlung von Fotos anzulegen, in die ausschließlich sequenzierte Kollektionen aufgenommen werden. Diese Sequenzen sollten sämtlich mit den Sequenzen der Typuskollektionen abgeglichen sein, so dass eine echte Referenz-Ikonografie entstehen kann, bei der – im Gegensatz zu allen anderen Abbildungswerken – alle Namen mit hoher Wahrscheinlichkeit korrekt sind und auch über längere Zeit Bestand haben werden.

10. Da bei vielen zurzeit laufenden mykologischen Forschungsvorhaben die Möglichkeiten der modernen Techniken konsequent genutzt werden, hat jetzt wirklich eine neue Ära der Pilztaxonomie begonnen, von der alle Mykologen profitieren werden.

Dank

Wir danken besonders Tor Erik Brandrud (Oslo) für seine Hinweise und Ergänzungen, durch die unsere Arbeit um wichtige Aspekte bereichert wurde. Auch Peter Steindl (Hamburg) gebührt Dank für seine sorgfältige Durchsicht des Manuskriptes und Andreas Zeugner (Hamburg) für die Korrektur der englischen Zusammenfassung. Und schließlich bedanken wir uns bei Kare Liimatainen (Helsinki) für die Erlaubnis, einen Ausschnitt aus einem seiner Phylogramme in dieser Arbeit wiederzugeben.

Literaturverzeichnis

- BRANDRUD, T. E., DIMA, B., SCHMIDT-STOHN, G., BELLÙ, F., FRØSLEV, T. G., OERTEL, B., SAAR, G. & K. SOOP (2014) - *Cortinarius* subgenus *Phlegmacium* section *Multiformes* in Europe, *Journ. J.E.C.* 16: 162-199.
- HAAN, DE A., VOLDERS, J., GELDERBLON, J., VERSTRAETEN, P. & O. VAN DE KERCKHOVE (2013) - *Cortinarius* subg. *Telamonia* in Vlaanderen, *Sterbeekia* 32, 2013, Bijlage.

- LIIMATAINEN, K., NISKANEN, T., DIMA, B., KYTÖVUORI, I., AMMIRATI, J. F. & T. G. FRØSLEV (2014) - The largest type study of *Agaricales* species to date: bringing identification and nomenclature of *Phlegmacium* (*Cortinarius*) into the DNA era, *Persoonia* 33: 98-140.
- OERTEL, B. & D. LABER (1986) - Die Laugenreaktion an der Unterseite der Stielknolle bei Fruchtkörpern der Gattung *Cortinarius*, Untergattung *Phlegmacium* (Agaricales), *Z. Mykol.* 52(1): 139-154.
- OERTEL, B., SCHMIDT-STOHN, G. & G. SAAR (2009) - Die Laugenreaktion am Stielbasisfilz bei Fruchtkörpern von *Cortinarius*, Subgen. *Phlegmacium* - Eine Bestandsaufnahme 23 Jahre nach Entdeckung dieser neuartigen Reaktion, *Journ. J.E.C.* 11: 20-31.
- SAAR, G., DIMA, B., SCHMIDT-STOHN, G., BRANDRUD, T. E., BELLÜ, F., FRØSLEV, T. G., OERTEL, B. & K. SOOP (2014) - *Cortinarius* Untergattung *Phlegmacium* Sektion *Purpurascetes* in Europa, *Journ. J.E.C.* 16: 140-161.
- SCHMIDT-STOHN, G. & B. OERTEL (2009) - DNA-Analysen in der Pilz-Taxonomie, *Journ. J.E.C.* 11: 10-19.