

Zur Systematik der *Boletales*: *Suillus* und verwandte Gattungen

MICHAEL FISCHER, MARGIT JAROSCH,
MANFRED BINDER & HELMUT BESL

Fischer, M., M. Jarosch, M. Binder & H. Besl (1997) - On the systematics of the *Boletales*: *Suillus* and related genera. Z. Mykol. 63/2: 173 - 188.

Key words: *Boletales*, *Suillus*, *Boletinus*, cluster analysis, cytology, phylogeny.

Summary: Based on a region of the nuclear encoded ribosomal DNA, restriction analyses were performed with twelve species of *Suillus*, two species of *Gomphidius* and one species each of *Boletinus*, *Boletus*, *Chroogomphus* and *Rhizopogon*. The number of nuclei per hyphal segment was examined in *Suillus* and *Boletinus*. The obtained results were related to characters revealed by pigment chemistry, mycorrhizal associations and DNA content of nuclei.

A cluster analysis of restriction data using UPGMA resulted in a subdivision of *Suillus* and two groups were formed. *Suillus cothurnatus* was not included in these groups. Whereas the data set provided by pigment chemistry is in good agreement with these findings, only slight correlation was found between the cytological data and restriction data.

Boletinus cavipes was positioned more closely to the *Suillus* groups than *Suillus cothurnatus*, but according to the other data available was kept as a separate genus.

Taxa of *Suillus* and *Boletinus* in a mosaic like pattern exhibited both advanced and primitive characters. Current evidence suggests that within *Suillus* the taxa belonging to the section *Suillus* are advanced, whereas the taxa of the section *Larigni* are primitive. *Boletinus cavipes* seems closely related to the latter group.

A distinct delimitation between the Suillineae (*Suillus*, *Boletinus*, *Chroogomphus*, *Gomphidius* and *Rhizopogon*) and the Boletaceae (*Boletus*) was not possible. Most likely this was caused by different sizes of the DNA fragments generated by the polymerase chain reaction.

Zusammenfassung: Auf der Basis eines Abschnittes der ribosomalen DNA wurden zwölf Arten von *Suillus*, zwei Arten von *Gomphidius* und je eine Art von *Boletinus*, *Boletus*, *Chroogomphus* und *Rhizopogon* restriktionsanalytisch untersucht. Karyologische Untersuchungen wurden an den Vertretern von *Suillus* und *Boletinus* durchgeführt. Die gewonnenen Ergebnisse wurden in Beziehung gesetzt zu Merkmalen aus den Bereichen Pigmentchemie, Mykorrhiza-Bindung und DNA-Gehalt von Zellkernen. Eine Clusteranalyse der Restriktionsdaten mittels UPGMA ergab im wesentlichen eine Untergliederung von *Suillus* in zwei Gruppierungen. *Suillus cothurnatus* war keiner dieser Gruppierungen zuzuordnen. Diese Befunde stehen in recht guter Übereinstimmung mit den Pigmentierungstypen der Sippen. Die karyologischen Befunde ließen sich kaum einordnen.

Boletinus cavipes steht näher zu den *Suillus*-Gruppierungen als *Suillus cothurnatus*. Beruhend auf den anderen verfügbaren Merkmalen wird *Boletinus* jedoch weiterhin als eigenständige Gattung betrachtet. Die daraufhin untersuchten Arten von *Suillus* und *Boletinus* weisen mosaikartig abgeleitete und ursprüngliche Merkmale auf. Innerhalb *Suillus* sind die Arten der Sektion *Suillus* als eher abgeleitet, die Arten der Sektion *Larigni* als eher ursprünglich zu betrachten. *Boletinus cavipes* steht den Arten der Sektion *Larigni* am nächsten.

Eine eindeutige Abgrenzung der *Suillineae* (*Suillus*, *Boletinus*, *Chroogomphus*, *Gomphidius* und *Rhizogogon*) gegenüber den *Boletaceae* (*Boletus*) war nicht möglich. Höchstwahrscheinlich war dies verursacht durch unterschiedliche Größen der durch die Polymerase-Kettenreaktion erzeugten DNA-Fragmente.

Einleitung

Die Gattung *Suillus* Mich. ex S.F. Gray, die „Schmierröhrlinge“, ist eine der artenreichsten Gruppierungen innerhalb der *Boletales*, der Röhrlinge. Die Gattung umfaßt schätzungsweise 80 bis 90 Arten, ihr Verbreitungsschwerpunkt liegt eindeutig in der nördlichen Hemisphäre. So werden für Europa annähernd 30 Arten, für Nordamerika sogar etwa 50 Arten angegeben (SMITH & THIERS 1964, 1971; THIERS 1975; ENGEL et al. 1996). Nur wenige Sippen finden sich hingegen in der südlichen Hemisphäre (z. B. SINGER 1986, GARRIDO 1988).

In Deutschland zählen einzelne Vertreter der Gattung während der Pilzsaison zu den häufigsten Röhrlingen; wohl jeder interessierte Pilzfrend wird schon die Massenansammlungen des Goldröhrlings, *S. grevillei*, inmitten von oder nahe bei Lärchenbeständen bewundert haben. Weitere bekannte, zumindest lokal häufige, Schmierröhrlinge sind der Butterpilz, *S. luteus*, der Kuhröhrling, *S. bovinus*, oder der Sandröhrling, *S. variegatus*. Dem aufmerksamen Beobachter wird dabei die offensichtliche Bindung der einzelnen Arten an bestimmte Partnerbäume nicht entgehen. *Suillus*-Arten finden sich ausschließlich in Mykorrhiza-Beziehung zu Coniferen, wie beispielsweise Kiefer oder Lärche.

Die mittelgroßen bis großen, farblich oft auffälligen Fruchtkörper sind makroskopisch ausgezeichnet durch eine klebrige bis schleimige Oberfläche des Hutes, ein röhrenförmiges Hymenophor und einen oft beringten Stiel, der bei einigen Arten durch Drüsenpunkte, bestehend aus büschelig angeordneten Cystiden, punktiert ist. Mikroskopisch weisen *Suillus*-Arten die für die *Boletales* typischen länglich elliptischen Sporen mit glatter Oberfläche auf. Systematisch bedeutsam ist die Ausbildung der Stieloberfläche: Sie ist zu einem guten Teil fertil und bedeckt mit einem Caulohymenium, bestehend aus Caulobasidiolen, Caulocystiden und fertilen Caulobasidien (SUTARA 1987b). Nur ein kleiner Bereich des Stieles, nahe der Basis, bleibt konstant steril.

Über das Gattungskonzept von *Suillus* herrschen unterschiedliche Auffassungen (siehe weiter unten). Innerhalb der Gattung wird jedenfalls eine Reihe von Sektionen unterschieden, deren Eigenständigkeit unter anderem auf spezifischen Mykorrhiza-Bindungen der jeweiligen Sippen beruht (MOSER 1983, SINGER 1986). Das Vorhandensein verschiedener Gruppierungen innerhalb *Suillus* wird durch weitere Befunde gestützt. So zeigten karyologische Untersuchungen die Existenz verschiedener Ploidie-Stufen in *Suillus* (WITTMANN-MEIXNER 1989). Eine umfassende pigmentchemische Bearbeitung (zusammengefaßt in BESL & BRESINSKY 1997) ergab mindestens drei unterschiedliche Pigmentierungstypen, in aufsteigender Entwicklungslinie bezeichnet als Typ A (Arten ohne Grevilline, aber mit Pulvinsäuren), Typ B (Arten mit Grevillin A, B und/oder C) und Typ C (Arten zusätzlich mit Grevillin D).

Innerhalb der *Boletales* findet sich *Suillus* in der Familie der *Suillaceae* (Unterfamilie *Suilloideae* nach SINGER 1986), in offenbar enger verwandtschaftlicher Beziehung zu den Gattungen *Boletinus* Kalchbr. und *Gastrosuillus* Thiers. Zusammen mit den Familien der *Rhizopogonaceae* (mit der gastroiden Gattung *Rhizopogon* (Fr.:Fr.) Nordh.) und *Gomphidiaceae* (mit den lamelligen Gattungen *Chroogomphus* (Sing.) O.K. Miller und *Gomphidius* Fr.) wurden die *Suillaceae* kürzlich in der Unterordnung der *Suillineae* zusammengefaßt (BESL & BRESINSKY 1997). Diese Gruppe wird von pigmentchemischen, z.T. aber auch von molekularen Daten gestützt; darüber hinausgehend sind auch Mykorrhiza-Befunde bedeutsam (AGERER 1991).

Eine seit Jahren geführte, prinzipiell aber bis heute nicht abgeschlossene Diskussion betrifft die Beziehungen zwischen den Gattungen *Suillus* und *Boletinus*. Die enge Verwandtschaft zwischen diesen Taxa ist weithin unbestritten, unklar ist jedoch die Stellung von *Boletinus* als eigenständige Gattung. Der in Mitteleuropa vorkommende Vertreter der Gattung, *Boletinus cavipes*, der Hohlfußröhrling, ist gekennzeichnet durch einen zumindest an der Basis hohlen Stiel, durch eine trockene Hutoberfläche sowie durch radial gestreckte Poren (boletinoides Hymenophor); mikroskopisch zeichnet sich die Art durch eine sterile Stieloberfläche, das Nichtauftreten von büscheligen Cystiden, sowie das regelmäßige Auftreten von Schnallen (sowohl im Fruchtkörper als auch Mycel) aus. Entsprechend einigen *Suillus*-Arten ist *Boletinus cavipes* ein Begleiter von Lärchen.

Etwas verallgemeinernd lassen sich mit Hinblick auf die verwandtschaftliche Beziehung zwischen *Suillus* und *Boletinus* zwei verschiedene Modelle unterscheiden: Vertreter der in den Vereinigten Staaten geübten Richtung sehen *Boletinus* innerhalb von *Suillus* (SMITH & THIERS 1971, BRUNS et al. 1988; KRETZER et al. 1996); die europäische Richtung hingegen akzeptiert *Boletinus* als eigenständige Gattung (HØILAND 1987, KREISEL 1987, SUTARA 1987b, ENGEL et al. 1996, BESL & BRESINSKY 1997). PEGLER & YOUNG (1981) sowie JÜLICH (1982) legen den Merkmalen Schnallenbildung bzw. Sporenstaubfarbe großes Gewicht bei und stellen *Boletinus* und *Suillus* sogar in zwei unterschiedliche Familien, die *Gyrodontaceae* bzw. *Strobilomycetaceae*. Die in Europa geübte Deutung einer getrennten Stellung von *Suillus* und *Boletinus* wird neben den bereits genannten Merkmalen unterstützt durch die zweifellos gewichtigen chemotaxonomischen Befunde: Demnach weisen *Suillus* und *Boletinus* neben gemeinsamen offensichtlich auch spezifische, nur ihnen eigene, Inhaltsstoffe auf – prenylierte Phenole und Benzochinone bei *Suillus*, Cavipetine zumindest bei *Boletinus cavipes* (BESL & BRESINSKY 1997). Einschränkend gilt hier, daß die beiden anderen zu *Boletinus* eingeordneten Sippen, *Boletinus asiaticus* und *Boletinus paluster*, bislang chemisch nicht ausreichend untersucht sind.

Ein etwas vernachlässigtes Problem betrifft die Stellung von *S. bovinus* innerhalb *Suillus*. Beruhend auf Befunden zu Hymenophorrama und Stieloberfläche hatte SUTARA (1987a) für diese Art die monotypische Gattung *Mariaella* Sutara vorgeschlagen. Dieses Konzept wird teilweise durch die Pigmentausrüstung gestützt, indem das bei *S. bovinus* gefundene Methylbovinat sonst nirgends innerhalb *Suillus* auftritt (BESL & BRESINSKY 1997).

Unser Wissen betreffend *Suillus* und dessen verwandtschaftliches Umfeld beruht auf einer Reihe verschiedener Merkmalsbereiche. Morphologische und anatomische Aspekte erweisen sich als ebenso bedeutsam wie Informationen zur Ökologie oder Pigmentchemie; ausgehend von der Arbeitsgruppe um T. BRUNS (U.S.A.) sind seit einiger Zeit zunehmend auch molekulare Daten verfügbar gemacht worden (BRUNS et al. 1988, BRUNS et al. 1989, BRUNS & PALMER 1989, KRETZER et al. 1996).

Die vorliegende Untersuchung stützt sich neben molekularen, aus Restriktionsanalysen und z.T. Restriktionskartierung erarbeiteten, Daten auch auf Informationen zu Karyologie und Kulturverhalten. Vor allem die folgenden Detailfragen standen dabei im Mittelpunkt des Interesses:

1. Inwieweit lassen sich innerhalb *Suillus* die einzelnen Merkmalsbereiche in Übereinstimmung bringen?
2. Lassen sich innerhalb *Suillus* Entwicklungslinien von eher ursprünglichen zu eher abgeleiteten Sippen ermitteln?
3. Ergeben sich neue Informationen hinsichtlich der verwandtschaftlichen Beziehung zwischen *Suillus* und *Boletinus*?

Die Arbeit basiert auf folgendem Material (siehe auch Tab. 1): Zwölf Arten von *Suillus*, die vier der fünf von SINGER (1986) angenommenen Sektionen repräsentieren. Daneben berücksichtigt wurden zwei Arten der Gattung *Gomphidius* sowie je eine Art der Gattungen *Boletinus*, *Chroogomphus* und *Rhizopogon*. Somit waren sämtliche innerhalb der Suillineae geführten Gruppierungen einbezogen. Als Vertreter einer verwandten Gattung wurde für die vergleichenden DNA-Analysen der Steinpilz, *Boletus edulis*, gewählt, die Typusart der Gattung *Boletus*.

Material und Methoden

Die verwendeten Pilzstämme sind in Tab. 1 aufgelistet.

Kulturbedingungen: Die kultivierbaren Stämme wurden auf modifiziertem Moser b-Medium (0.05 g Inosit, 0.2 g Hefeextrakt, 0.5 g KH_2PO_4 , 0.5 g MgSO_4 , 2 g Pepton, 10 g Glucose, 20 g Maltose, 20 g Agar, in 1 l $\text{H}_2\text{O}_{\text{bid}}$.) oder auf Vitamin-Medium (FRIES 1978) bei 23° C und 65% Luftfeuchte im Dunkeln angezogen.

Kernfärbung: Zur Färbung der Kerne in vegetativen Mycelien von *Boletinus* und *Suillus* wurden Objektträgerkulturen benutzt (VAN UDEN 1951). Die Kerne wurden mit Giemsa gefärbt (KORHONEN & HINTIKKA 1974, FISCHER 1987). Die durch eine rosarote Färbung meist deutlich hervorgehobenen Kerne konnten unter dem Lichtmikroskop beobachtet werden. Pro Stamm wurden etwa 40 Hyphenabschnitte ausgewertet.

DNA-Isolierung: Für die Vertreter der Gattungen *Boletus*, *Chroogomphus* und *Gomphidius* wurde die DNA aus Fruchtkörpern (frisch gesammelt, herbarisiert oder lyophilisiert) isoliert. Die Fruchtkörper wurden dazu zunächst von Laub- und Nadelstreu befreit, der Länge nach halbiert und unter weitgehend sterilen Bedingungen mit Hilfe von Pinzette und Skalpell möglichst unbeschädigtes Material aus dem Hut entnommen. Für die DNA-Isolierung aus frischen Fruchtkörpern wurden 300 mg eingesetzt. Die Fruchtkörper wurden anschließend lyophilisiert und bis zur eventuellen Wiederverwendung bei -20° C aufbewahrt. Zur DNA-Isolierung aus herbarisiertem oder lyophilisiertem Material wurden möglichst steril jeweils 30 - 50 mg Hutmaterial entnommen.

Die einzelnen Schritte der DNA-Isolierung waren im wesentlichen wie bei LEE & TAYLOR (1990) beschrieben. Die DNA-Pellets wurden jedoch luftgetrocknet und durchwegs in 100 ml TE-Puffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0) aufgenommen. Konzentration und Zustand der DNA wurde auf 1% Agarosegelen (Boehringer, Mannheim) überprüft.

Für *Boletinus*, *Rhizopogon* und *Suillus* wurde die DNA aus Kulturmycel isoliert. Dazu wurde das Mycel mit einer sterilen Pinzette vorsichtig von der Agarplatte abgezupft und im weiteren wie oben beschrieben verarbeitet. Eine definierte Ausgangsmenge war hier nicht gegeben.

Tab. 1: Felddaten der verwendeten Stämme

Art	Stamm	Fundort	Funddatum	leg./det.
<i>Boletus edulis</i> Bull.:Fr.	Be3	Bayern	7.9.1995	Bresinsky
<i>Boletinus cavipes</i> (Klotzsch:Fr.) Kalchbr.	Bcav2	Bayern	19.9.1995	Binder
<i>Chroogomphus rutilus</i> (Schaeff.:Fr.) O.K. Miller	Chr1	Bayern	7.9.1995	Binder
<i>Gomphidius glutinosus</i> (Schaeff.:Fr.) Fr.	Gg1	Bayern	10.9.1995	Binder
<i>Gomphidius roseus</i> (Fr.) Fr.	Gro1	Bayern	7.9.1995	Beisenherz
<i>Rhizopogon luteolus</i> (Fr.:Fr.) Nordh.	621	Bayern	2.10.1985	Besl
<i>Suillus americanus</i> (Peck) Snell	TDB 577	USA	unbekannt	Bruns
<i>Suillus bovinus</i> (L.) O. Kuntze	Sbo1	Bayern	24.9.1995	Binder
<i>Suillus bovinus</i> (L.) O. Kuntze	825	Schweden	unbekannt	Fries
<i>Suillus brevipes</i> (Peck) O. Kuntze	808	USA	unbekannt	Berry
	(CBS 107.57)			
<i>Suillus cothurnatus</i> Sing.	590	USA	29.8.1986	Bresinsky
<i>Suillus granulatus</i> (L.) O. Kuntze	Sg1	Bayern	24.7.1995	Binder
<i>Suillus granulatus</i> (L.) O. Kuntze	Sg2	Bayern	24.9.1995	Binder
<i>Suillus grevillei</i> (Klotzsch:Fr.) Sing.	Sgr2	Bayern	3.10.1995	Binder
<i>Suillus grevillei</i> (Klotzsch:Fr.) Sing.	393	Bayern	5.8.1981	Besl
<i>Suillus grevillei</i> (Klotzsch:Fr.) Sing.	484	Bayern	10.7.1984	Luschka
<i>Suillus luteus</i> (L.) S.F. Gray	Sl1	Bayern	7.9.1995	Bresinsky
<i>Suillus luteus</i> (L.) S.F. Gray	396	Bayern	2.10.1980	Besl
<i>Suillus spraguei</i> (Berk. & Curt.) O. Kuntze	817	USA	1976	Billeci
	(CBS 214.76)			
<i>Suillus tomentosus</i> (Kauffm.) Sing., Snell & Dick	629	USA	13.10.1983	Trappe
<i>Suillus tridentinus</i> (Bres.) Sing.	Str1	Bayern	25.9.1995	Binder
<i>Suillus tridentinus</i> (Bres.) Sing.	347	Bayern	5.8.1980	Besl
<i>Suillus tridentinus</i> (Bres.) Sing.	468	Bayern	6.9.1984	Besl
<i>Suillus variegatus</i> (Sw.:Fr.) O. Kuntze	Sv1	Österreich	2.9.1995	Seidl
<i>Suillus variegatus</i> (Sw.:Fr.) O. Kuntze	Sv2	Bayern	15.9.1995	Binder
<i>Suillus variegatus</i> (Sw.:Fr.) O. Kuntze	Sv3	Bayern	24.9.1995	Binder
<i>Suillus viscidus</i> (Fr. & Hök) S. Rauschert	Sa1	Bayern	19.9.1995	Binder
<i>Suillus viscidus</i> (Fr. & Hök) S. Rauschert	Sa2	Bayern	5.10.1995	Binder
<i>Suillus viscidus</i> (Fr. & Hök) S. Rauschert	499	Bayern	26.9.1984	Besl
<i>Suillus viscidus</i> (Fr. & Hök) S. Rauschert	512	Bayern	26.9.1984	Besl

Polymerase-Kettenreaktion (PCR): Für herbarisiertes oder lyophilisiertes Material (Fruchtkörper) wurden die DNA-Proben in dest. Wasser 1:500 bis 1:1000, für frisches Material (Mycel, Fruchtkörper) 1:1000 bis 1:3000 verdünnt. Mit Hilfe der PCR wurden zwei verschiedene Fragmente innerhalb der kerncodierten rDNA amplifiziert. Das durch die Primer ITS1 und ITS4 definierte, mutmaßlich variabelere, Fragment beinhaltet die vollständigen internen transkribierten Spacer (ITS I und ITS II) sowie das vollständige 5.8S rRNA-Gen. Das durch die Primer 5.8SR und LR7 definierte, mutmaßlich konserviertere, Fragment beinhaltet die ITS II-Region sowie einen wesentlichen Abschnitt des 28S rRNA-Genes. In der Arbeit werden im wesentlichen nur die mit der ITS1-ITS4-Region gewonnenen Resultate berücksichtigt.

Die Sequenzen der verwendeten Primer (in 5'-3'Richtung) sind wie folgt:

ITS1: TCC GTA GGT GAA CCT GCG G

ITS4: TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC

5.8SR: TCG ATG AAG AAC GCA GC

LR7: TAC TAC CAC CAA GAT CT

Die PCR-Reaktionen wurden in 100 µl Volumen angesetzt und mit zwei Tropfen Mineralöl überschichtet. Durchwegs wurde die Technik der sogenannten Hot start-PCR angewendet (D'AQUILA et al. 1991). Für beide Fragmente wurden 37 Zyklen durchgeführt (Biometra TRIO-Thermoblock). Menge und Qualität der PCR-Produkte wurden durch Auftrag von 3-5 µl des Reaktionsansatzes auf 1% Agarosegelen überprüft. Der DNA Längenstandard VI wurde zur Abschätzung der Fragmentgrößen verwendet.

Restriktionsanalyse der PCR-Produkte: Die Aufreinigung der PCR-Produkte erfolgte wie in FISCHER (1995) angegeben. Für die Restriktionsanalyse wurden normalerweise 10 µl jedes PCR-Produktes in einem 20 µl Volumen verdaut. Verwendete Enzyme waren *Alu* I, *Bfa* I, *Bsh* 1236 I, *Csp*6 I, *Hae* III, *Hinf* I, *Hin*6 I, *Hpa* II, *Mbo* I, *Nla* III und *Taq* I. Die Bedingungen waren gemäß den Vorschriften der Hersteller (New England Biolabs; Boehringer, Mannheim; MBI Fermentas). Die Restriktionsprodukte wurden auf 2.3% bzw. 3.3% Agarosegelen aufgetrennt und die Größe der Fragmente durch Vergleich mit dem DNA Längenstandard VI abgeschätzt. Die Resultate wurden durch Fotografieren der Gele über einem UV-Transilluminator dokumentiert.

Numerisch-phänetische Auswertung der Restriktionsdaten: Bei allen Stämmen wurde für alle Enzyme die An- oder Abwesenheit der Restriktionsfragmente überprüft. Dies resultierte in einer binären 1/0 Matrix. Für alle Artenpaare innerhalb der Matrix wurden die S_{AB} -Werte als Ausdruck der Ähnlichkeit nach der folgenden Formel berechnet (NEI & LI 1979):

$$S_{AB} = \frac{2(n_{AB})}{n_A + n_B}$$

Dabei entspricht n_{AB} der Anzahl der Restriktionsfragmente, die den Stämmen A und B gemeinsam sind; n_A und n_B entsprechen der Gesamtzahl der Restriktionsfragmente der Stämme A und B.

Unter Anwendung der Beziehung Unähnlichkeit = 1 - Ähnlichkeit wurden die S_{AB} -Werte dann in eine Distanzmatrix übertragen. Die Erstellung der phänetischen Dendrogramme (auf den Ähnlichkeiten zwischen den Taxa beruhend) erfolgte mit Hilfe einer Cluster-Analyse durch UPGMA (unweighted pair group method using arithmetic averages).

Ergebnisse

Mycelwachstum: Für die in die Untersuchung einbezogenen *Suillus*-Arten wurde die Wachstumsgeschwindigkeit des Mycels näher bestimmt. Mit einer Ausnahme (*S. spraguei*) war das Wachstum auf Vitamin-Medium besser als auf modifiziertem Moser b-Medium. Im Vergleich zu anderen Vertretern der Boletales zeichnen sich *Suillus*-Arten durch ein recht schnelles Wachstum in Kultur aus. Für alle Arten wurde der Koloniedurchmesser nach einer Inkubationszeit von zwei Wochen bestimmt. Dabei ergab sich eine Einteilung in vier verschiedene Wachstumsgruppen; ein Wachstum von etwa 5 cm wurde für *S. spraguei*, ein Wachstum von etwa 3.5 cm für *S. americanus*, *S. brevipes*, *S. luteus*, *S. tomentosus*, *S. tridentinus* und *S. variegatus*, ein Wachstum von etwa 2 cm für *S. granulatus* und *S. viscidus* sowie ein Wachstum von etwa 1.5 cm für *S. bovinus*, *S. cothurnatus* und *S. grevillei* festgestellt. Artgleiche Stämme wuchsen im wesentlichen gleichartig.

Boletinus cavipes und *Rhizopogon luteolus* waren in ihrer Wachstumsgeschwindigkeit etwa gleichartig mit der schnellsten *Suillus*-Art (*S. spraguei*). *Boletus edulis* war durch extrem langsames

Wachstum gekennzeichnet und die Kolonien wiesen nach zwei Wochen einen Durchmesser von weniger als 1 cm auf. Keinerlei Wachstum konnte für *Chroogomphus* und *Gomphidius* erzielt werden.

Schnallenbildung: Gemäß den in der Literatur angegebenen Daten sollen Mycelkulturen von *Suillus* zumindest in Einzelfällen Schnallen an den Septen aufweisen (HÜBSCH 1961, FRIES & NEUMANN 1990). Dieser Befund konnte in der vorliegenden Arbeit nicht bestätigt werden und weder auf Moser b- noch auf Vitamin-Medium war jemals Schnallenbildung zu beobachten. Auch keiner der diesbezüglich untersuchten Fruchtkörper wies Schnallen auf.

Im Gegensatz dazu waren an den Hyphensepten von *Boletinus cavipes* sehr deutlich und regelmäßig Schnallen ausgebildet. Dies galt gleichermaßen für Fruchtkörper und Mycelkulturen.

Karyologie: Alle verfügbaren *Suillus*-Mycelkulturen wurden hinsichtlich ihrer Kernzahl je Hyphenabschnitt untersucht. Insgesamt war eine ausgeprägte Variabilität zu beobachten, und es fanden sich ein-, zwei-, mehr- (bis zu sechs Kerne/Hyphenabschnitt) und vielkernige (bis zu zwölf Kerne/Hyphenabschnitt) Arten (siehe Tab. 2). Abb. 1 zeigt *S. tridentinus*, Stamm 347, als Beispiel einer zweikernigen, Abb. 2 *S. tomentosus*, Stamm 629, als Beispiel einer vielkernigen Art.

Bei *Boletinus cavipes* erwiesen sich die Hyphenabschnitte als durchwegs zweikernig.

DNA-Isolierung: Eine erfolgreiche Isolierung von DNA war bei allen Stämmen der einbezogenen Arten, aus den Gattungen *Boletus*, *Boletinus*, *Chroogomphus*, *Gomphidius*, *Rhizopogon* und *Suillus*, möglich. Die Isolierung war aus Mycelkulturen und Fruchtkörpern gleichermaßen erfolgreich.

DNA-Amplifizierung: Beide gewählten rDNA-Abschnitte konnten für alle Sippen erfolgreich amplifiziert werden. Für die ITS1-ITS4-Region ergab die Gelelektrophorese der unverdauten PCR-Produkte unterschiedliche Fragmentgrößen (Abb. 3). Demnach war das Produkt 700 bp lang bei *Boletinus* und *Suillus*, 760 bp lang bei *Chroogomphus rutilus* und *Gomphidius glutinosus*, 800 bp lang bei *Boletus edulis* und *Gomphidius roseus* und 900 bp lang bei *Rhizopogon luteolus*.

Für die 5.8SR-LR7-Region ergab sich für alle einbezogenen Stämme eine einheitliche Produktgröße von etwa 1.9 kb.

Für keines der beiden Fragmente war eine intraspezifische Längenvariabilität zu beobachten.

Tab. 2: Kernzahl je Hyphenabschnitt in *Suillus*-Arten

einkernig	zweikernig	mehrkernig	vielkernig
<i>S. tridentinus</i> ¹⁾	<i>S. americanus</i> <i>S. bovinus</i> <i>S. brevipes</i> <i>S. cothurnatus</i> <i>S. granulatus</i> <i>S. spraguei</i> <i>S. tridentinus</i> ¹⁾ <i>S. viscidus</i>	<i>S. grevillei</i> <i>S. luteus</i>	<i>S. variegatus</i> <i>S. tomentosus</i>

¹⁾ Die beiden überprüften Stämme von *Suillus tridentinus* wiesen eine verschiedene Kernzahl/Hyphenabschnitt auf.

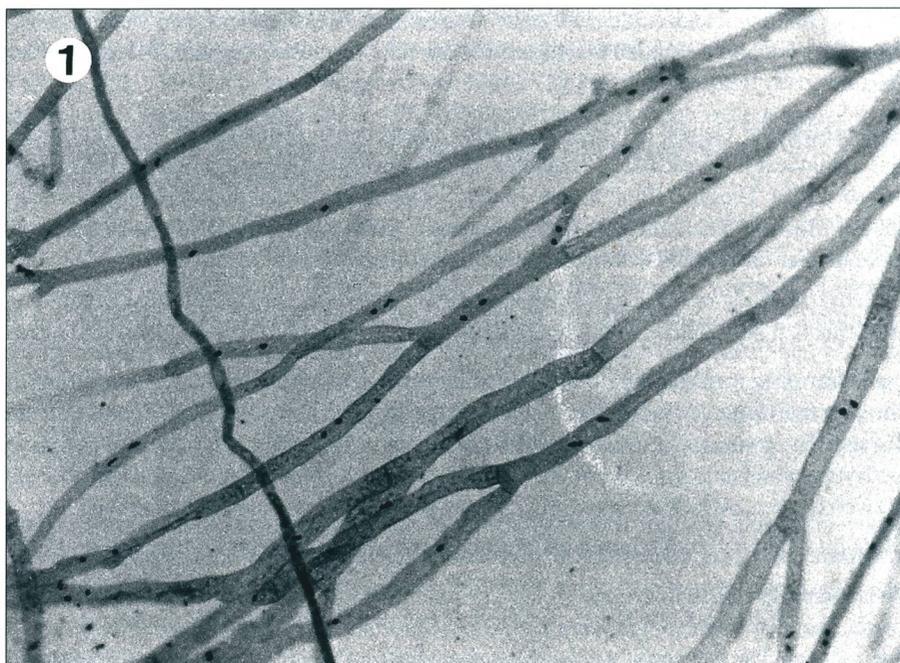


Abb. 1: Mit Giemsa gefärbte Kerne; zweikernige Hyphenabschnitte in *Suillus tridentinus*, Stamm 347.

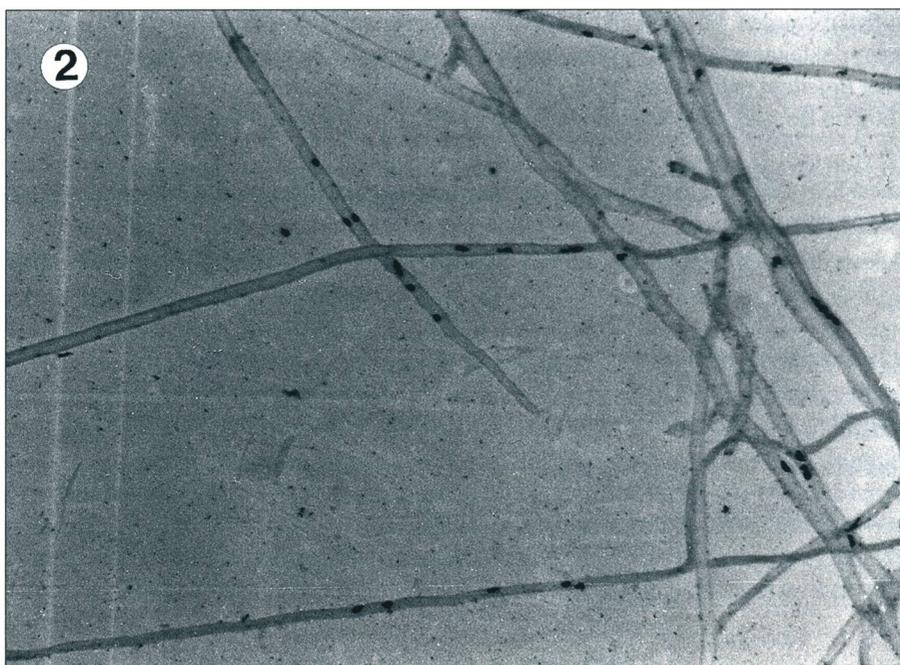


Abb. 2: Mit Giemsa gefärbte Kerne; vielkernige Hyphenabschnitte in *Suillus tomentosus*, Stamm 629.

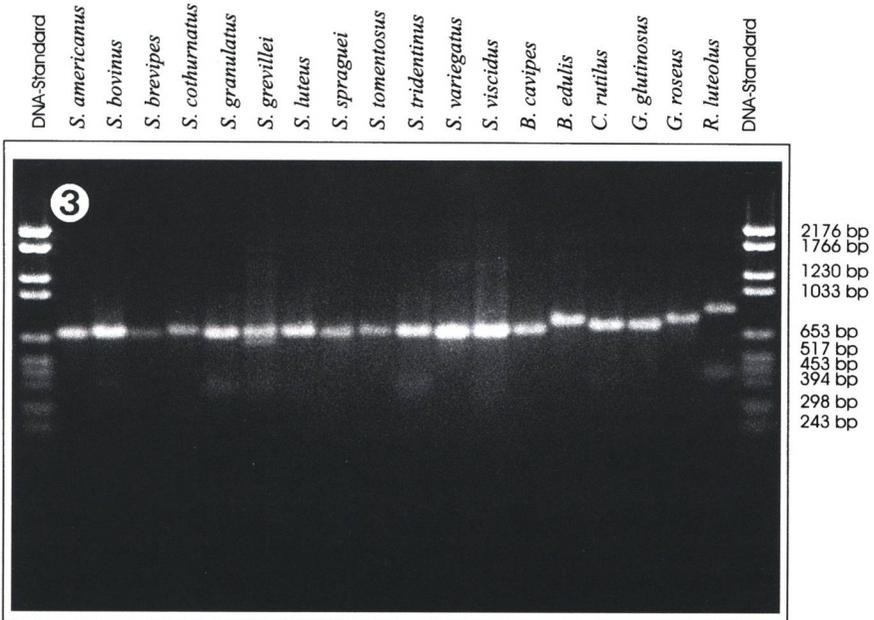


Abb. 3: PCR-Produkte der durch die Primer ITS1 und ITS4 definierten rDNA-Region. Fragmentgrößen in Basenpaaren. *S.* = *Suillus*; *B. cavipes* = *Boletinus cavipes*; *B. edulis* = *Boletus edulis*; *C.* = *Chroogomphus*; *G.* = *Gomphidius*; *R.* = *Rhizopogon*.

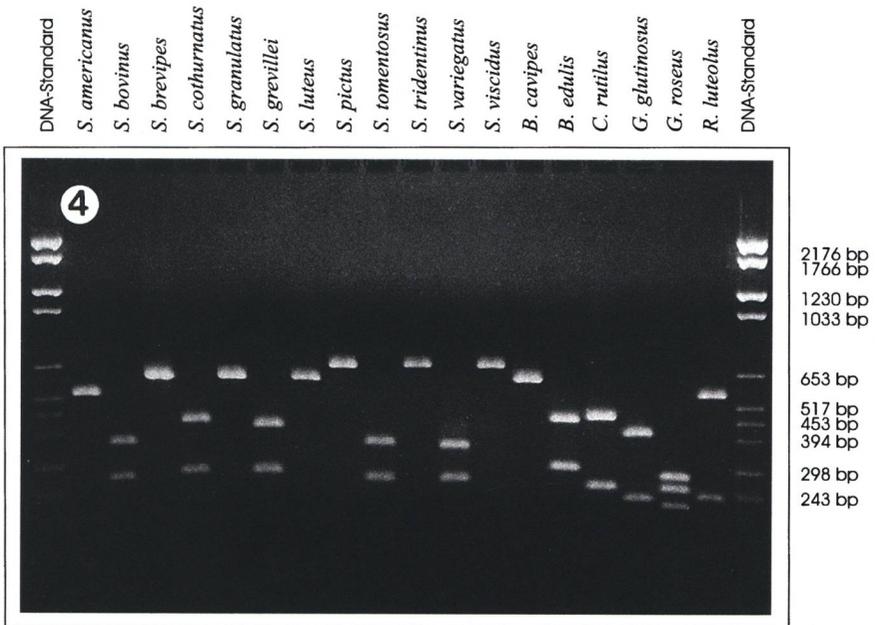


Abb. 4: Restriktionsfragmente nach Verdau mit *Alu I*. Fragmentgrößen in Basenpaaren. *S.* = *Suillus*; *B. cavipes* = *Boletinus cavipes*; *B. edulis* = *Boletus edulis*; *C.* = *Chroogomphus*; *G.* = *Gomphidius*; *R.* = *Rhizopogon*.

Restriktionsanalyse des ITS1-ITS4-Produktes: Das Produkt des Primerpaares ITS1-ITS4 wurde für alle einbezogenen 18 Sippen mit elf verschiedenen Restriktionsendonucleasen verdaut. Generell stellte sich das Problem, daß das Ausgangsprodukt durch eine Reihe von Enzymen in z.T. sehr kleine Fragmente gespalten wurde, die oft nur schwer auf den Agarosegelen auflösbar waren. Derartige Fragmente wurden in die nachfolgende phänetische Auswertung nicht mit einbezogen. Die meisten Phänotypen ergaben sich für *Hinf* I (15 Phänotypen innerhalb der 18 Arten), die wenigsten für *Csp*6 I (sechs Phänotypen). Abb. 4 zeigt das ITS1-ITS4-Produkt nach Verdau mit der Restriktionsendonuclease *Alu* I (neun verschiedene Phänotypen).

Clusteranalyse durch UPGMA: Beruhend auf der An- bzw. Abwesenheit der spezifischen Banden wurde eine Datenmatrix erstellt, die als Grundlage für die phänetische Auswertung diente. Das für die ITS1-ITS4-Region mittels UPGMA erstellte Dendrogramm ist in Abb. 5 dargestellt. Aufgrund ihrer mutmaßlich erhöhten Variabilität ist diese Region besonders für Fragestellungen auf dem Niveau verwandter Arten bedeutsam. Entsprechend beziehen sich die für *Suillus* bedeutsamen Aussagen sehr überwiegend auf diese Region.

Im wesentlichen ergibt sich eine Auftrennung in zwei größere nebeneinander stehende Bereiche. Die in Abb. 5 oben wiedergegebene Gruppe umfaßt die Arten *S. americanus*, *S. brevipes*, *S. luteus*, *S. granulatus* und *S. spraguei*. Die weiter unten stehende Gruppe umfaßt die Arten *S. tridentinus*, *S. viscidus*, *S. variegatus*, *S. tomentosus*, *S. bovinus* und *S. grevillei*.

Innerhalb der ersten Gruppe erscheinen *S. americanus* und *S. brevipes* (Distanz $D = 27\%$) sowie *S. luteus* und *S. granulatus* ($D = 22\%$) als Schwestertaxa. *S. spraguei* steht, isoliert, ebenfalls in dieser Gruppe ($D = 41\%$). Innerhalb der zweiten Gruppe zeigen sich *S. tridentinus* und *S. viscidus* ($D = 15\%$) sowie *S. variegatus* und *S. tomentosus* ($D = 26\%$) als Schwestertaxa. Mit zunehmender phänetischer Distanz stehen *S. bovinus* und *S. grevillei* ebenfalls innerhalb dieser Gruppe.

Eine Sonderstellung nimmt *Suillus cothurnatus* ein. Die Art ist keiner der beiden Gruppierungen zuzuordnen und steht in der beträchtlichen Distanz von 71%, von den anderen *Suillus*-Arten überdies getrennt durch *Boletinus cavipes*, dessen Distanz zu den *Suillus*-Gruppierungen 56% beträgt.

Die *Gomphidiaceae*, vertreten durch *Chroogomphus rutilus* und *Gomphidius glutinosus*, stehen als Schwestergruppe zu den *Suillaceae*. Die Stellung von *Gomphidius roseus* außerhalb der anderen *Gomphidiaceae* ist aller Wahrscheinlichkeit nach bewirkt durch die abweichende Größe des PCR-Produktes dieser Art. Generell dürfte die unerwartete Topologie in den Außenbereichen des Dendrogramms ihre Ursache in den Größenpolymorphismen der zugrundeliegenden PCR-Produkte haben.

Diskussion

In Abb. 6 sind die für *Suillus* und *Boletinus* in der vorliegenden Arbeit experimentell ermittelten Befunde aus DNA-Analytik (beruhend auf der ITS1-ITS4-Region) und Karyologie zusammengefaßt; aus der Literatur übernommen wurden die Angaben betreffend Sektionszugehörigkeit (nach SINGER 1986), Mykorrhiza-Bindung, Pigmentchemie (nach BESL & BRESINSKY 1997) und DNA-Gehalt der Zellkerne (nach WITTMANN-MEIXNER 1989). Nicht aufgenommen sind die Angaben zur Wachstumsgeschwindigkeit der Mycelkulturen.

Zusammenfassend ergeben sich die folgenden Aussagen:

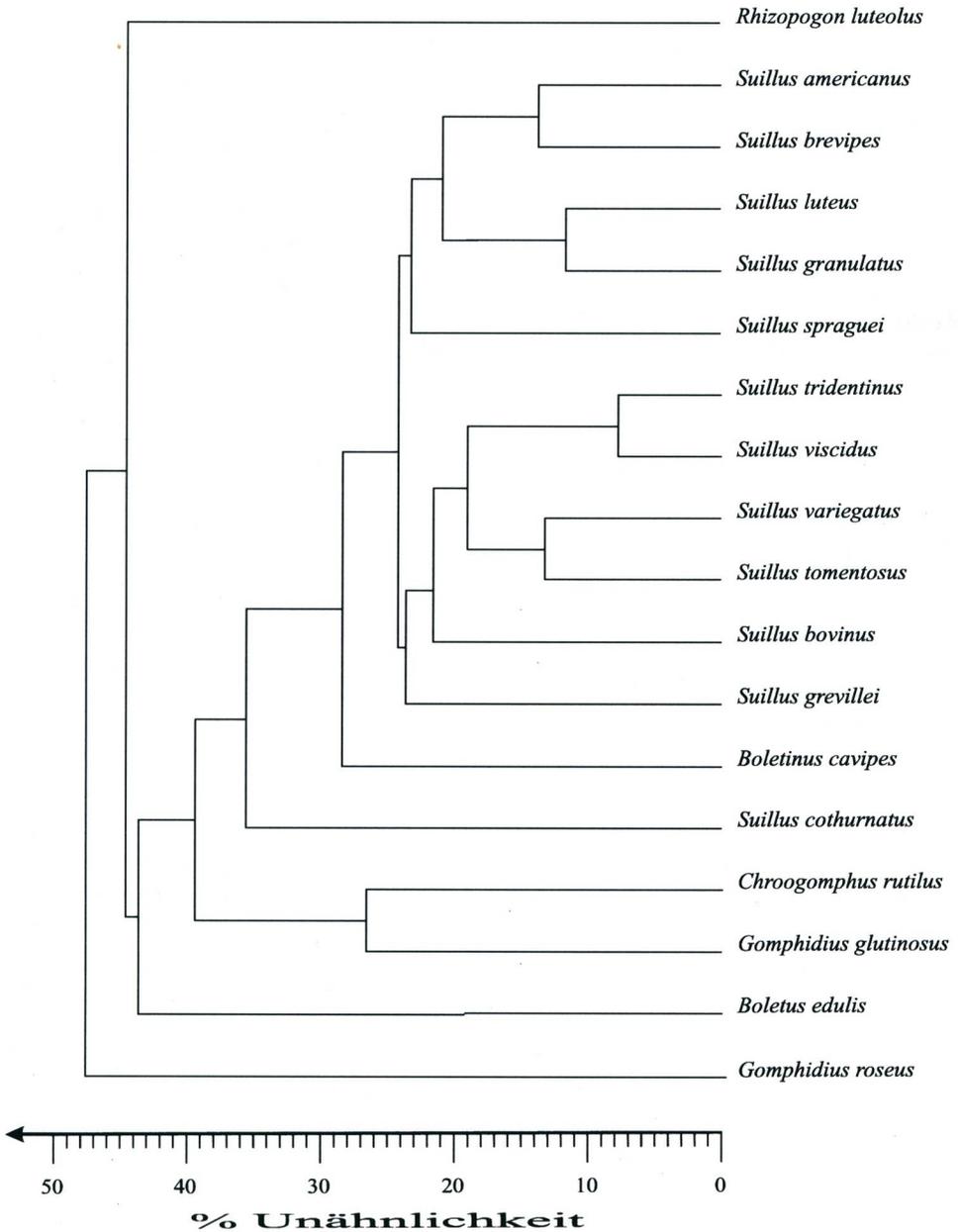


Abb. 5: Numerisch-phänetische Auswertung der auf der ITS1-ITS4-Region beruhenden Restriktionsdaten der untersuchten Arten von *Suillus*, *Boletus*, *Boletinus*, *Chroogomphus*, *Gomphidius* und *Rhizopogon* mit UPGMA.

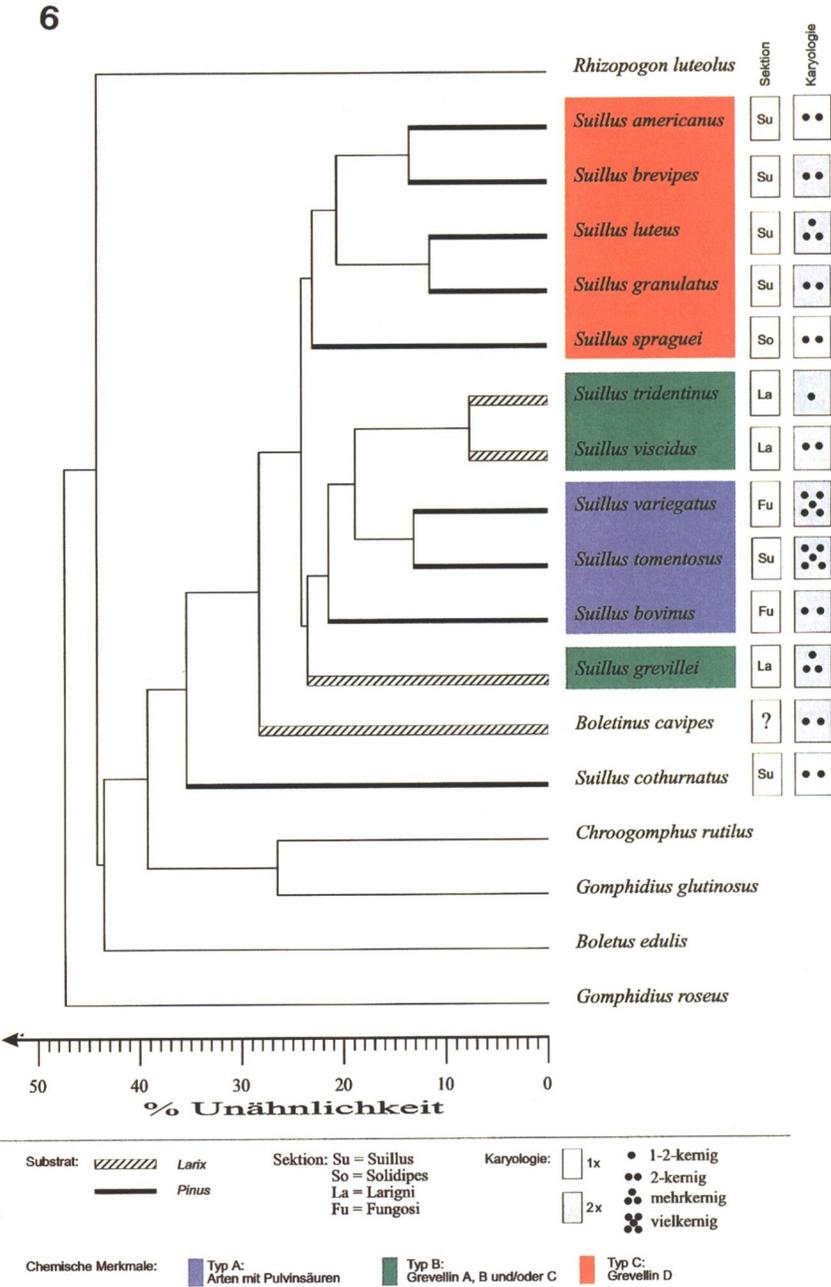


Abb. 6: Zusammenfassende Darstellung der DNA-analytischen und karyologischen Befunde. Mit aufgenommen sind Angaben zu Sektionszugehörigkeit und Mykorrhizabindung (überwiegend nach SINGER 1986), Pigmentchemie (nach BESL & BRESINSKY 1997) und DNA-Gehalt (nach WITTMANN-MEIXNER 1989). Dendrogramm beruhend auf Restriktionsanalysen der ITS1-ITS4-Region; numerisch-phänetische Auswertung mittels UPGMA.

1. Die einzelnen Merkmale lassen sich nur teilweise korrelieren.

Die DNA-Analysen zeigen eine Untergliederung der Gattung in verschiedene Bereiche, die nur teilweise in Übereinstimmung mit den innerhalb der Gattung diskutierten Sektionen stehen. Die kleinere Gruppe (im Dendrogramm oben angeordnet) umfaßt *S. americanus*, *S. brevipes*, *S. luteus*, *S. granulatus* (alle Sektion *Suillus*) und *S. spraguei* (Sektion *Solidipedes*); alle diese Arten sind durch den Pigmentierungstyp C gekennzeichnet. Die größere Gruppe (im Dendrogramm unten angeordnet) erweist sich als heterogener und umfaßt die Arten *S. tridentinus*, *S. viscidus* und *S. grevillei* (alle Sektion *Larigni*), *S. variegatus* und *S. bovinus* (beide Sektion *Fungosi*) und *S. tomentosus* (Sektion *Suillus*). Diese Gruppe beinhaltet die Pigmentierungstypen A und B, wobei die an *Larix* gebundenen Sippen - *S. grevillei*, *S. tridentinus* und *S. viscidus* - durch Typ B, die an *Pinus* gebundenen Sippen - *S. bovinus*, *S. tomentosus* und *S. variegatus* - durch Typ A gekennzeichnet sind. *Suillus cothurnatus* (Sektion *Suillus*) steht außerhalb dieser beiden Gruppierungen. Dies steht in Einklang mit Befunden aus der Pigmentchemie, wonach *S. cothurnatus* wegen nicht nachgewiesener Pulvinsäuren und Grevilline vorläufig keinem der Pigmentierungstypen - A, B oder C - zugeordnet werden kann (BESL & BRESINSKY 1997).

Vor allem die karyologischen Befunde - Kernzahl und DNA-Gehalt - lassen sich nur schwer mit den anderen Merkmalsbereichen in Einklang bringen. In beiden Gruppen finden sich sowohl zwei- als auch mehr- bis vielkernige Sippen. Zumindest tendenziell erwiesen sich die Arten der oberen Gruppe als zweikernig. Unser Befund mehrkerniger Hyphenabschnitte in *S. luteus* steht in teilweisem Gegensatz zu den Ergebnissen von FRIES & NEUMANN (1990), die *S. luteus* als zweikernige Art ausweisen. In den von uns untersuchten *S. luteus*-Stämmen fanden sich neben überwiegend mehrkernigen nur vereinzelt auch zweikernige Hyphenabschnitte. Die Mehrzahl der mehr- bzw. vielkernigen Arten gehört der unteren Gruppe an, zweikernige Sippen kommen aber auch hier vor. Bezüglich des DNA-Gehaltes zeigt sich am ehesten eine Korrelation mit der geographischen Herkunft. Demnach sind alle in die Studie einbezogenen europäischen *Suillus*-Arten (mit der möglichen Ausnahme von *S. viscidus*) durch eine mutmaßlich diploide Kernphase gekennzeichnet; mit der Ausnahme von *S. brevipes* weisen hingegen die aus den Vereinigten Staaten herrührenden Sippen - *S. americanus*, *S. spraguei* und *S. cothurnatus* - einen vergleichsweise geringeren DNA-Gehalt auf und sind mutmaßlich haploid.

Prinzipiell ist eine Gesamtbewertung der karyologischen Daten problematisch. So zeigt sich beispielsweise bereits innerhalb der Sektion *Suillus* das ganze Spektrum von haploid bis diploid und zwei- bis vielkernig. Zumindest das Auftreten verschiedener Ploidiestufen läßt sich in *Suillus* wohl nur begrenzt als systematisch relevantes Merkmal nutzen. Unabhängig von sonstigen Merkmalen dürfte die angedeutete Korrelation mit der geographischen Herkunft eher auf den unterschiedlichen Einfluß der Eiszeiten in Europa und Nordamerika zurückzuführen sein. Demnach liegt der Anteil höherploider Sippen in ehemals vergletscherten Gebieten oft höher (bedingt durch eine stärkere Ausbreitungsfähigkeit).

2. In *Suillus* finden sich tendenziell ursprüngliche neben tendenziell abgeleiteten Arten.

Sequenzanalysen führten zu dem Schluß, Verbindungen von *Suillus*-Arten mit Lärche als eher ursprünglich, Verbindungen mit Kiefer als eher abgeleitet zu betrachten (KRETZER et al. 1996). Die vorliegende Arbeit erlaubt stammesgeschichtlich relevante Aussagen nur sehr bedingt, da eine Auswertung von Restriktionsdaten in erster Linie nur das Ausmaß der Ähnlichkeiten zwischen den Taxa widerspiegeln kann. Das in Abb. 6 dargestellte Dendrogramm zeigt nun, daß die an Lärche gebundenen Arten, *S. grevillei*, *S. tridentinus* und *S. viscidus*, durchwegs in der unteren der

beiden großen Gruppierungen aufscheinen. Eine isolierte Stellung und eine entsprechende Interpretation als ursprünglich oder abgeleitet kann diesen Taxa daraus aber nicht zugeordnet werden. Überdies sind sie durch eine Reihe anderer Sippen voneinander getrennt. Die mit *Larix* vergesellschafteten Arten sind durchwegs durch das Auftreten des wohl weniger abgeleiteten Pigmentierungstyps B gekennzeichnet, was in Übereinklang mit ihrer von KRETZER et al. (1996) erarbeiteten Interpretation als ursprünglich stünde. Andererseits zeigen die karyologischen Daten eine beträchtliche Variabilität dieser Arten. Prinzipiell werden innerhalb eines Verwandtschaftskreises mehrkernige im Vergleich zu zweikernigen Sippen als eher abgeleitet beurteilt (BOIDIN 1971); demnach wäre *S. grevillei* abgeleitet gegenüber *S. viscidus* und *S. tridentinus* (und auch gegenüber allen anderen zweikernigen Sippen). Weitere Merkmale, die diese Idee unterstützen, lassen sich jedoch nicht beibringen. Auch innerhalb der an *Pinus* gebundenen Arten (zugehörig den Sektionen *Suillus*, *Fungosi* und *Solidipedes*) kommen sowohl zwei- als auch mehrkernige Sippen vor. Diese Arten zeichnen sich im übrigen durch zwei unterschiedliche Pigmentierungstypen aus, den eher ursprünglichen Typ A (*S. bovinus*, *S. tomentosus* und *S. variegatus*) und den sicherlich abgeleiteten Typ C (*S. americanus*, *S. brevipes*, *S. granulatus*, *S. luteus* und *S. spraguei*). Diese Befunde zeigen, daß die Mykorrhiza-Bindungen alleine für sich betrachtet wohl keine letztgültigen Aussagen hinsichtlich eines ursprünglichen oder abgeleiteten Zustandes einzelner Sippen erlauben. Immerhin können die Arten der Sektion *Larigni* in der Mehrzahl ihrer Merkmale als ursprünglich, die Arten der Sektion *Suillus* in der Mehrzahl ihrer Merkmale als abgeleitet betrachtet werden. Aufgrund der in dieser Arbeit diskutierten Merkmale erweist sich jedoch mit der möglichen Ausnahme von *S. luteus* keine einzige Art als durchwegs abgeleitet (zur Interpretation von *S. luteus* als moderner Art siehe auch SMITH & THIERS 1971).

3. *Boletinus cavipes*: ein ungelöstes Problem.

Die endgültige Beurteilung von *Boletinus* bleibt schwierig. Die molekularen Daten sehen *Boletinus cavipes* innerhalb *Suillus*, wenngleich in randlicher Stellung. Diesen Befunden zufolge wäre *Suillus* also keine monophyletische Gruppe. Die Bindung an *Larix* weist *Boletinus* in die mutmaßliche Nachbarschaft zu den Arten der Sektion *Larigni*. Dies wird zumindest tendenziell durch die Ergebnisse der Restriktionsanalysen bestätigt (Abb. 5, 6). Im Vergleich zu *Suillus* spricht eine Reihe von Merkmalen für eine eher ursprüngliche Stellung von *Boletinus cavipes*. Zu nennen wären hier das regelmäßige Auftreten von Schnallen, die Ausbildung eines boletinoiden Hymenophors (die Poren sind radial gestreckt, entsprechend läßt sich hier eine Anbindung an lamellige Arten sehen) oder auch die geringe Größe des mitochondrialen Genoms (BRUNS et al. 1988, BRUNS & PALMER 1989). Der taxonomische Wert der in *Boletinus cavipes* nachgewiesenen Cavipetine ist derzeit noch ungewiß, da weder die beiden anderen *Boletinus*-Arten, *Boletinus asiaticus* und *Boletinus paluster*, noch *Suillus*-Arten in größerem Maßstab auf dieses Merkmal hin untersucht werden konnten. Entsprechend kann nicht ausgeschlossen werden, daß Cavipetine auch in manchen Vertretern der Gattung *Suillus* gebildet werden.

Gemäß den Restriktionsanalysen steht *Boletinus cavipes* den beiden großen *Suillus*-Gruppen näher als *S. cothurnatus* (Abb. 5, 6). Wie oben bereits ausgeführt, kann *S. cothurnatus* derzeit keinem der drei beschriebenen Pigmentierungstypen innerhalb *Suillus* zugeordnet werden; prinzipiell ist die Art jedoch - bedingt durch das Auftreten lipophiler Pigmente - *Suillus* näherstehend als *Boletinus cavipes*.

Abgesehen von den vorgestellten DNA-analytischen Befunden spricht alles für eine eigenständige Stellung von *Boletinus cavipes*: die chemischen Daten ebenso wie das regelmäßige Auftreten

von Schnallen, die sterile Stieloberfläche sowie das Fehlen von büscheligen Cystiden. Weitere Untersuchungen werden notwendig sein, das Problem *Boletinus* einer Klärung zuzuführen:

- a) Überprüfung der beiden anderen von SINGER (1986) akzeptierten *Boletinus*-Arten, *Boletinus asiaticus* und *Boletinus paluster*, auf das Vorhandensein von Cavipetinen.
- b) Überprüfung von *Suillus*-Arten auf Cavipetine.
- c) Überprüfung frisch angelegter *Suillus*-Mycelkulturen auf Schnallen (es ist nicht auszuschließen, daß die Fähigkeit der Schnallenbildung bereits nach kurzer Kultivierungsphase verloren geht).

Ebenso wie für die in die Untersuchung einbezogenen *Suillus*-Arten gilt auch für *Boletinus cavipes*, daß innerhalb einer Art nebeneinander abgeleitete und ursprüngliche Merkmale vorliegen können. Insgesamt ist *Boletinus* jedoch als ein in vielen Bereichen vergleichsweise ursprüngliches Taxon zu sehen, darin am ehesten den Arten der Sektion *Larigni* zuzuordnen.

4. Zur Problematik von Restriktionsanalysen.

Bedingt durch die Stellung von *Gomphidius roseus* ließ sich die Unterordnung der Suillineae, beinhaltend die Familien der *Suillaceae*, *Gomphidiaceae* und *Rhizopogonaceae*, für die ITS1-ITS4-Region nicht eindeutig darstellen (Abb. 5, 6). Die ausgeprägte Längenvariabilität der entsprechenden PCR-Produkte erlaubte keine zuverlässigen Aussagen in dieser Hinsicht und die entfernte Stellung von *Gomphidius roseus* ist höchstwahrscheinlich auf die deutlich unterschiedliche Größe des PCR-Produktes und die damit einhergehende erhöhte Variabilität zurückzuführen. Eine Analyse der Schnittstellen der Restriktionsenzyme *Alu I*, *Hae III* und *Hpa II* zeigte denn auch, daß *Gomphidius roseus* hier sehr ähnlich zu *Gomphidius glutinosus* ist. Mittels Restriktionsanalysen gewonnene Aussagen sollten demnach nicht ohne eine kritische Überprüfung des methodischen Hintergrundes hingenommen werden.

Eine Auswertung von Restriktionsdaten beruhend auf einer insgesamt konservierteren Region der rDNA (Primerkombination 5.8SR-LR7) ergab eine eindeutige Abgrenzung der Suillineae gegenüber den durch *Boletus edulis* repräsentierten Boletaceae (Daten nicht gezeigt).

5. *Suillus bovinus*.

Suillus bovinus ist pigmentchemisch dem Typ A innerhalb *Suillus* zuzuordnen. Die Restriktionsanalysen stellten die Art in die größere der beiden *Suillus*-Gruppierungen, benachbart zu den anderen durch Typ A gekennzeichneten Sippen. Im Vergleich zu *Boletinus cavipes* ist *S. bovinus* demnach durch deutlich weniger Merkmale von den anderen *Suillus*-Arten getrennt; entsprechend sollte die Art weiterhin innerhalb *Suillus* geführt werden.

Danksagung

Wir danken Herrn Prof. Andreas Bresinsky für sein anspornendes Interesse an der behandelten Fragestellung sowie all denen, die Material beigebracht haben.

Literatur

- AGERER, R. (1991) - Studies on ectomycorrhizae XXXIV. Mycorrhizae of *Gomphidius glutinosus* and of *G. roseus* with some remarks on *Gomphidiaceae* (Basidiomycetes). *Nova Hedwigia* **53**: 127-170.
- BESL, H. & A. BRESINSKY (1997) - Chemosystematics of *Boletales*. Part 2: *Suillaceae* and *Gomphidiaceae* (suborder *Suillineae*). *Plant Syst. Evol.* **206**: 223-242.
- BOIDIN, J. (1971) - Nuclear behaviour in the mycelium and the evolution of the basidiomycetes. - In PETERSEN, R.H. (ed.): *Evolution in the higher basidiomycetes*, pp. 129-148. Knoxville.

- BRUNS, T.D., J.D. PALMER, D.S. SHUMARD, L.I. GROSSMAN & M.E.S. HUDSPETH (1988) - Mitochondrial DNAs of *Suillus*: three fold size change in molecules that share a common gene order. *Curr. Genet.* **13**: 49-56.
- BRUNS, T.D., R. FOGEL, T.J. WHITE & J.D. PALMER (1989) - Accelerated evolution of a false-truffle from a mushroom ancestor. *Nature* **339**: 140-142.
- BRUNS, T.D. & J.D. PALMER (1989) - Evolution of mushroom mitochondrial DNA: *Suillus* and related genera. *J. Mol. Evol.* **28**: 349-362.
- D'AQUILA, R.T., L.J. BECHTEL, J.A. VIDELER, J.E. ERON, P. GORCZYCA & J.C. KAPLAN (1991) - Maximizing sensitivity and specificity of PCR by preamplification heating. *Nucleic Acids Res.* **19**: 37-49.
- ENGEL, H., A. DERMEK, W. KLOVAK & E. LUDWIG (1996) - Schmier- und Filzröhrlinge *s.l.* in Europa. Weidhausen.
- FISCHER, M. (1987) - Biosystematische Untersuchungen an den Porlingsgattungen *Phellinus* QuéL. und *Inonotus* Karst. *Bibliotheca Mycologica* **107**: 1-133.
- (1995) - Zur Systematik der Boletales: Isolierung und Kennzeichnung von DNA aus Fruchtkörpern und Mycelkulturen. *Z. Mykol.* **61** (2): 245-260.
- FRIES, N. (1978) - Basidiospore germination in some mycorrhiza-forming hymenomycetes. *Trans. Br. Mycol. Soc.* **70**: 319-324.
- FRIES, N. & W. NEUMANN (1990) - Sexual incompatibility in *Suillus luteus* and *S. granulatus*. *Mycol. Res.* **94**: 64-70.
- GARRIDO, N. (1988) - Agaricales *s.l.* und ihre Mykorrhizen in den *Nothofagus*-Wäldern Mittelchiles. *Bibliotheca Mycologica* **120**: 1-528.
- HØILAND, K. (1987) - A new approach to the phylogeny of the order *Boletales* (*Basidiomycotina*). *Nord. J. Bot.* **7**: 705-718.
- HÜBSCH, P. (1961) - Das Vorkommen von Schnallen bei den Boletaceen. *Zeitschr. f. Pilzkunde* **27**: 110-113.
- JÜLICH, W. (1982) - Higher taxa of Basidiomycetes. 1. ed. Vaduz.
- KORHONEN, K. & V. HINTIKKA (1974) - Cytological evidence for somatic diploidization in dikaryotic cells of *Armillaria mellea*. *Arch. Microbiol.* **95**: 187-192.
- KREISEL, H. (ed.) (1987) - Pilzflora der Deutschen Demokratischen Republik. Jena.
- KRETZER, A., Y. LI, T. SZARO & T.D. BRUNS (1996) - Internal transcribed spacer sequences from 38 recognized species of *Suillus* *sensu lato*: Phylogenetic and taxonomic implications. *Mycologia* **88**: 776-785.
- LEE, S.B. & J.W. TAYLOR (1990) - Isolation of DNA from fungal mycelia and single cells. - In INNIS, M.A., D.H. GELFAND, J.J. SNINSKY & T.J. WHITE (eds): PCR protocols, a guide to methods and applications, pp. 282-287. San Diego.
- MOSER, M. (1983) - Die Röhrlinge und Blätterpilze. Stuttgart, New York.
- NEI, M. & W.H. LI (1979) - Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)* **76**: 5269-5273.
- PEGLER, D.N. & T.W.K. YOUNG (1981) - A natural arrangement of the *Boletales*, with reference to spore morphology. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* **76**: 103-146.
- SINGER, R. (1986) - The Agaricales in modern taxonomy. 4. ed. Koenigstein.
- SMITH, A.H. & H. THIERS (1964) - A contribution toward a monograph of North American species of *Suillus*. Ann Arbor.
- (1971) - The Boletes of Michigan. Ann Arbor.
- SUTARA, J. (1987a) - *Mariaella*, a new boletaceous genus. *Ceská Mykologie* **41**: 73-84.
- (1987b) - The limit between the genera *Boletinus* and *Suillus*. *Ceská Mykologie* **41**: 139-152.
- THIERS, H. (1975) - California mushrooms - a field guide to the Boletes. New York, London.
- UDEN, N. VAN (1951) - Eine einfache Methode zum Studium der Pilzmorphologie im allgemeinen und der vegetativen Anastomosen im besonderen. *Archiv für Dermatologie und Syphilis* **193**: 468-484.
- WITTMANN-MEIXNER, B. (1989) - Polyploidie bei Pilzen unter besonderer Berücksichtigung der *Boletales* - Möglichkeiten eines cytofluorometrischen Nachweises. *Bibliotheca Mycologica* **131**: 1-163.



Deutsche Gesellschaft für Mykologie e.V.
German Mycological Society

Dieses Werk stammt aus einer Publikation der DGfM.

www.dgfm-ev.de

Über [Zobodat](#) werden Artikel aus den Heften der pilzkundlichen Fachgesellschaft kostenfrei als PDF-Dateien zugänglich gemacht:

- **Zeitschrift für Mykologie**
Mykologische Fachartikel (2× jährlich)
- **Zeitschrift für Pilzkunde**
(Name der Hefreihe bis 1977)
- **DGfM-Mitteilungen**
Neues aus dem Vereinsleben (2× jährlich)
- **Beihefte der Zeitschrift für Mykologie**
Artikel zu Themenschwerpunkten (unregelmäßig)

Dieses Werk steht unter der [Creative Commons Namensnennung - Keine Bearbeitungen 4.0 International Lizenz](#) (CC BY-ND 4.0).



- **Teilen:** Sie dürfen das Werk bzw. den Inhalt vervielfältigen, verbreiten und öffentlich zugänglich machen, sogar kommerziell.
- **Namensnennung:** Sie müssen die Namen der Autor/innen bzw. Rechteinhaber/innen in der von ihnen festgelegten Weise nennen.
- **Keine Bearbeitungen:** Das Werk bzw. dieser Inhalt darf nicht bearbeitet, abgewandelt oder in anderer Weise verändert werden.

Es gelten die [vollständigen Lizenzbedingungen](#), wovon eine [offizielle deutsche Übersetzung](#) existiert. Freigibiger lizenzierte Teile eines Werks (z.B. CC BY-SA) bleiben hiervon unberührt.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Zeitschrift für Mykologie - Journal of the German Mycological Society](#)

Jahr/Year: 1997

Band/Volume: [63_1997](#)

Autor(en)/Author(s): Fischer Michael, Jarosch Margit, Binder Manfred, Besl Helmut

Artikel/Article: [Zur Systematik der Boletales: Suillus und verwandte Gattungen 173-188](#)