

3

NYE METODER TIL KORTLÆGNING AF BIODIVERSITET

BIOWIDES SVAMPE SAMMENHOLDT MED DATA FRA LUFTBÅREN LASER SCANNER

Henrik Thers

Tilbagegangen i biodiversitet verden over skaber et behov for at naturindsatser gøres så effektivt og billigt som muligt. Dette gælder også i forhold til svampe, hvor begrænset viden om denne meget diverse gruppe vanskeliggør arbejdet med at overvåge og fremme truede arter. Det kræver meget høj specialviden at gå i felten og lave svampeinventeringer; det er dyrt og tidskrævende. Formålet med dette studie, som blev udført som specialstudie ved Bioscience på AU, var at undersøge om vi kunne bruge det langt billigere og landsdækkende lidar-datasæt til at sige noget om svampeforekomster i DK.

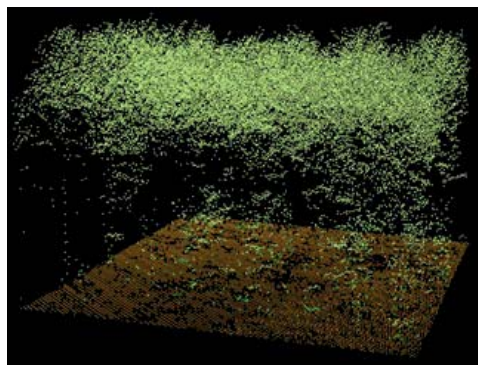
Lidar (Light Detection and Ranging) består af punkter med tredimensionelle koordinater – en såkaldt punktsky. Den fremkommer ved, at et instrument udsender laserlys og optager den tilbagevendende refleksion. Instrumentet var i dette tilfælde monteret på et fly, som har overfløjet hele Danmark i løbet af nogle måneder i 2014 og 2015. Når flyet bevæger sig hen over en skov eller anden vegetation vil noget af laserlyset reflekteres fra de øverste grene, noget vil trænge længere ned i og mellem kronerne og noget vil ramme jorden. En computer beregner løbende hvorfra laserlysets reflekteres og opretter et punkt dette sted. På denne måde opstår punktskyen, som ligner et snevejr hvoraf vegetationens konturer fremgår. Lidar optagelserne er ikke sket i forbindelse med Biowide. De er bestilt og betalt af staten og ligger gratis tilgængelige på nettet for alle interesserede. Andre studier har vist at lidar kan bruges til at karakterisere vegetation og modellere forekomsten af arter knyttet til forskellige levesteder. Studiet her var altså en sammenkobling af to meget omfattende datasæt (også efter internationale standarder), nemlig svampeinventeringerne fra de 130 biowide prøveflader, hvoraf jeg brugte de 121 (ni prøveflader i det dyrkede land var ikke inkluderet) og den landsdækkende lidar punktsky.

For at kunne bruge lidar punktskyen, omregnede jeg den til forskellige relevante parametre, såsom vegetationshøjde, heterogenitet over ni m² og 20 andre variable. Denne beregning blev lavet for hver m² i prøvefladerne som udgør 1.600 m² (40×40 m). Gennemsnitlige nøgleværdier blev derefter udregnet baseret på de 1600 værdier, således at hver prøveflade blev repræsenteret af 3 forskellige værdier for hver variabel. Herefter modellerede vi svampeartsrigdommen og artssammensætningen samt antal truede arter pr. prøveflade med de lidar-afledte variable. Det viste sig, at lidar i høj grad kunne bruges til at sige noget om den generelle svampeartsrigdom og vegetationens indflydelse på artssammensætningen. Antallet af truede svampe kunne dog ikke modelleres succesfuldt.

Takket være de mange data fra biowide, kunne jeg lave en tilsvarende modellering af svampedata med "gammeldags" feltbaserede variable, såsom plantelister, jordprøver, opgørelser af dødt ved og analyser af fugtighed og lys i prøvefelterne. Det gjorde os også i stand til tolke hvad som var de tre mest betydende gradienter for svampeartssammensætningen. Den vigtigste økologiske gradient handler om vegetationsstruktur og går fra

helt åbne samfund med lav vegetation over krat til højskov. Den kunne ingen feltbaserede variable udpege så godt som lidar. Næstvigtigste gradient handlede om pH og kunne modelleres meget bedre med feltbaserede variable (jordprøver og viden om fundne planters pH optimum) end med lidar. Den tredje vigtigste gradient var en fugtgradient, som vi kunne bestemme lige godt med lidar og feltbaserede variable. Resultaterne var ikke gode nok til at metoden umiddelbart kan anvendes til at udpege de mest artsrige svampeområder i DK, men studiet viste potentiale for videreudvikling frem mod dette mål.

Thers, H., Brunbjerg, A.K., Læssøe, T., Ejrnæs, R., Bøcher, P.K., & Svenning, J.C. (2017). Lidar-derived variables as a proxy for fungal species richness and composition in temperate Northern Europe. *Remote Sensing of Environment*, 200, 102-113.



Øverst: Til venstre et udsnit af prøveflade 55, Glatved på Djursland, som er et overdrev med vekslende dække af buske og få træer i det ene hjørne. Til højre er hele prøvefalden klippet ud af punktskyen. Terrænet gøres fladt som en del af bearbejdelsen af punktskyen. Punkterne er farvelagt efter deres højde. De brune punkter er reflekteret fra jorden. Nederst: Til venstre et udsnit af prøveflade 76, Vesterskov ved Vejle fjord, som er en plantagepræget bøgeskov. Til højre ses samme prøveflade i form af punktskyen.

DIVERSITET AF PLANTER, MOSSER, LAVER OG SVAMPE

FORKLARET MED DATA FRA LUFTBÅREN LASER SCANNER

Af Signe Normand

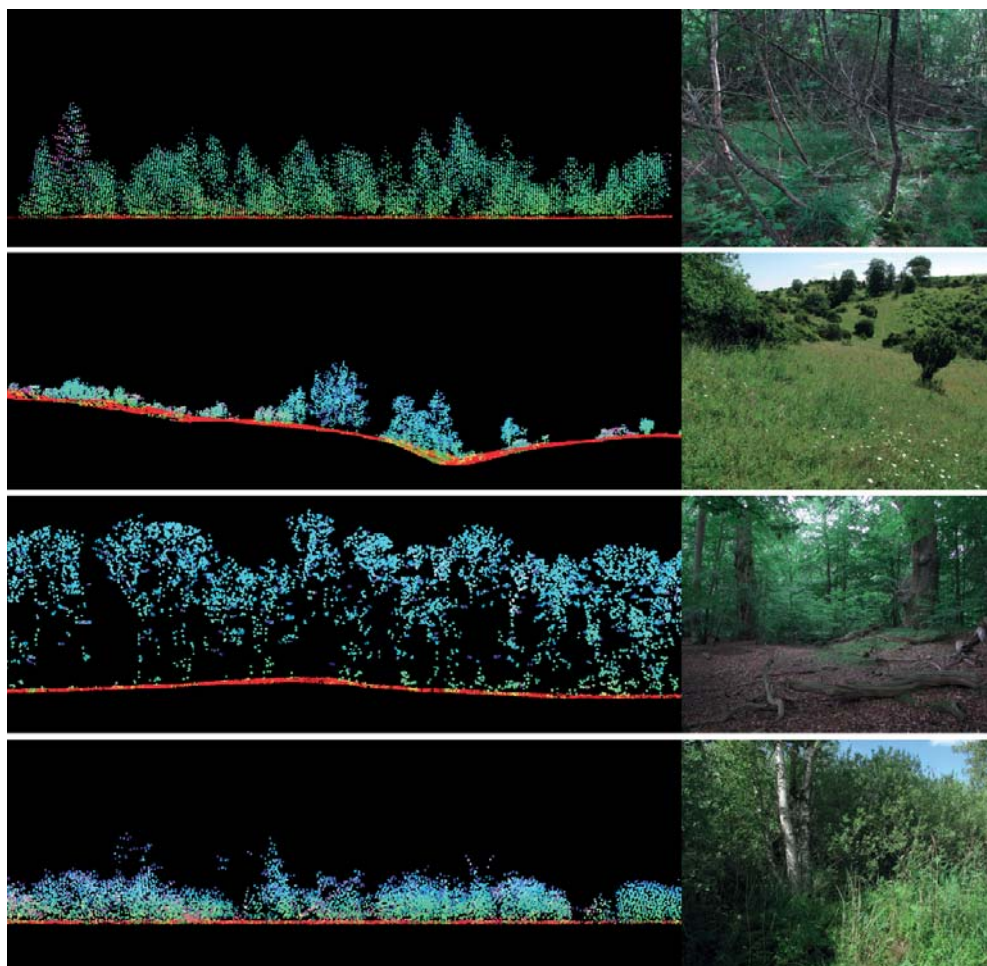
Biowide bygger på en forventning om at antallet af arter på et sted kan forudsiges ud fra kendskab til det økologiske rum og dermed stedets abiotiske position, biotiske ekspansion og kontinuitet i tid og rum. Luftbåren laser skanning (Lidar, Light Detection and Ranging) giver en unik mulighed for at kortlægge alle tre dele af det økologiske rum med høj detaljegråd. Lidar giver for eksempel mulighed for at estimere vigtige aspekter af abiotisk position ud fra topografisk heterogenitet og hydrologi. Variation i vegetationsstruktur og diversiteten af organisk materiale kan også kortlægges med Lidar og giver dermed aspekter af den biotiske ekspansion. Meget få studier har undersøgt i hvilken grad Lidar kan bruges til at forklare antallet af arter fra flere forskellige taksonomiske grupper og habitattyper.

Vi undersøgte i hvilken grad artsrigdommen af planter, mosser, laver, og svampe fundet i de 130 Biowide-flader kan forklares med 33 Lidar afledte variable der repræsenterer forskellige aspekter af prøvefladernes abiotiske position, biotiske ekspansion og kontinuitet i tid i rum.

Vi fandt at de Lidar-afledte variable forklarede omkring 22% af variation i antallet af planter, og 50% for svampe, 33% for laver, og 35% for mosser. Steder med mange plantearter var især karakteriseret af stor heterogenitet i vegetationsstruktur og en vedudviklet, men åben, buskvegetation. Mange svampe var især relateret til gamle skove med mange åbninger i kronedækket, mens høj artsrigdom af mosser og laver især var relateret til lokal heterogenitet i terræn og vegetation. Vores resultater viste, at abiotisk position, biotisk ekspansion og kontinuitet i tid i rum var nogenlunde lige vigtige for planter og laver, mens kontinuitet og ekspansion var vigtigst for henholdsvis svampe og mosser. Vi fandt yderligere at kortlægning af det økologiske rum ved hjælp af Lidar i en del af Danmark kan bruges til at forudsige artsrigdommen i andre dele af landet. Vores resultater viser således, at det økologiske rum kvantificeret ved hjælp af Lidar bidrager betydeligt til at forstå variationen i antallet af arter fra sted til sted.

Zlinszky, A., Moeslund, J., Normand, S., Ejrnæs, R., Brunbjerg, A.K., Bøcher, P.K. & Svenning, J.-C. (in preparation). LIDAR-based quantification of environmental structure allows prediction of species richness in plants, macrofungi, lichens and bryophytes across Denmark.

Figur 1. Eksempler på forskelle i terræn og vegetationsstruktur i forskellige biowide-prøveflader dokumenteret med luftbåren laserskanning (Lidar). Ved Lidar opnås en detaljeret 3D skanning af terræn og vegetationsstruktur fx vegetations-tæthed, biomasse, åbninger i kronedækket, og lag-delning af vegetationen.

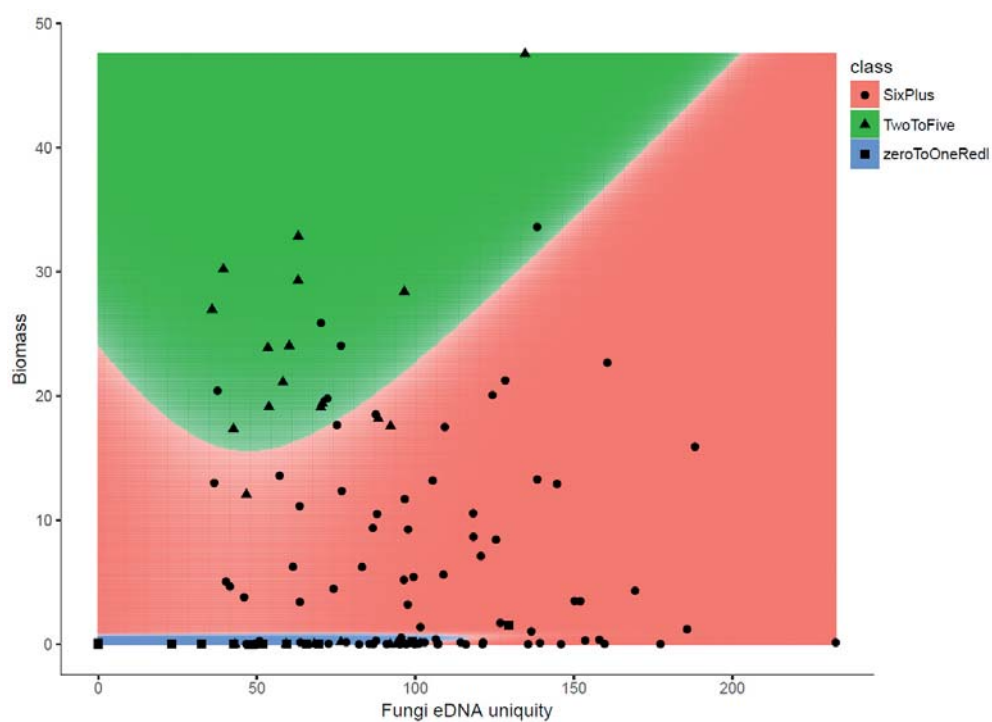


EN NY ÆRA FOR KORTLÆGNING AF NATUR

Jesper E. Moeslund

Biodiversitetskrisen står for døren, men vi mangler gode og effektive måder at kortlægge naturen på. Traditionelt bruger man eksperter til både at indsamle og identificere arterne, men denne tilgang gør det umuligt at dække både taksonomisk og geografisk bredt. I de senere år har teknologier inden for feltet *remote sensing* (satellit, droner etc.) revolutioneret måden hvorpå vi kortlægger jordoverflader og vegetation. En af de nyere teknologier er luftbåren laser skanning (*Airborne Laser Scanning*, ALS, også kaldet lidar), som tilvejebringer data om miljøet i en næsten-naturlig detaljegråd relativt billigt og med stor geografisk dækning. Sideløbende er der sket stor udvikling indenfor metabarcoding af ekstracellulært DNA fra prøver taget i naturen; så stor at vi i dag automatisk kan få biologiske "fingeraftryk" der dækker et bredt spektrum af arter. Denne teknik er stadig ret dyr sammenlignet med ALS, men den kan afsløre detaljer i naturen som er umuligt med ALS, og derfor kan vi potentielt revolutionere den måde vi kortlægger naturen på ved at medtage eDNA data i de nuværende ALS baserede metoder. Der er indtil videre ingen der har forfulgt denne strategi og derfor er dens potentiale indtil videre ukendt. I dette studie har vi vist at eDNA – både kombineret med ALS og alene – kan give en pålidelig kortlægning af naturen, som her er repræsenteret ved et klassisk feltstudie (Biowide) som omfatter mere end 5000 arter. Efter vi tilføjede eDNA til vore ALS modeller så vi en stor forbedring i antallet af misklassificeringer; vi kunne nu korrekt klassificere 82% af de ni forskellige økosystemer der indgår i Biowide, 100 % af to forskellige næringsstofniveauer, 96% af tre forskellige fugtighedsniveauer, 98% af tre forskellige successionsstadier og 75% af tre forskellige niveauer af rødlistede arter. Antallet af misklassificeringer var næsten ligeså lavt med eDNA alene som hvis det indgik sammen med ALS. Vores resultater påviser at ALS er et stærkt værktøj til kortlægning af natur, men også at eDNA fanger nogle vigtige detaljer som ikke kan frembringes med ALS, og at eDNA derfor bør være en vigtig del af naturkortlægning i fremtiden.

Moeslund, J.E., Brunbjerg, A.K., Fløjgaard C., Zlinszky, A., Bruun, H.H., Frøslev, T., Svenning, J.-C. & Ejrnæs, R. A new era in nature mapping. In prep for Nature.



Figur 1. Klassificeringen af de tre niveauer af rødlistede arter (rød = flere end 5 arter, grøn = 2-5 arter og blå = 0-1 art), samt hvor i det viste rum de observerede niveauer faktisk ligger i virkeligheden (rund = flere end 5 arter, trekant = 2-5 arter, firkant = 0-1 art). 75% af prøvefladerne er korrekt udpeget af vores model. Det viste rum er udspondt af ALS-udledt index for biomasse (Biomass) og graden af unikhed for svampe baseret på eDNA (Fungi eDNA unicity). Disse var de to vigtigste variable i denne model, men derudover indgår yderligere 4 variable som ikke er vist.

”MAN AGAINST MACHINE”

– eDNA OG SVAMPE

Tobias Guldborg Frøslev

DNA fra miljøet (også kaldet eDNA = environmental DNA) kan bruges til at beskrive biodiversitet (se “fra jord til genetisk diversitet andet steds i skriftet”). Således kan man med svampespecifikke markør-gener undersøge diversiteten af svampe i jorden. En stor del af svampene er synlige en del af året som frugtlegemer, men mange grupper af svampe laver ikke frugtlegemer, eller har kun små eller meget kortlivede frugtlegemer, og er derfor umulige eller svære at registrere med klassiske metoder.

I Biowide-projektet undersøgte vi svampediversiteten på klassisk vis ved indsamling og identifikation af frugtlegemer forestået af svampeeksperten Thomas Læssøe og bistået af adskillige frivillige. Dertil undersøgte vi også svampediversiteten ved at indsamle og DNA-sekvensere jordprøver. Således kunne vi sammenligne resultaterne – iscenesat som det klassiske opgør “Mand mod maskine”.

Hidtidige sammenligninger af frugtlegeme-indsamling og jord-DNA analyser indikerer et ganske lille overlap mellem de to metoder, men disse sammenligninger har som oftest været foretaget alene på en enkelt lokalitet. Jordprøverne i Biowide var større og dermed efter al sandsynlighed mere repræsentative, og Biowide prøvefladerne dækker store miljøgradienter med mulighed for at undersøge mere generelle biodiversitetsmønstre.

Vores undersøgelser viser at sammenligneligheden af DNA baseret og frugtlegemebaseret svampebiodiversitet er større end tidligere studier har antydnet. Ikke overraskende bekræftede vores analyser, at man via DNA også registrerer grupper af svampe der ikke laver frugtlegemer – f.eks. skimmelsvampe og gærsvampe. Desuden var antallet af registrerede svampe-arter væsentligt større for DNA, primært på grund af de mange mikrosvampe. Hvis vi begrænsede sammenligningen til frugtlegeme-dannende svampe blev resultaterne dog meget mere ens. DNA metoden fandt stadig flere arter, men ikke voldsomt mange flere, og mest overraskende var det nok at den relative fordeling af registrerede slægter var ganske ens mellem de to metoder. Den observerede artsrigdom pr prøveflade korrelerede også mellem metoderne, med en væsentligt bedre korrelation, når analysen afgrænsedes til frugtlegeme-dannende svampeslægter.

Ændringen i artssammensætningen af svampe som fandtes langs miljøgradienterne korrelerede også for de to forskellige lister af svampearter.

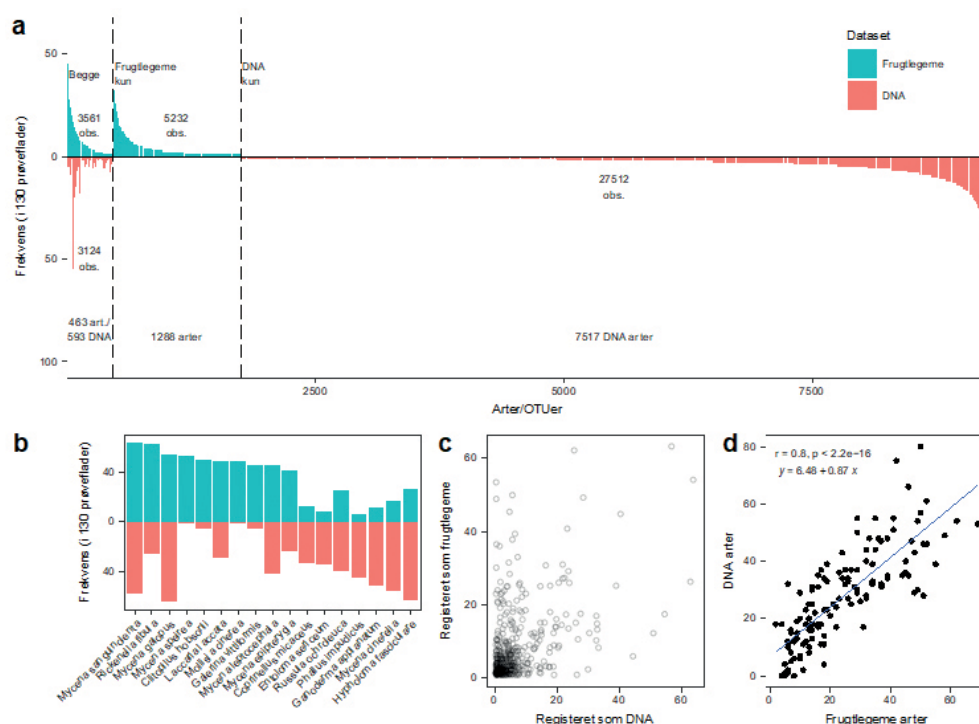
Et af de oplagte spørgsmål er om DNA kan bruges til at registrere rødlistede svampearter. Her forventede vi på forhånd, at DNA metoden ville være underlegen, da en trænet mykolog har mulighed for målrettet at eftersøge sjældne svampe på specielle substrater. Desuden vil mykologen lettere kunne dække et større område, hvor jord-DNA metoden er begrænset til at kunne udtage jordprøver der kun dækker en lille del af jordoverfladen i en prøveflade. Men selvom Thomas Læssøe og hjælpere da også fandt flere rødlistede svampe end DNA metoden, så var forskellen på de to metoder ikke så stor.

Teoretisk set vil DNA fra alle “overjordiske” organismer ende i jorden, om end i mindre mængder og mere fragmenteret, så spørgsmålet var, om mængden af DNA fra fx døde stammer eller urtestængler var tilstrækkelig til en ligelig registrering på linje med de jord-

boende svampe. Her viste vores analyser klart at dette ikke var tilfældet, så hvis man ønsker en fuldt repræsentativ registrering af fungaen, vil det være nødvendigt at supplere jordprøvetagningen med prøver af vegetationen.

Mange arter blev tilsyneladende kun registreret med den ene af metoderne, og en af forklaringerne på dette er, at DNA-referencedatabasen stadig er langt fra komplet, og i mange år fremover vil en stor del af den diversitet vi kan registrere som DNA stadig være "nøgne DNA arter" uden kobling til kendte morfologiske arter. Skal kvaliteten og styrken af DNA baserede analyser blive bedre, er det derfor helt essentielt at opprioritere udbygningen og vedligeholdelsen af DNA referencedatabaserne.

Frøslev, T.G, Kjøller, R., Bruun, H.H., Ejrnæs, R., Hansen, A.J., Læssøe, T. & Heilmann-Clausen, J. Man against machine: Do fungal fruitbodies and eDNA give similar biodiversity assessments across broad environmental gradients? (Submitted to ISME).



Figur 1. Frekvens af arter og OTU'er (DNA arter) i de 130 Biowide prøveflader. a) Frekvens af arter og OTU'er sorteret efter faldende frekvens og grupperet efter arter registreret med begge metoder, kun som fruglegeme og kun som DNA. y-aksen indikerer antallet af prøveflader hvori en art er observeret, og det samlede antal observationer og arter er angivet for hver gruppe. b) Top 10 mest frekvente arter observeret med de to metoder. Alle arterne er almindeligt observerede arter. Det er tydeligt at arter knyttet til overjordiske substrater (eks. *kvist-huesvamp* og *skæv melhat*) er underrepræsenteret som DNA i forhold til fruglegemer. c) scatterplot af fruglegeme-baseret frekvens mod DNA-baseret frekvens for de 463 arter som blev registreret med begge metoder. d) Artsrigdom for hver prøveflade (begrænset til de 463 arter der kunne registreres med begge metoder). x-akse viser rigdommen estimeret med fruglegemer, og y-aksen viser rigdommen estimeret med DNA.

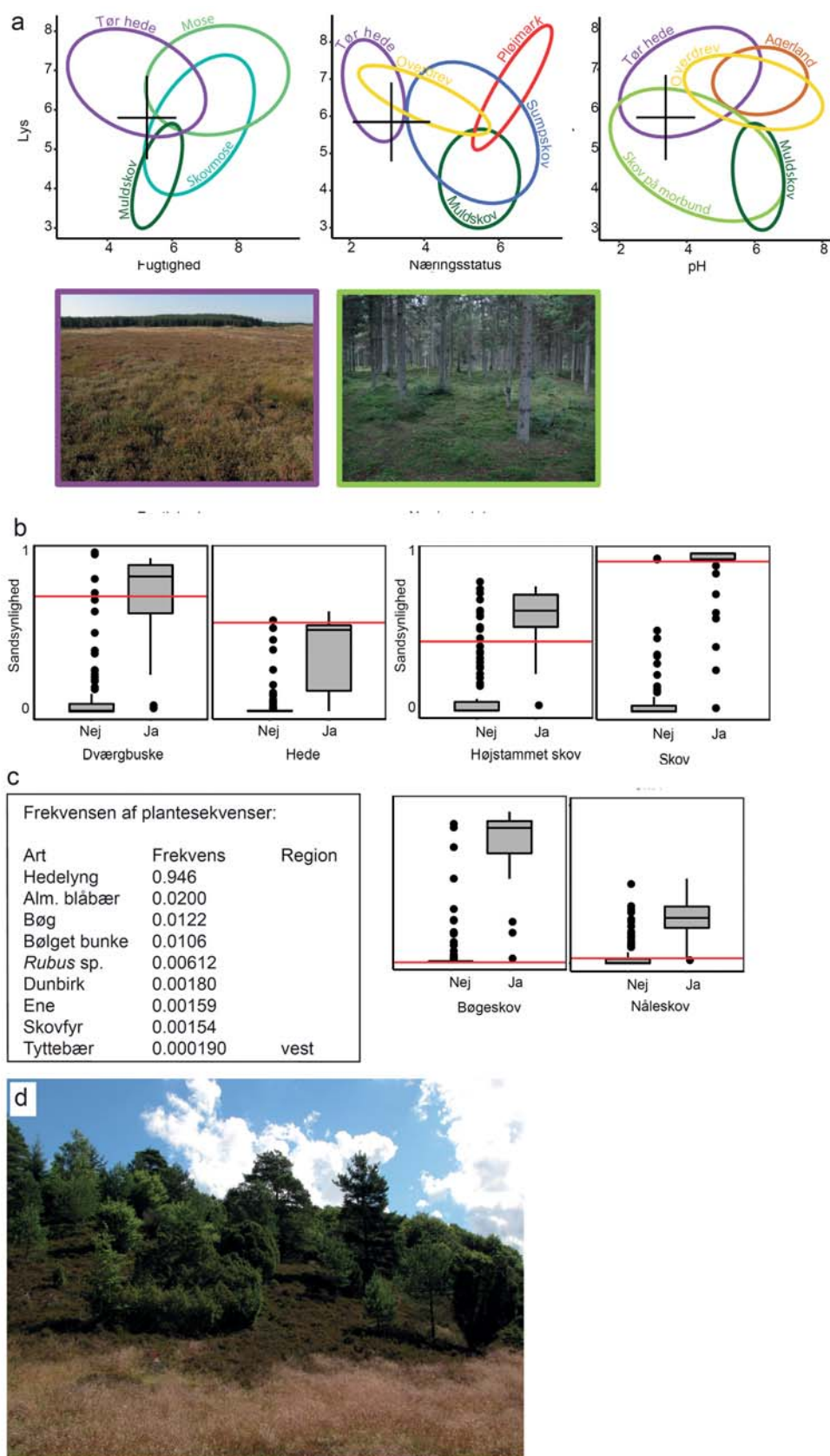
GENETISKE FINGER- AFTRYK SLADRER OM JORDENS HERKOMST

Camilla Fløjgaard

Kriminalteknikere arbejder ofte med jord. Jord er nemlig rigtig godt bevismateriale – det sidder fast på støvler og tøj, tørrer ind på skovlen, drysser ned i bunden af bilen osv. Så hvis man kan matche jord fra støvler med jord fra skovl og gerningssted, så har politiet gode og måske fældende beviser mod en gerningsmand. Men forestil jer, at politiet har en formodet gerningsmand med jord på støvlerne, men ingen anelse om hvor liget ligger begravet. Kan jorden på støvlerne afsløre om politiet skal søge i en mose? På heden? Eller måske i en ellesump? Biowide kan hjælpe til at besvare disse spørgsmål i kraft af den omfattende indsamling af biologiske data og jordprøver, som efterfølgende er DNA-sekvenseret. Derfor indgår Biowides jordprøver nu i et stort forskningsprojekt om jord som bevismateriale (SoilTracker). Alle organismer efterlader DNA i det miljø de har levet i. Planterne står med rødderne solidt plantet i jorden og afgiver DNA til jorden. Det gør alle de små dyr, muldvarpen og svampene i jorden selvfølgelig også. Andre organismer, som går på jorden, lever i træerne eller flakser rundt i blomsterne efterlader også DNA i jorden når de skider, formerer sig eller når de dør og bliver nedbrudt. Da organismene alle har en præference for hvilket habitat de helst befinder sig i, så bliver DNA-resterne i jorden et fingeraftryk, som er helt specifikt for habitatet og den sammensætning af organismer, der lever lige dér.

DNA i jordprøverne fra Biowide viser, at det er muligt, at forudsige de miljøforhold, fx fugtighed, lys, næring og pH, som jorden stammer fra. Derudover kan DNA også forudsige om jorden stammer fra særligt karakteristiske habitater, som fx en bøgeskov, et pilekrat, en tagrørssump osv. Som supplement til de statistiske modeller har vi brugt en gammel retsvidenskabelig metode, hvor man leder efter sjældenheder, fx ualmindelige planter som kun vokser på særlige steder og dermed afslører noget om geografi eller økologi. Det har man tidligere gjort med pollen og andre planterester og denne metode har vi overført til DNA, så vi screener for sjældne planter i DNA-prøven.

Fløjgaard, C., Frøslev, T.G., Bruun, H.H., Moeslund, J.E., Brunbjerg, A.K. & Ejrnæs, R. Taking a stab at predicting provenance of forensic soil samples: soil DNA predict habitat characteristics and environmental properties. In preparation.



Figur 1. Som eksempel er her vist forudsigelserne af vores modeller for én prøveflade. A) Hvilke miljøforhold karakteriserer prøvefladen? Krydset viser forudsigelsen af prøvefladens Ellenberg-værdier for lys, næring, fugtighed og pH (længden på krydsets arme viser 95% konfidensinterval). Modellen forudsiger, at prøvefladen har en middel lyspåvirkning, lidt tør jordbund, lav næringsstatus, samt en lav pH. Ellipserne viser, hvordan udvalgte naturtyper typisk fordeler sig langs gradienterne for lys, næring, fugtighed og pH og med de forudsagte værdier kan man tolke, at prøvefladen har karakter af hede eller skov på morbund, som vist i de to billeder. B) De røde linjer viser prøvefladens sandsynlighed for at tilhøre udvalgte habitatkategorier. Modellerne forudsiger, at prøvefladen med stor sandsynlighed er karakteriseret af dværgbusksamfund og hedevegetation. Ift. skov, så er det ikke sandsynligt, at det er en højstammet skov, men der er høj sandsynlighed for at prøvefeltet har skovkarakter. Det er usandsynligt at prøvefeltet er en typisk bøgeskov eller nåleskov. C) Frekvensen af sekvenser bruges til en forsigtig tolkning af hvilke planter er almindelige i prøvefladen. Prøven er domineret af sekvenser af hedelyng, men der er også fundet blåbær, bøg, bølget bunke, ene, skovfyr og tyttebær. Sidstnævnte findes typisk i de vestlige dele af landet og kan indikere, at prøven stammer fra Vestdanmark. D) Løsning: Prøvefladen er Højkol i Silkeborgsklyngen (ES67).



Foto: Rasmus Ejrnæs