

CHLOROPHYLLUM EN MACROLEPIOTA IN NEDERLAND

Nieuwe inzichten door moleculair onderzoek

Else C. Vellinga

861 Keeler Ave, Berkeley, CA 94708-1323, U.S.A.

Vellinga, E.C., 2003. *Macrolepiota* and *Chlorophyllum* in the Netherlands. New developments based on molecular analyses. *Coolia* 46(4): 177-188.

A combination of morphological and molecular characters divide *Macrolepiota* s. str. from *Chlorophyllum*. The latter harbours species with green spores, and species with white spores formerly reckoned to *Macrolepiota* sect. *Laevistipedes*. The morphological differences between the two genera are the structure of the pileus covering, the stipe covering, and the structure of the germ pore. *Chlorophyllum* is represented by four species in the Netherlands: *Chl. brunneum* (in the past known as *M. rachodes* var. *bohemica* or var. *hortensis*), *Chl. olivieri* and *Chl. rachodes*, and *Chl. molybdites* in greenhouses and other hot indoor environments. Key characters to distinguish *Chl. brunneum* from *Chl. rachodes* are the shape of the annulus, the shape of the bulb, and the shape of the cheilocystidia. A key to the European agaricoid species of *Chlorophyllum* is given.

Inleiding

Bestaat er een correlatie tussen de grootte van de vruchtlichamen en de mate van taxonomische opheldering, in andere woorden: hoe groter de paddestoelen, hoe helderder de soortgrenzen? Als het geslacht *Macrolepiota* (Parasolzwammen p.p.) onder de loep genomen wordt, is het antwoord op deze vraag een keihard 'nee'. De laatste jaren heb ik daarom speciaal aandacht besteed aan deze grote paddestoelen en hier wil ik een aantal van de resultaten samenvatten en presenteren.

Het is moeilijk aan *Macrolepiota*-soorten voorbij te lopen. Het zijn grote – tot een halve meter hoge stelen en even brede hoeden (!) – bruinschubbige zwammen die wegbermen, lichte bossen en weilanden opsieren. Ook de microscopische structuren zijn groot, voor parasolzwambegrippen. Sporen van 15 µm lang zijn normaal, en de basidiën zijn ook fors.

In de groep van *M. rachodes*, de Knolparasolzwam, was het jarenlang een komen en gaan van soorten en variëteiten, waarin De Kok (1991a en 1991b) en De Kok & Vellinga (1998) enige orde hebben geschapen. Zij toonden aan dat de kenmerken om *M. rachodes* van *M. bohemica* te onderscheiden zoveel overlap vertoonden, dat het bestaansrecht van *M. bohemica* miniem was. Maar ja, als je naar een nieuw gebied verhuist en daar zo'n abrupt-knollige *M. rachodes* ziet, hoe noem je die dan? Is het gewoon *M. rachodes*, en zo niet, wat zijn dan betrouwbare kenmerken om deze soort te onderscheiden?

Dat de Groenspoorparasolzwam, *Chlorophyllum molybdites*, en de Knolparasolzwam, *M. rachodes*, erg op elkaar lijken is niets nieuws. Moreno *et al.* (1995) synonymiseerden de twee geslachten, gebruikten de naam *Macrolepiota* voor het geheel en maakten een aparte sectie *Chlorophyllum* voor de groensporige soort. De vraag is natuurlijk, of de verschillen inderdaad zo klein zijn dat één geslacht gerechtvaardigd is.

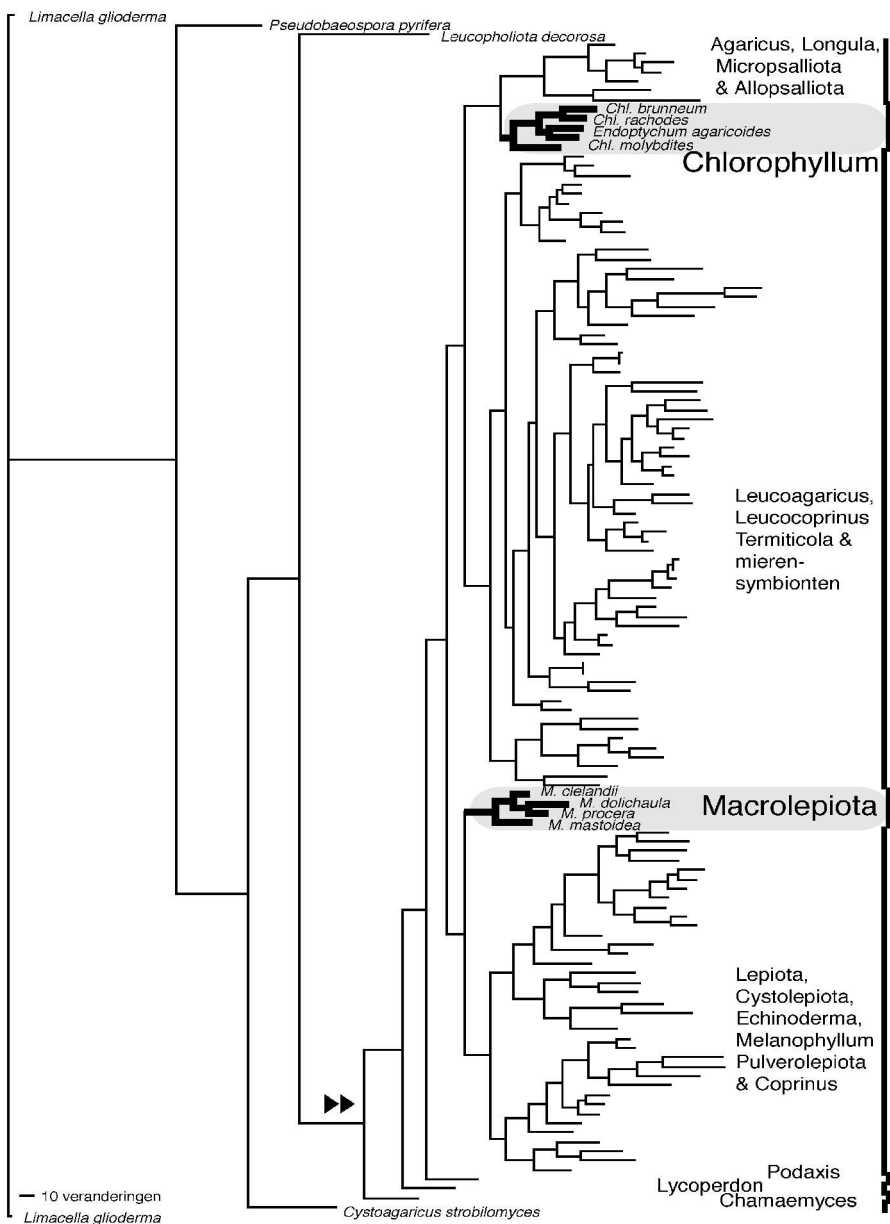
Een andere vraag behelst de indeling binnen het geslacht: horen *M. venenata* en *M. excoriata* (Rafelige parasolzwam) in dezelfde sectie omdat ze geen van beide gespen hebben (Singer, 1986), of is de indeling van Bon (1993) beter die ze in twee geheel verschillende secties plaatst, en ook een derde sectie onderscheidt op grond van een set van kenmerken (nl. de vorm van de ring en de vorm van de kiempore en het kapje erover)?

Moleculaire kenmerken en technieken bieden de mogelijkheid om dergelijke hypothesen te toetsen en nieuwe antwoorden te vinden op oude vragen. In het achterhoofd houden we natuurlijk wel dat geen enkele methode en geen enkel kenmerk op alle vragen een antwoord kan bieden. Zo heb ik de basenvolgorde van twee stukken DNA, namelijk ITS ('internal transcribed spacer') en LSU ('large subunit') bepaald, van vele collecties afkomstig uit vier werelddelen. Deze twee stukken DNA worden veel gebruikt in andere vergelijkbare studies (bijv. Johnson, 1999; Moncalvo *et al.*, 2002) en hebben geen functie voor het bepalen van het uiterlijk van de vruchtlichamen. Dit maakt ze bij uitstek geschikt om classificaties gebaseerd op morfologie te testen. Op grond van dit sequentieonderzoek heb ik nieuwe hypothesen opgesteld voor verwantschappen binnen de familie Agaricaceae (Vellinga, 2003b; Vellinga *et al.*, 2003). Hier kijken we nu speciaal naar de consequenties van dit onderzoek voor *Macrolepiota* in Nederland.

Welke geslachten?

De grootste verrassing was het feit dat *M. procera* (Grote parasolzwam) en *M. mastoidea* (Tepelparasolzwam) helemaal niet zo nauw verwant zijn met *M. rachodes* en *Chlorophyllum molybdites* als altijd gedacht. De twee groepen staan duidelijk apart van elkaar (Figuur 1) en worden nu als aparte geslachten opgevat: *Macrolepiota* dat o.a. *M. procera*, *M. mastoidea* en *M. excoriata* bevat, en *Chlorophyllum* met *Chl. molybdites* en *M. rachodes* en verwanten. Morfologische verschillen onderbouwen dit ook: *Macrolepiota*-soorten hebben een getijgerde steel en een hoedbedekking bestaande uit lange rechtopstaande haren, en sporen met een kleurloos kapje over de kiempore; *Chlorophyllum*-soorten hebben een gladde steel en een hoedbedekking opgebouwd uit korte cilindrische cellen die zeer dicht opeenstaan, en sporen met een vaak brede kiempore zonder kap. De verschillen in kiempore zijn essentieel: het is een depressie van de sporenwand in *Chlorophyllum*, en een echte wandonderbreking in *Macrolepiota* (Meléndez-Howell, 1967). De groep van *M. rachodes* wordt dus uit *Macrolepiota* verwijderd, waardoor *Macrolepiota* nu alleen de elegantere, slankere soorten bevat. Het concept van *Chlorophyllum* wordt sterker veranderd. Niet alleen worden er soorten bijgevoegd met ongekleurde sporen, ook een tropische soort zonder kiempore in de sporen hoort er nu bij, en *Endoptychum agaricoides*.

In allerlei groepen plaatjeszwammen, zoals Melkzwammen (*Lactarius*), Gordijnzwammen (*Cortinarius*) en Champignons (*Agaricus*), zijn soorten ontstaan waarvan de vruchtlichamen zich niet ontplooien en de vaak gekleurde sporen niet actief worden afgeschoten. Deze zogenaamde secotioïde vormen werden tot voor kort ondergebracht in aparte geslachten: *Zelleromyces*, *Thaxterogaster* en *Gyrophragmium* zijn voorbeelden die bij de drie bovengenoemde geslachten horen. Door moleculair onderzoek is aangetoond dat dergelijke vormen herhaalde malen zijn ontstaan, ook binnen één geslacht. Tot *Agaricus* behoren bijvoorbeeld *Longula texensis*, *Gyrophragmium dunalii* en *Endoptychum depressum*, en deze drie soorten zijn elk op zich nauwer verwant met 'echte' *Agaricus*-soorten dan met elkaar. Ook binnen *Chlorophyllum* is een dergelijke secotioïde soort ontstaan, *Endoptychum agaricoides*, die voorkomt in droge en steppe-achtige delen van Europa, Azië en Noord-Amerika. Het geslacht *Endoptychum* was tot voor kort een veilige haven voor soorten van diverse pluimage; eerder was er *Secotium* dat die rol had, te vergelijken met wat *Agaricus* voorstelde in de 19^e eeuw. *Endoptychum agaricoides* is de typesoort van *Endoptychum* en natuurlijk is de naam *Endoptychum* meer dan 50 jaar ouder dan *Chlorophyllum*. Officieel zou het geslacht dan *Endoptychum* moeten gaan heten - stel je



Figuur 1. De positie van *Macrolepiota* soorten binnen de Agaricaceae, gebaseerd op ITS en LSU sequenties. Eén van 2299 ‘Most Parsimonious Trees’ is weergegeven. *Limacella glioderma* is de buitengroep. Voor de leesbaarheid zijn de namen van alle andere taxa, behalve die van *Macrolepiota* en nauwe verwanten, weggelaten; namen van soorten die niet tot de Agaricaceae behoren zijn wel gegeven. De familie is aangeduid met een dubbele pijl.

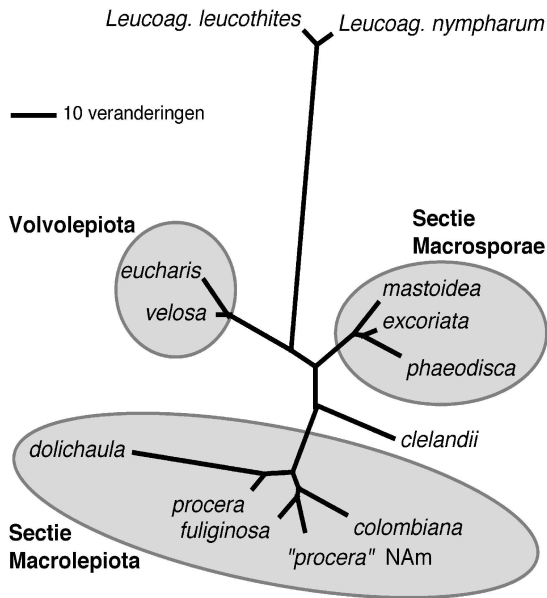
voor: *Endoptychum rachodes*! Sowieso niet zo'n goede oplossing, daar de naam niet erg wijd bekend is. *Endoptychum*-soorten verschillen onderling sterk en alleen de typesoort hoort bij *Chlorophyllum*; *E. depressum* bijvoorbeeld is een gesloten *Agaricus* uit de sectie *Arvenses*. En, last but not least, *Chl. molybdites* heeft zoveel vergiftigingen op zijn naam staan, dat afschaffen van de naam *Chlorophyllum* een zeer ongelukkige greep zou zijn. Gelukkig bieden de huidige naamgevingsregels de mogelijkheid om geslachtsnamen te conserveren, en een voorstel om *Chlorophyllum* te behouden en *Endoptychum* te verwerpen is inmiddels gelanceerd (Vellinga & De Kok, 2002).

In de Agaricaceae lijkt het erop dat een gekleurde sporenwand verschillende keren is ontstaan, en dat soorten met een gekleurde wand niet per se ook nauw verwant zijn. *Melanophyllum* en *Agaricus* bijvoorbeeld horen niet bij elkaar; *Melanophyllum* is nauw verwant met *Cystolepiota*-soorten, hetgeen de algemene bouw van het vruchtlichaam ook al aangeeft. In deze familie geldt, dat kenmerken van het velum en de opbouw van de trama belangrijker zijn dan sporenkenmerken.

De gekleurde sporen van *E. agaricoides* en *Chl. molybdites* en verwanten geven deze soorten waarschijnlijk een evolutionair voordeel doordat de gekleurde sporenwand sporen beschermt tegen uitdroging en UV-straling. Secotioïde soorten in open droge gebieden hebben donker gekleurde sporen.

Macrolepiota – Grote Parasolzwammen

Binnen *Macrolepiota* in afgeslankte vorm verandert er niet zo veel. De twee secties die Bon (1993) onderscheidde zijn ook op grond van moleculaire kenmerken prima te onderscheiden (Figuur 2): sectie *Macrolepiota* waartoe *M. procera* en *M. fuliginosa* behoren, en sectie *Macrospora* met *M. excoriata* en het complex van *M. mastoidea*. Er blijkt wel ontzettend weinig verschil in ITS te zijn in de groep van *M. mastoidea*, *M. konradii*, *M. psammophila* en *M. subsquarrosa*. Ook de morfologische verschillen tussen deze soorten zijn erg subtiel. Dit betekent niet automatisch dat ze allemaal tot één soort behoren.



Figuur 2. De structuur van *Macrolepiota* in afgeslankte vorm, ten opzichte van *Leucoagaricus leucothites* en *L. nymphaeum*, gebaseerd op ITS sequenties. De drie belangrijkste groepen zijn aangeduid. *Macrolepiota dolichaula* komt voor in Australië en Azië; *M. clelandii* komt ook in Australië voor, en in Nieuw-Zeeland; *M. eucharis* en *M. velosa* zijn tropische soorten met een volva.

Veel meer onderzoek aan veel meer collecties uit deze groep van een groot verspreidingsgebied is nog steeds hard nodig.

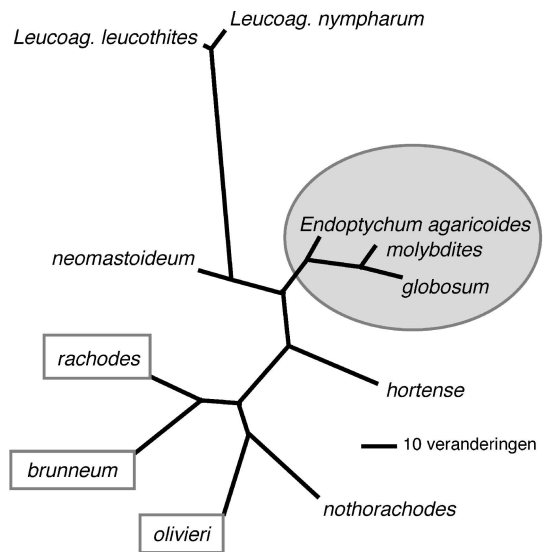
De derde groep in de moleculaire boom is een tropische groep, gekenmerkt door een volva aan de basis van de steel; deze soorten werden vroeger tot een apart geslacht, *Volvolepiota*, gerekend.

Juist in *Macrolepiota* zijn heel veel namen verkeerd gepubliceerd of verkeerd gebruikt. Neem de Grote parasolzwam, *Macrolepiota procera*, bekend van de gehele wereld. Bij nader onderzoek bleek dat collecties uit Australië gekenmerkt worden door 2-sporige basidiën en lange cilindrische cheilocystiden; deze soort werd beschreven als *M. clelandii* (Grgurinovic, 1997). In Zuid-Amerika werd de soort ook gemeld, maar ook daar bleek het om een andere soort te gaan, die door Franco-Molano (1999) *M. colombiana* werd gedoopt. De Noord-Amerikaanse vertegenwoordigers zijn ook duidelijk geheel anders dan de in Europa voorkomende zwammen (zie ook Figuur 2) en zijn nog in afwachting van een officiële beschrijving, en dan zijn er nog de Japanse vormen die, zij het minder duidelijk, ook van de Europese soort afwijken (Vellinga *et al.*, 2003). Nu lijkt het er dus op dat de Grote parasolzwam alleen in Europa voorkomt.

Chlorophyllum - Knolparasolzwammen

Ook binnen dit geslacht kunnen enkele duidelijke groepen onderscheiden worden (Figuur 3). De soorten met gekleurde sporen vormen een aparte groep (*Chl. molybdites*, de Afrikaanse *Chl. globosum* en *Endoptychum agaricoides*).

Binnen *Chlorophyllum* zijn de verschillen in ITS juist groot, dit in tegenstelling tot *Macrolepiota*. En zo blijkt dat het ITS van *Chl. olivieri* en dat van de abrupt-knollige soort uit Californië zeer afwijkt van dat van *Chl. rachodes*. Genoeg verschil in ITS en morfologische kenmerken om *Chl. olivieri* als aparte soort te onderscheiden, en om nummer drie ook als soort te erkennen. Deze derde soort is zeer wijdverspreid en komt zowel in Noord-Amerika, als in Australië en Europa voor. Dit is de soort die vaak *M. rachodes* var. *hortensis* werd genoemd (bijv. in Phillips, 1981). De Kok (1991a & b) had al aangegeven dat die naam niet geldig gepubliceerd



Figuur 3. De structuur van *Chlorophyllum*, ten opzichte van *Leucoagaricus leucothites* en *L. nympharum*, gebaseerd op ITS sequenties. De groep met de gekleurde sporen is aangegeven. De drie in Nederland voorkomende soorten van het *rachodes* complex zijn ook ge'oor'merkt. *Chlorophyllum neomastoideum* komt in Japan voor; *Chl. hortense* is een pan(sub)tropische soort zonder kiempore; *Chl. nothorachodes* is recentelijk uit Australië beschreven en lijkt sterk op *Chl. brunneum*, en *Chl. globosum* is een sterk op *Chl. molybdites* gelijkende Afrikaanse soort.

was, en dat de naam ‘*bohemica*’ gebruikt moest worden, als je dit taxon wilde onderscheiden. Bij nadere beschouwing bleek die naam evenmin geldig te zijn. Bij wat meer graven in de literatuur dook de naam ‘*brunnea*’ op, voor een uit het oosten van de Verenigde Staten beschreven soort. Deze naam was wel geldig gepubliceerd, het materiaal kwam overeen met wat onder de namen *bohemica* en *hortensis* beschreven was (Vellinga, 2003a), en is dus nu in *Chlorophyllum* gecombineerd (Vellinga, 2002). Rest nog de vraag hoe we deze soort kunnen herkennen. De abrupte knol is heel kenmerkend, maar ook de ring is karakteristiek. Die heeft aan de onderkant een stevige bruine zone, en geen dubbele kroon, zoals in *Chl. olivieri* en *Chl. rachodes*. Een derde verschilkenmerk is microscopisch: de cheilocystiden van *Chl. rachodes* zijn gesteeld-bolvormig tot knotsvormig, terwijl die van *Chl. brunneum* voornamelijk knotsvormig zijn (Figuur 4). Zoals ook al door De Kok (1991a & b) en De Kok & Vellinga (1998) aangetoond werd, zijn de grootte en de kleur van de schubben, en de grootte van de kiempore geen goede kenmerken om de taxa te onderscheiden. Omdat deze bevindingen sterk afwijken van de opvattingen die eerder in de *Flora agaricina neerlandica* zijn gepubliceerd (Vellinga, 2001), volgt een nieuwe sleutel tot de vijf *Chlorophyllum*-soorten die mogelijk in Nederland aan te treffen zijn.

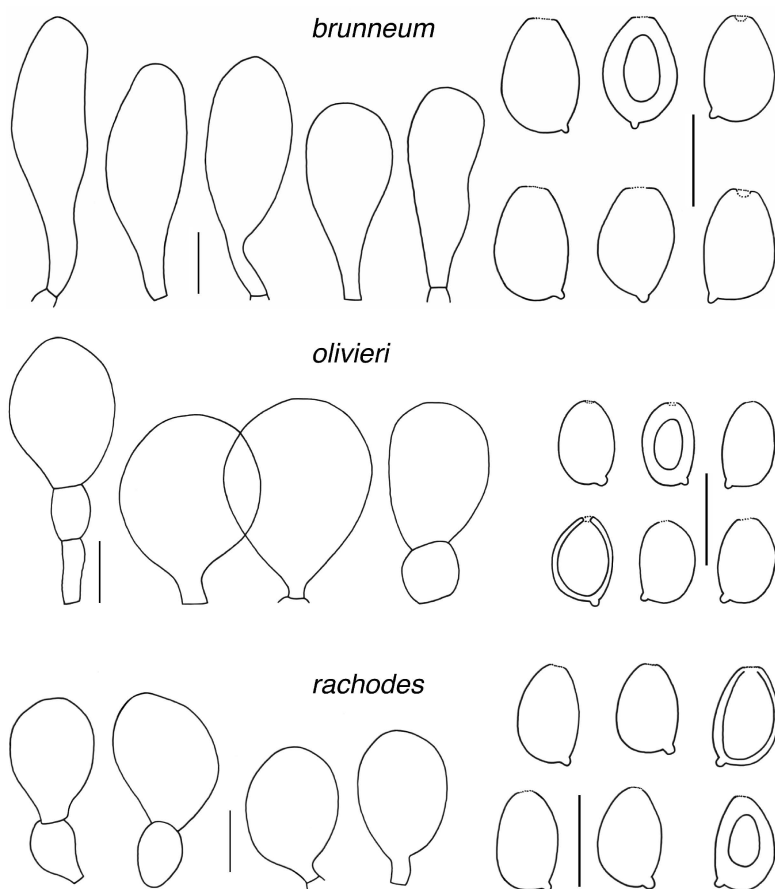
Intrigerend is de vraag hoe algemeen *Chl. rachodes*, *Chl. brunneum* en *Chl. olivieri* in Nederland zijn en in welke habitats ze voorkomen. Is er een duidelijk verschil in biotoop? Voor het karteringsproject werden deze drie soorten niet onderscheiden (*Chl. olivieri* werd als variëteit van *M. rachodes* beschouwd), en *Chl. rachodes* in wijde zin is de meest wijdverspreide soort van alle parasollen in Nederland. *Chlorophyllum olivieri* is bekend van sparrenbossen en de Zuid-Limburgse hellingloofbossen; *Chl. brunneum* is vooral op composthoven en binnenshuis in bloempotten en kassen te vinden. Ik ken *Chl. rachodes* van wegbermen en tuinen, groeiend tussen de straatstenen midden op een Amsterdamse gracht, en uit sparrenbossen.

Maar dit zijn slechts een paar losse waarnemingen. Met zijn allen moeten we in staat zijn om een completer beeld van de ecologie en verspreiding van deze soorten in Nederland te verkrijgen!

Sleutel tot de Nederlandse *Chlorophyllum*-soorten

1. Sporenfiguur groen; lamellen geheel groenachtig bij ouder worden; alleen in kassen en andere kunstmatig warm en vochtig gehouden habitats *Chl. molybdites*
1. Sporenfiguur wit of licht crèmekleurig; lamellen wit- of bruinachtig bij ouder worden, nooit geheel groen; er is soms een blauwachtige waas aan de top van de steel bij de aanhechtingsplaats van de lamellen
2. Hoedschubben met dezelfde kleur als de achtergrond (vaak olijfgachtig bruin, grijsachtig bruin); sporen (7,5-)8,0-11,0 x 5,5-7,0 μm , gemiddeld 8,7-10,0 x 5,8-6,6 μm *Chl. olivieri*
(zie afbeelding in Breitenbach & Kränzlin, 1995, fig. 256,
als *Macrolepiota rachodes* var. *rachodes*)
2. Hoedschubben bruin (lichtbruin, donkerbruin, roestbruin etc.) op een lichtgekleurde achtergrond, die duidelijk lichter is dan de schubben (in oude exemplaren kunnen de schubben dezelfde kleur hebben als de achtergrond); sporen 8,8-13 x 5,5-8,5 μm , gemiddeld 9,5-11,2 x 6,2-7,7 μm
3. Gespen afwezig aan de basis van basidiën en cheilocystiden
M. venenata (nog niet uit Nederland bekend)

3. Gespen aanwezig aan de basis van basidiën en cheilocystiden
4. Vruchtlichamen met een abrupte knolvormige steelbasis; de knol is soms duidelijk gerand; ring tamelijk eenvoudig, zonder dubbele kroon, maar met een stevige bruine plak aan de onderkant; sporen vaak met een afgeknotte top; cheilocystiden 20-51 x 9-19 μm , knotsvormig, slank knotsvormig *Chl. brunneum*
(zie afbeelding in Phillips, 1981, pag. 25
als *Macrolepiota rachodes* var. *hortensis*)
4. Vruchtlichamen met een knolvormig verbrede steelbasis, maar niet abrupt knolvormig; ring complex, met dubbele kroon; sporen of met afgeknotte of met afgeronde top; cheilocystiden 10-38 x 8,5-25 μm , bolvormig, gesteeeld bolvormig, breed knotsvormig of knotsvormig *Chl. rachodes*
(zie afbeelding in Breitenbach & Kränzlin, 1995, fig. 257,
als *Macrolepiota rachodes* var. *hortensis*)



Figuur 4. Overzicht van de sporen en cheilocystiden van *Chl. brunneum*, *Chl. olivieri* en *Chl. rachodes*. Maatstreepje is 10 μm .

Literatuur

- Bon, M., 1993. Flore mycologique d'Europe 3. Les Lépiotes. Documents mycologiques. Mémoire hors série 3: 1-153. Lepiotaceae Roze.
- Breitenbach, J. & Kränzlin, F. 1995. Pilze der Schweiz. Band 4. Blätterpilze 2. Teil. Verlag Mykologia, Luzern.
- Franco-Molano, A. E. 1999. A new species of *Macrolepiota* from Colombia. Actualidades Biológicas 21: 13-17.
- Grgurinovic, C.A. 1997. Larger fungi of South Australia. Adelaide, South Australia: Botanic Gardens of Adelaide and State Herbarium & Flora and Fauna of South Australia Handbooks Committee.
- Johnson, J. 1999. Phylogenetic relationships within *Lepiota* sensu lato based on morphological and molecular data. Mycologia 91: 443-458.
- Kok, R.P.J. de. 1991a. Verslag *Macrolepiota* onderwerp, Augustus 1990 - Januari 1991. Rijks-herbarium, Leiden.
- Kok, R.P.J. de. 1991b. Het geslacht *Macrolepiota* in Nederland. Coolia 34: 97-101.
- Kok, R.P.J. de, & Vellinga, E.C. 1998. Notulae ad Floram Agaricinam neerlandicam XXXII. *Macrolepiota*. Persoonia 17: 69-79.
- Meléndez-Howell, L.M. 1967. Recherches sur le pore germinatif des basidiospores. Annales des Sciences naturelles, Botanique, Paris, Sér. XII, 8: 487-638.
- Moncalvo, J.-M., Vilgalys, R., Redhead, S.A., Johnson, J.E., James, T.Y., Aime, M.C., Hofstetter, V., Verduin, S.J.W., Larsson, E., Baroni, T.J., Thorn, R.G., Jacobsson, S., Cléménçon, H. & Miller Jr., O.K. 2002. One hundred and seventeen clades of Euagarics. Molecular Phylogenetics and Evolution 23: 357-400.
- Moreno, G., Bañares, A. & Heykoop, M. 1995. *Macrolepiota molybdites* (Meyer: Fr.) comb. nov., new to the Canary Islands. Mycotaxon 55: 467-471.
- Phillips, R. 1981. Paddenstoelen en schimmels van West-Europa. Uitgeverij Het Spectrum, Utrecht/Antwerpen.
- Singer, R. 1986. The Agaricales in modern taxonomy. Ed. 4. Koeltz Scientific Books, Koenigstein.
- Vellinga, E.C. 2001. *Macrolepiota*. In: M.E. Noordeloos, Th.W. Kuyper & E.C. Vellinga (eds). Flora agaricina neerlandica 5: 64-73. A.A. Balkema Publishers, Lisse, Abingdon, Exton (PA), Tokyo.
- Vellinga, E.C. 2002. New combinations in *Chlorophyllum*. Mycotaxon 83: 415-417.
- Vellinga, E.C. 2003a. Type studies in Agaricaceae – the complex of *Chlorophyllum rachodes*. Mycotaxon 85: 259-270.
- Vellinga, E.C. 2003b. Phylogeny and taxonomy of lepiotaceous fungi. Proefschrift Universiteit Leiden.
- Vellinga, E.C. & Kok, R.P.J. de. 2002. (1539) Proposal to conserve the name *Chlorophyllum* Masee against *Endoptychum* Czern. (Agaricaceae). Taxon 51: 563-564.
- Vellinga, E.C., Kok, R.P.J. de & Bruns, T.D. 2003. Phylogeny and taxonomy of *Macrolepiota* (Agaricaceae). Mycologia 95 (3): 442-453.
-