

Herbariedata – en skattekiste for mykologisk forskning

Håvard Kauserud

Biologisk Institutt, Universitetet i Oslo

E-mail: haavarka@bio.uio.no

Kontakt: haavarka@bio.uio.no

English title: Herbarium data – a treasure chest for mycological research

Kauserud H, 2012. Herbariedata – en skattekiste for mykologisk forskning. *Agarica* 2012, vol. 32, 59-65.

ABSTRACT

In this review I exemplify how fungal herbarium collection data can be used in mycological research. For many species, the collection dates may be used in phenological studies where changes in fruiting time are analyzed. Geographic coordinates of specimens can be used to infer species distributional ranges and to establish habitat/niche models for the species. Further, herbarium data can be used to obtain a comprehensive picture of species ecology and substrate affinities. DNA is routinely extracted from fungal herbarium material and used in taxonomy, systematics and evolutionary studies. Herbarium collections also serve as an important source for reference DNA sequences for DNA barcoding purposes. In future, collection data can be coupled with data from other sources, including GenBank, which will provide opportunities for new and exiting research areas. Fungal herbarium material is an extremely valuable source of information.

SAMMENDRAG

I denne oversiktsartikkelen gis ulike eksempler på hvordan herbariedata av sopp benyttes i mykologisk forskning. Innsamlingsdatoene for fruktlegemer kan benyttes i fenologiske

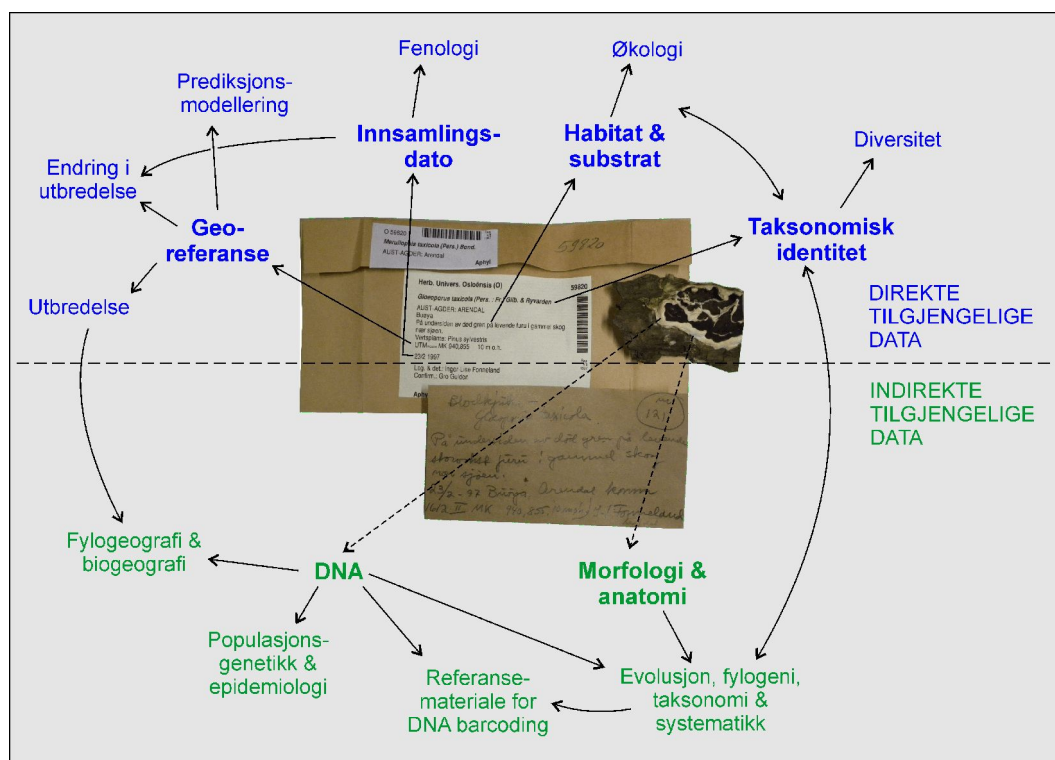
studier for så se på endringer i fruktifiserings-tidpunkt i lys av klimatisk variasjon. Georeferansene kan brukes til å utarbeide utbredelseskart og modellere arters utbredelse og habitatkrav. Ofte er data om substrat og habitat tilgjengelig og kan benyttes til å få en bedre oversikt over arters økologi. DNA ekstraheres rutinemessig fra belagte fruktlegemer og benyttes innen en rekke ulike felt, herunder innen evolusjonær, systematisk og taksonomisk forskning. Herbariemateriale er også av svært stor betydning for å bygge opp referansesekvensdatabaser for DNA-strekkoding (barcoding). I fremtiden vil herbariedata kunne kobles sammen med data fra en rekke andre kilder, herunder GenBank, og gi ny kunnskap. Herbariemateriale er en skattkiste for biologisk forskning og bør prioriteres og forvaltes deretter.

NØKKELOORD

Herbariemateriale; fenologi; taksonomi; utbredelse; DNA-strekkoding

INNLEDNING

I opp mot to hundre år har innsamlinger av sopp (kollekter) blitt belagt i soppherbarier, først og fremst i europeiske og nordamerikanske samlinger. Samlingene var først og fremst ment for dokumentasjon av det biologiske mangfoldet i naturen og som referansemateriale for taksonomiske studier. Spesielt viktig i denne sammenheng var, og fortsatt er, typemateriale. Etter hvert har samlingene fått andre funksjoner innen både forvaltning og forskning. I denne artikkelen fokuseres jeg først og fremst på anvendelsesområdene innen forskning. Informasjon fra herbarie-



Figur 1. Skisse som indikerer hvilke type data og forskning herbariedata kan gi opphav til.

Sketch illustrating different types of data and information that can be extracted from fungal herbarium collections and used for different research purposes.

materiale benyttes i dag innen nye og opprinnelig ikke tiltenkte forskningsdisipliner. Man kan grovt kategorisere den informasjonen man kan trekke ut fra herbariebelegg inn i ”direkte” og ”indirekte” anvendbare data (Fig. 1), hvor DNA-analyse av herbariekollekter eksempelvis sorterer under det siste. I det følgende gis en gjennomgang av ulike anvendelsesområder for mykologisk herbariedata.

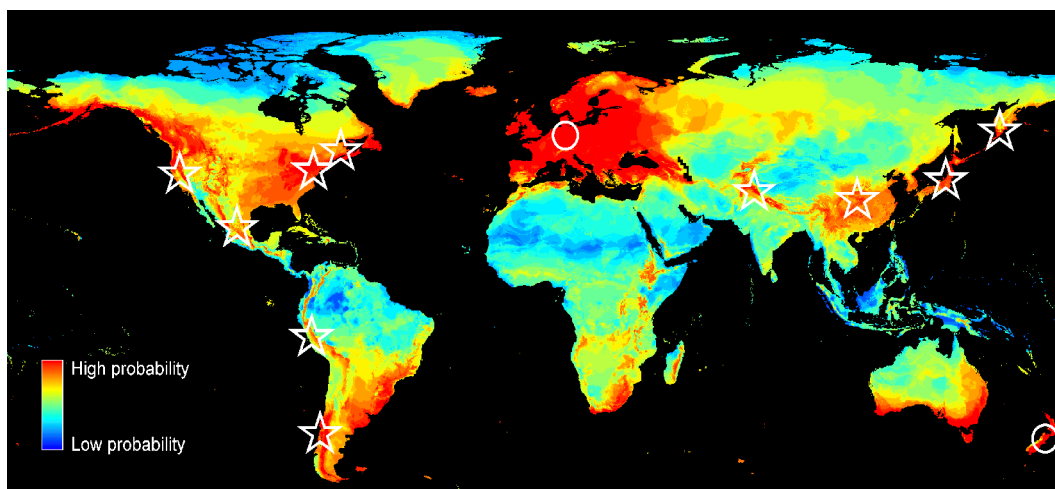
Direkte anvendbare data

Med direkte anvendbare data menes i denne sammenheng den basale informasjonen som følger med kollektør (som etter hvert gjøres mer og mer digitalt tilgjengelig), slik som taksonomisk tilhørighet, geografisk opprinnelse, habitat og substrat (økologi) og innsamlingsdato. Mye av den ekstra informasjonen som følger med kan omtales som ”metadata”.

Den taksonomiske informasjonen er grunnleggende og en forutsetning for andre analyser.

Innsamlingsdato

De fleste herbariekollekter kommer med en eksakt innsamlingsdato. Dette er informasjon som kan benyttes til fenologisk forskning. Fenologi er studiet av tilbakevendende fenomener i naturen. For soppers del er det først og fremst snakk om når de fruktifiserer. Denne typen fenologisk forskning gir kun mening hos arter med relativt kortvarige fruktlegemer, altså først og fremst hattsopper og en del begersopper. Ved å analysere innsamlingsdatoer (fruktifiseringstidspunkt) for en større mengde kollekter kan man si noe om når på året ulike sopp fruktifiserer. Videre, ved å se på innsamlingsdato i lys av år for innsamling kan man også forsøke å undersøke om det forekommer



Figur 2. Prediksjonsmodell over ekte hussopp (*Serpula lacrymans*) sin utbredelse på verdensbasis. Rød farge indikerer høy sannsynlighet for forekomst (passende miljøbetingelser) og blå farge lav sannsynlighet. Modellen er kun basert på kollektorer fra Europa og New Zealand (indikert med ring). Modellen angir høy sannsynlighet for forekomst en rekke steder hvor arten uavhengig er kjent fra (indikert med stjerner). Prediksjonskartet er generert ved hjelp av programmet openModeller på www.gbif.org.

Habitat distribution model for the dry rot fungus Serpula lacrymans on a global scale. The model was established using the program openModeller and only based on collections from Europe and New Zealand (circles). The model predicts suitable conditions (red colour) in areas not included in the modeling data where we know the fungus resides (indicated by stars).

endringer i fruktifiseringstidspunkt over tid. Variasjon i fruktifiseringstidspunkt kan også knyttets til klimatisk variasjon, for eksempel månedlige nedbør og temperaturforhold. Denne typen analyser har vist at vårsopper i Norge og England fruktifiserer tidligere nå enn for 40 år siden (Kauserud et al. 2010). Vårsoppene følger altså samme trend som planter, som knoppsskyter og blomstrer generelt tidligere nå enn noen tiår tilbake, og fugler, som generelt ankommer tidligere om våren.

Typiske høstsopper fruktifiserer derimot i gjennomsnitt noe senere nå enn tidligere (50 år siden) i Norge (Kauserud et al. 2008). Dette henger trolig sammen med at vekstsesongen er noe forlenget på grunn av et varmere klima. Ellers kan det se ut som fruktifiseringen om høsten nå starter tidligere og slutter senere enn for 40 år siden i en rekke europeiske land (Kauserud et al. 2012). Det er ellers viktig å legge til at det finnes en rekke ulike potensielle

feilkilder i denne typen analyser, noe som setter store krav til de statistiske analysene. For eksempel vil økt innsamlingsintensitet automatisk gi en videre fruktifiseringssesong hvis det ikke korrigeres for dette.

Geografisk opprinnelse

Kollektenes koordinater/georeferanse forteller med større eller mindre grad av sikkerhet hvor soppene er funnet. Til sammen vil denne informasjonen gi nyttig basal informasjon om arters utbredelse. Videre kan informasjonen benyttes til å lage "prediksjonsmodeller" over arters utbredelse (Fig. 2). I denne typen analyse kobler man informasjon om funnsted sammen med miljømessige forhold samme sted, for eksempel temperaturforhold, nedbør og geologi. Man kan så undersøke hvilke andre steder som har de samme voksestedbetingelsene og lage en prediksjonsmodell over hvor arten potensielt kan vokse. Det gjelder altså å ha

gode miljødata tilgjengelig i denne typen analyser. I et studie ble omtrent 80 miljøfaktorer koblet sammen med georeferansene til herbariekollekter fra ni sopparter og benyttet til å lage prediksjonsmodeller over disses potensielle utbredelsesområde (Wollan et al. 2008). Videre indikerte disse analysene at av alle miljøfaktorene var det temperaturforholdene som i størst grad kunne forklare artenes utbredelse. Spesielt for sjeldne og truede arter kan prediksjonsmodeller være nyttige for å avdekke mulige voksesteder. I et arbeide konstruerte vi en prediksjonsmodell over utbredelsen til den sjeldne laven fossefiltlav, som indikerte at arten kunne forekommer spredte steder i Nord-Norge i tillegg til i Sør Norge (Carlsen et al. 2012). Ikke lenge etter dukket arten opp nettopp i et av områdene i Nord-Norge hvor den var predikert å forekomme. Likeledes, i Fig. 2 er gjengitt en utbredelsesmodell for ekte hussopp basert på kollekter hovedsakelig fra Europa og New Zealand som gir en forbløffende god prediksjon av en rekke kjente lokaliteter.

Ved å koble samme informasjon om innsamlingsdato og geografi kan man potensielt også si noe om endringer i arters utbredelse over tid. I et nordamerikansk studie av grønn fluesopp (*Amanita phalloides*) ble kollekter fra de siste 70 årene brukt til å analysere hvordan arten har spredt seg etter den første etableringen i California på 1930-tallet (Pringle et al. 2009).

Økologi

Soppers økologi kan bedre forstås ved at store mengder informasjon om substrat og habitat fra herbariekollekter analyseres samlet. Man kan for eksempel undersøke saprotrofe soppers substratpreferanser eller hvilke vertsplanter mykorrhizasopp og parasittsopp opptrer sammen med. I et studie ble vertsplantene til grønn fluesopp (*A. phalloides*) i Europa og Nord-Amerika undersøkt basert på gjennomgang av metadata knyttet til herbariekollekter

(Wolfe og Pringle 2012). Grønn fluesopp har sin naturlige utbredelse i Eurasia og opptrer som invaderende art i Nord-Amerika (Wolfe og Pringle 2012). I dette arbeidet ble det påvist at på vestkysten av USA opptrer grønn fluesopp hovedsakelig sammen med eik, noe som også er hovedverten i Europa. På østkysten av USA opptrer derimot grønn fluesopp hovedsakelig sammen med furu og gran. Dette studiet indikerte at grønn fluesopp har liten vertsspesifisitet.

Indirekte anvendbare data

Herbariedata benyttes uttrakt til morfologiske og genetiske studier. Mikroskopianalyser av belagte fruktleger er av uvurderlig betydning innen taksonomi og systematikk; de beste skillekarakterer hos sopp er gjerne mikroskopiske. I løpet av de siste 20 årene har DNA analyser blitt stadig mer utbredt innen biologisk forskning, og i så henseende utgjør herbariemateriale en svært viktig kilde. I utgangspunktet kan DNA ekstraheres fra alt herbariemateriale, men grad av suksess avhenger av alder på materiale, hvordan det er preservert og hvilke art det dreier seg om. Det er enklest å jobbe med nylig innsamlede og belagte fruktleger, men det er fullt mulig å trekke ut anvendbart DNA fra over to hundre år gammelt materiale (Larsson og Jacobsson 2004). Det er i denne sammenheng i stor grad et spørsmål hvor mye tid og penger man har anledning til å benytte til å analysere materialet. Til sammenlikning har man sekvensert genomet til en neandertal-dame basert på 38.000 år gamle beinrester. Noen sopparter synes å bevare DNA'et langt bedre enn andre arter. For eksempel kan det være enkelt å jobbe med arter som har tørketolerante og bestandige fruktleger. Det er derimot gjerne vanskeligere å jobbe med arter som har kortvarige fruktleger.

Evolusjon, systematikk og taksonomi

Analyser av DNA fra herbariekollekter be-

nyttes rutinemessig for å studere soppers evolusjon, systematikk og taksonomi. DNA-regionene som i størst grad anvendes for å studere soppenes slektskap er ulike deler av det ribosomale DNA'et. Ved hjelp av DNA ekstrahert hovedsakelig fra herbariemateriale ble for eksempel slektskapet mellom 36 ulike arter fra slekten klokkehatt (*Galerina*) undersøkt (Gulden et al. 2005). Disse analysene avdekte at klokkehattene er en kunstig, såkalt polyfyletisk gruppering, som bør splittes opp i flere ulike slekter. Som så ofte før dreier deg seg om at konvergent evolusjon har ført til at ulike soppgrupper ser svært like ut morfologisk.

DNA-analyser av herbariemateriale kan videre benyttes i fagfeltene biogeografi og fylogeografi til å studere populasjoner og arters geografiske utbredelse og disses historiske spredningsveier. Vi har i en rekke arbeider benyttet herbariemateriale til å undersøke hvordan genetisk variasjon er fordelt geografisk (se for eksempel Kauserud et al. 2004, Seierstad et al. 2012). Ved genetiske analyse av herbariekollekter av blodkjuke (*Gloeoporus taxicola*) fra ulike deler av verden fant vi ut at denne arten inkluderer to ulike genetiske grupperinger (trolig to ulike arter), med ulike utbredelser og substratkrav, som trolig hybridiseres med hverandre i områder hvor de forekommer sammen (Seierstad et al. 2012).

Herbariemateriale av sopp har også blitt benyttet i populasjonsgenetiske og epidemiologiske studier. Den 'primitive' soppen *Batrachomyces dendrobatidis* ('Bd') (Chytridiomycota) utgjør en stor trussel for mange amfibiearter verden over ved at den infiserer skinnet til amfibiene og ødelegger gassutvekslingen. Den såkalte Bd-epidemien har spredt seg ut globalt og har ført til den mest omfattende 'naturlige' utryddelsen av arter vi kjenner til. Ved å analysere amfibier preservert på museer og gjøre DNA-analyser av *B. dendrobatidis* som forekommer i disse prøvene, kartla Cheng et al. (2011) den tidlige spred-

ningen av Bd-epidemien i Latin-Amerika.

Referansemateriale for DNA strekkoding (barcoding)

DNA-strekkoding (eller DNA barcoding) omhandler grovt sagt DNA sekvensering av en kort DNA region i den hensikt å finne ut hvilke(n) art(er) man har å gjøre med. Dette har blitt et svært viktig verktøy innen ulike forskningsfelt. Spesielt inne mikrobiologi og mykologi er det av enorm betydning, i og med at DNA-strekkoding setter oss i stand til å undersøke soppene i deres mikrobielle og vegetative fase og ikke kun som fruktlegemer. Ved å trekke ut DNA fra for eksempel en jord- eller planteprøve og DNA-strekkode dette materialet, kan man finne ut hvilke sopparter som forekommer i miljøprøven. Men for å kunne koble DNA'et fra det ukjente materialet til en kjent art er man helt avhengig av å ha gode referanse-DNA-sekvenser fra kjente arter. I denne sammenheng er herbariemateriale av svært stor betydning. Den enkleste måten å bygge opp gode referansesamlinger av DNA-sekvenser er å ta utgangspunkt i herbariemateriale bestemt av taksonomiske eksperter. Et eksempel på en referansesamling av DNA-sekvenser for DNA-strekkoding er databasen UNITE, som i utgangspunktet ble lagd for DNA-strekkoding av mykorrhizasopp (Köljalg et al. 2005). Per i dag (19 august 2012) er det belagt 3888 referansesekvenser fra 1511 arter i UNITE. I en studie hvor herbariekollekter fra Kew ble analysert, ble det påvist at om lag 70% av kollektene ennå ikke er representert i DNA-sekvensdatabaser (Brock et al. 2008). Herbarier representerer med andre ord et stort skattkammer for videre arbeid med DNA-strekkoding.

Feilkilder

Analyse av data fra herbariekollekter setter store krav til korreksjon for assosierte feil. Det finnes opplagt en rekke ulike feilkilder. Ikke sjelden er materialet feilbestemt, spesielt i takso-

nomisk vanskelige grupper. Hva gjelder vanskelige slekter, bør man holde seg til materiale som er bestemt eller verifisert av faglige autoriteter. Videre kan de assosierte metadataene være feil, enten dette har oppstått hos registranten eller under digitalisering. Hvert eneste herbariekollekt inneholder dessuten en rekke ulike organismer, det være seg parasitter, symbionter eller mer 'tilfeldige passasjerer'. I forbindelse med DNA-analyse kan man altså risikere å analysere ulike parasitter eller symbionter assosiert med kollektet i stedet for arten man er interessert i. Man bør i denne sammenheng verifisere resultatene opp mot andre kilder.

Hva vil fremtiden bringe?

Ovenfor er nevnt et noe tilfeldig utvalg av forskningstema, men det finnes opplagt andre uante muligheter for forskning på herbariedata. Kobling av data fra ulike kilder, herunder samlingsdatabaser, GenBank, litteratur og geografisk stedfestet informasjon om naturforhold, bør kunne føre til mye ny kunnskap i fremtiden. For å gi ett eksempel, i en studie basert på herbariedata, hvor vi ellers brakte inn data fra en rekke andre kilder, fant vi en klar sammenheng mellom soppers sporestørrelse, deres fruktifiseringstidspunkt, geografisk utbredelse og klimatisk variasjon (Kauserud et al. 2011). Hattsopper med store sporer fruktifiserer typisk tidligere i sesongen enn arter med små sporer. Videre, arter med mindre sporer påtreffes oftere i kyststrøk, mens arter med større sporer er vanligere i kontinentale strøk. Disse resultatene kan kobles til sporenes behov for vanntilgang under sporespiring.

Hovedbudskapet i denne teksten er at herbariedata representerer en skattkiste for biologisk forskning og bør prioriteres og forvaltes deretter. Dessverre bevilges det lite øremerkede midler til denne virksomheten per i dag. Videre hender det ikke sjelden at arbeidet med selve arvesølv på naturhistoriske museer nedprioriteres til fordel for aktiviteter med

mer kortsiktig gevinst.

Takk til

En stor takk til alle som samler inn materiale til sopphebarier, ansatte ved sopphebariet ved NHM som gjør en så god jobb, medforfattere og samarbeidspartnere på de ulike prosjektene, Klaus Høiland og Gro Gulden for korreksjoner og Anders Wollan for bilder, kommentarer og ideen om å skrive denne artikkelen, basert på en presentasjon gitt på vintersopptreffet 2012.

LITTERATUR

- Brock PM, Döring H, Bidartondo MI. 2008. How to know unknown fungi: the role of a herbarium. *New Phytologist*, 181: 719-724.
- Carlsen T, Bendiksby M, Hofton TH, Reiso S, Bakkestuen V, Haugan R, Kauserud H, Timdal E. 2012. Species delimitation and conservation status of the threatened lichen *Fusco-pannaria confusa*. *Lichenologist*, 44: 565-575.
- Cheng TL, Rovito SM, Wake DB, Vredenburg VT. 2011. Coincident mass extirpation of neotropical amphibians with the emergence of the infectious fungal pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Proceeding of the National Academy of Sciences*, 108: 9502-9507.
- Gulden G, Stensrud Ø, Shalchian-Tabrizi K, Kauserud H. 2005. *Galerina* Earle: A polyphyletic genus in the consortium of dark-spored agarics. *Mycologia*, 97: 823-837.
- Kauserud H, Heegaard E, Buntgen U, Halvorsen R, Egli S, Senn-Irlet B, Greilhuber I, Dämon W, Sparks T, Nordén J, Høiland K, Kirk P, Semenov M, Boddy L, Stenseth NC. 2012. Warming-induced shift in European mushroom fruiting phenology. *Proceeding of the National Academy of Sciences*, early online.
- Kauserud H, Heegaard E, Halvorsen R, Boddy L, Høiland K, Stenseth NC. 2011. Mushroom's spore size and time of fruiting are strongly related: is moisture important? *Biology Letters*, 23: 273-276.
- Kauserud H, Heegaard E, Semenov MA, Boddy L, Halvorsen R, Stige LC, Sparks TH, Gange

- AC, Stenseth NC. 2010. Climate change and spring-fruited fungi. *Proceedings of the Royal Society, B*. 277: 1169-1177.
- Kauserud H, Högberg N, Knudsen H, Elborne SA, Schumacher T. 2004. Molecular phylogenetics suggest a North American link between the anthropogenic dry rot fungus *Serpula lacrymans* and its wild relative *S. himantioides*. *Molecular Ecology*, 13: 3137-3146.
- Kauserud H, Stige LC, Vik JO, Økland RH, Høiland K, Stenseth NC. 2008. Mushroom fruiting and climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 105: 3811-3814.
2005. UNITE: a database providing web-based methods for the molecular identification of ectomycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 166: 1063-1068.
- Larsson E, Jacobsson S. 2004. Controversy over *Hygrophorus cossus* settled using ITS sequence data from 200 year-old type material. *Mycological Research*. 108:781-786.
- Pringle A, Adams RI, Cross HB, Bruns TD. 2009. The ectomycorrhizal fungus *Amanita phalloides* was introduced and is expanding its range on the west coast of North America. *Molecular Ecology*. 18: 817-833.
- Seierstad K, Carlsen T, Sætre G-P, Miettinen O, Høfton TH, Kauserud H. 2012. A phylogeographic survey of a circumboreal polypore indicates introgression among ecologically differentiated cryptic lineages. *Fungal Ecology*, accepted.
- Wolfe BE, Pringle A. 2012. Geographically structured host specificity is caused by the range expansions and host shifts of a symbiotic fungus. *ISME Journal*, 6:745-755.
- Wollan AK, Bakkestuen V, Kauserud H, Gulden G, Halvorsen R. 2008. Modelling and predicting fungal distribution patterns using herbarium data. *Journal of Biogeography*, 35: 2298-2310.