



P. chartarum betraktes ikke lenger som sannsynlig kofaktor

Forfatter

Ivar Mysterud, Biologisk institutt, UiO

Sammendrag

Vi har tidligere presentert en bred definisjon av en mulig kofaktor som en bioaktiv forbindelse i beitet produsert av sopper, planter, bakterier eller cyanobakterier (tidligere «blågrønnalger»). Vi kommenterte i forrige artikkel letingen etter mikrosopper langs det vi kan kalle «soppsporet» i alvelforskningen, og de vanskelighetene forskerne her støter på. For fullstendighetens skyld skal vi presentere ytterligere noen resultater fra letingen etter *P. chartarum*, funn som gjorde at vi nå ser mer bort fra denne arten i alveldsammenheng.

Publisert

2008

Referanse

Sau og Geit nr. 2/2008

Utskriftsdato

07.12.2023 www.fag.nsg.no

P. chartarum betraktes ikke lenger som sannsynlig kofaktor

Vi har tidligere presentert en bred definisjon av en mulig kofaktor som en bioaktiv forbindelse i beitet produsert av sopper, planter, bakterier eller cyanobakterier (tidligere «blågrønnalger»). Vi kommenterte i forrige artikkel letingen etter mikro-sopper langs det vi kan kalle «soppsporet» i alveldforskningen, og de vanskelighetene forskerne her støter på. For fullstendighetens skyld skal vi presentere ytterligere noen resultater fra letingen etter *P. chartarum*, funn som gjorde at vi nå ser mer bort fra denne arten i alveldsammenheng.

Noe av vanskeligheten ved alveldforskningen er at når en mistenkt kofaktor først har kommet inn i forskningen, er det vanskelig gjennom leting i utmark å bli helt sikker på at den ikke har noe med saken å gjøre. Dette å kunne forkaste hypoteser gjennom dokumentert forskningsinformasjon kan by på mye arbeid. Veterinæren Martha Ulvund og mykologen Olav Aas reiste i 1989 spørsmålet om mikrosoppen *P. chartarum*, denne farlige arten som forårsaker hepatogen fotosensibilisering og som var velkjent fra enkelte områder i andre land, kunne være involvert også her i Norge. Siden den gangen har arten «hengt» med i forskningen. Vi har i de to foregående artiklene summert opp status i undersøkelsene langs det vi har kalt «soppsporet», og i denne artikkelen skal vi foreløpig gjøre oss ferdig med soppene. De forskere

som fortsatt arbeider i fylkesmanns-prosjektene anser det ikke lenger som sannsynlig at *P. chartarum* er den ukjente X i alveldsammenheng, noe vi konkluderte med allerede i forrige artikkel. Vi skal i denne fjerde artikkelen begrunne denne konklusjonen ytterligere gjennom en omtale av materiale som tidligere ikke er publisert. Nærmere bestemt er det undersøkelser utført i 2004, hvis resultater ble avgjørende for å se bort fra denne arten.

P. chartarum-undersøkelser i 2004

For en redegjørelse om bakgrunnen for, og letingen etter denne sopp, henvises det til tidligere artikler. Flere funn av enkeltsporer og en påvisning av arten på en lokalitet ved Oslo, gjorde at interessen for denne sopp «hang med» i forskningen også inn i 2004. Etter oppdagelse av sopp på grasplenen utenfor Rikshospitalet i Oslo i 2003, ble vi bedre kjent med arten i en norsk vegetasjonstype. Dette førte til at *Pithomyces*-litteraturen helt tilbake til de eldste klassikerne fra 1960-årene ble gjennomlest på ny (se Brook 1963). Hadde vi oversett noe? Det er for lengst klarlagt at arten kan sporulere på en lang rekke plantearter, og at *grasartene* synes å være særlig foretrukket. Det er mulig at letingen i våre tidligere undersøkelser kanskje hadde foregått for høyt oppe i vegetasjonen. Soppen er en *jordbunnssopp* hvor sporene vanligvis opptrer på gammelt vegetasjonsmateriale på den nederste centimeteren mot bakken. Det er bare når arten massesporulerer at man kan påtreffe dem nær sagt hvor som helst i vegetasjonen. En nagende



Innsamling av soppsporer fra alveldbeiter i 2004 foregikk ved å anvende såkalt Mycotape. Tapen ble presset mot planteoverflaten slik at soppsporer og annet mindre materiale festet seg til den klebrige siden. Tapene kan deretter settes tilbake på arket og lagres med henblikk på seinere undersøkelse (Foto: I. Mysterud).



På den tiden innsamlingen foregikk i 2004 var det alvorlige utbrudd av alveld i dette utmarksområdet. Syke lam som etter hvert ble påtruffet, ble tatt hånd om og fraktet ned i bygda, hvor de ble plassert i mørkt rom (Foto: I. Mysterud).

tvil som fortsatt gjorde seg gjeldende om at den likevel fantes i alveldområdene, førte til et siste forsøk med et revidert opplegg i 2004.

Søk på naturenger, setervoller og romemyrer

Det var to forhold som ble vektlagt i de nye undersøkelsene. (1) Søk ble rettet inn mot områder der sauen normalt beiter, og hvor de oppholder seg på den tiden vi *vet* at dyrene kan bli syke av alveld. Dette er begrensede områder forskerne i de første årene kalte «dødsriker» (Mysterud et al. 2003). (2) For det andre ble søket rettet inn mot der det er mest sannsynlig at sopparten er lettest å påvise, nemlig i vegetasjon med en mest mulig uniform og kortvokst «plenform». I følge beskrivelser fra andre land liker soppen seg aller best på kortvokst, matte- og plenliknende grasvegetasjon, hvor det er mulig for sollyset å trenge helt ned mot jordsmonnet. Et eksempel på dette så vi selv ved Rikshospitalet. En utvidet forståelse av dette i de aktuelle utmarksområdene ville logisk sette fokus på a) kortklipte/beiteklippede naturenger, b) setervoller som ofte er hardt beitet og etter hvert får «plenform» og c) romemyrer med så kort og uniform «matte-vegetasjon» som mulig. Flekker med kortklipte enger oppstår naturlig i utmark først og fremst i områder med høyt beitepress. Her finner vi også næringsstoffer for mikrosopper i form av ekskrementer og urin etter beitedyrene. Der beitedyrene etterlater seg *urin* favoriseres *P. chartarum* i den etterfølgende koloniseringen av det døde graset (Lacey 1988, s. 226).

Utgangspunkt i fire «dødsriker»

Undersøkelsene i 2004 tok utgangspunkt i tre av de dødsrikene som ble identifisert i perioden 1999-2001 ved hjelp av såkalte dødsvarslerne (radiosendere) på lam i Halså/Surnadal (Mysterud et al. 2003). På kartet er avmerket tre notoriske dødsriker og et fjerde som kom til fordi det oppsto alvorlige

Fortsetter neste side.

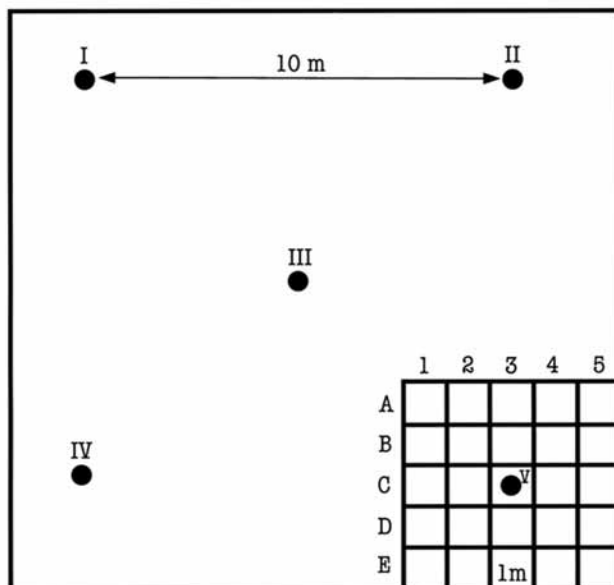


Fig. 2: Prøvetakingen på stasjonene foregikk ved å anvende Mycotape for innsamling på 5 hovedpunkter (I-V) innenfor et stort kvadrat, og etter loddtrekning på ytterligere 5 utvalgte punkter blant 25 (A-E x 1-5) etablert innenfor et mindre kvadrat med sentrum i punkt V (se teksten).

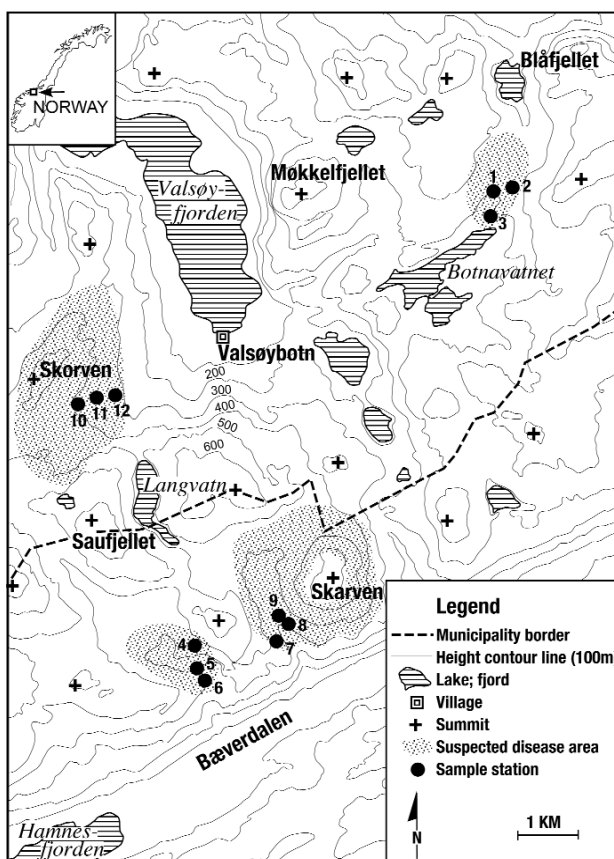


Fig. 1: Kart over forsøksområdet mellom Valsøyfjorden og Hamnesfjorden i Halså/Surnadal med fire dødsriker (skraverete områder) og 12 innsamlingsstasjoner (fylte sirkler med nummer) avmerket. I dette området har forskere fra Biologisk institutt, UiO drevet undersøkelser i de såkalte fylkesmannsprosjektene helt fra 1999 (se teksten).



Undersøkelsene i 2004 fokuserte på naturenger, setervoller og romemyrer. Her et utsnitt av vollen på Sæterbøsetra innunder Skarven i Surnadal (Foto: I. Mysterud).

utbrudd av alveld i området mens feltarbeidet pågikk. Også dette siste området var kjent fra tidligere som et sykdomsområde. De fire valgte områdene ble derved: (1) Botnaseterområdet, (2) Høgheia, (3) Skarven og (4) Skorven (Fig. 1). I hvert av de fire områdene ble det valgt ut tre hovedstasjoner for prøvetaking. Fra område 1 inngikk romemyr, natureng og setervoll (Botnaseter), fra område 2 romemyr, natureng og setervoll (Bæverfjordsetra), fra område 3 romemyr, natureng og setervoll (Sæterbøsetra) og fra område 4 to romemyrer og natureng, men ingen setervoll (det lå ingen seter i det området). Et slikt valg skulle ivareta også den muligheten at dersom den

ettersøkte mikrosoppen sporulerte i sammenheng med en stor forekomst av rome, så ville prøvetakingen av romemyrene avsløre dette. Innenfor hvert av disse hovedområdene ble det så valgt ut *tre* stasjoner, dvs. materiale ble samlet inn fra til sammen 12 stasjoner (Fig. 1). Innenfor disse 12 stasjonene ble det lagt ut et kvadrat med 5 innsamlingspunkter (I-V) i relativt homogen vegetasjon, *hvor kriteriene for å finne P. chartarum så ut til å være best oppfylt*. De fire punktene i hjørnene av dette «kvadratet» hadde en innbyrdes avstand på 10 m, og med et sentralt punkt midt i kvadratet (Fig. 2). Med nytt sentrum i punkt V i hvert storkvadrat ble det delt inn et mindre kvadrat med 25 ruter (A-E x 1-



Detalj fra vegetasjonen på hovedstasjon nr. 10 (gul stikke), som var en romemyr i Skorven, Halså (Foto: I. Mysterud).

5), der avstanden mellom hjørnene bare var 1 m. Fra hvert av disse 25 1 m-prøvekvadratene ble det ved loddtrekning valgt ut 5 stykker hvor det ble tatt prøver. En gjentar altså at plasseringen av 10 m-kvadratene *ikke* ble valgt tilfeldig, men lagt der en antok sannsynligheten var størst for å treffe på soppen. De 25 1 m-kvadratene ble derimot valgt tilfeldig ved loddtrekning etter at hovedkvadratet var fastlagt.

All innsamling med Mycotape

I alveldforskningen har det som nevnt (se tidligere artikler) vært arbeidet mye med ulike *metoder* for innsamling av sopper og sporer. Da sporene av *P. chartarum* er ganske store og lett identifiserbare, ble det i 2004-undersøkelsen brukt såkalt «mycotape» eller «tapeavtrekk». Metoden går i korthet ut på at strips av klar cellofan-tape presses direkte mot planteobjektets overflate, slik at sporer og annet løsmateriale fra den visne vegetasjonsbiten fester seg til limsiden på tapen. Når tapen dras av, kan den enten settes tilbake på arket slik at sporene i materialet sikres (se bilde), eller mikroskopering av materialet kan foregå direkte i felt. Ved all taping ble det brukt sterile hansker, som ble skiftet for hvert prøvepunkt. Farger og konserveringsmidler må ikke benyttes, det kan drepe sporene. Videre oppfølging, kultivering og rendyrking kan deretter eventuelt foregå i skåler på egnet medium (Mysterud 2003). Skal man kultivere *P. chartarum* er det helt nødvendig å ha kun sporer av denne arten i skålene og *ikke* en «blanding» av sporer. I en blanding oppstår det konkurranse mellom sporer av ulike arter. Det foregår en intens konkurranse ute i naturen mellom ulike arter av mikrosopper på planteoverflater. Mikrosoppen *P. chartarum* kan bare kolonisere vev som ikke tidligere er utnyttet av andre sopper (Lacey 1988, s. 222). I England er denne arten vanlig bare i en kort periode på seinsommeren når temperaturen er høy, dødt bladverk finnes i overskudd, nedbøren er tilstrekkelig og når den kan overvinne konkurransen fra blant annet mikrosopper i slekten *Cladosporium* (Lacey 1988 s. 222). Tape-teknikken er billig, rask og enkel i utførelse, og det er som nevnt også mulig å bære med mikroskop i felt og påvise sporer der og da, dersom været

tillater det. Alle prøver i denne undersøkelsen ble sikret i felt, og seinere undersøkt i laboratorium av Mycoteam.

Feltundersøkelser midt i en alvorlig alveldperiode

Hele innsamlingen av tape-prøver foregikk i dagene 17. og 20.-22. juli 2004 i tørt vær. Denne sesongen, også i de dagene da feltinnsamlingen pågikk, var det alvorlige utbrudd av alveld i dette utmarksområdet. *Det er viktig for tolkningen av resultatene at områdene var midt oppe i en alvorlig alveld-utvikling da innsamlingen fant sted, og at innsamlingen ble foretatt på stasjoner spredt ut i et større område (Fig. 1).* De skulle derfor være representative i forhold til det som var målsettingen med undersøkelsen, nemlig å forvise seg om *P. chartarum* var til stede eller ikke. På hver stasjon ble det som nevnt først samlet 5 prøver i et 10 m-kvadrat, så 5 prøver innenfor 1-m-kvadrater. Fra hvert punkt ble det tatt 1 strips-/tapeprøve der hele tapen ble fylt opp med materiale ved gjentatte trykk mot ulike bladoverflater. Dette ga altså 10 punkter fra hver hovedstasjon, dvs. materialet omfattet totalt $4 \times 3 \times 10 = 120$ tapepunkter, dette tilsvarte 40 prøver i naturlige enger, 50 på romemyrer og 30 på setervoller. Artsmangfoldet i materialet var stort, så vi skal ikke her gå i detaljer når det gjelder arter, men bare kort peke på et par hovedresultater. 1) Det ble *ikke* påvist én eneste spore av *P. chartarum* i hele materialet. Da prøvene ble tatt i områder hvor forventningen om å påtreffe denne arten var størst, og sporene i tillegg er store og lett kjennelige, er det altså sannsynlig at den *ikke* gjorde seg gjeldende på de undersøkte lokalitetene i denne alveldsesongen. 2) Det andre viktige resultatet ble at prøvene var totalt dominert av mikrosoppen *C. magnusianum*, som åpenbart hadde massesporulering over hele området. Dette gjaldt uansett enten det dreide seg om naturlige enger, romemyrer eller setervoller i alle de fire dødsrikene. Denne arten tilhører en meget stor gruppe av mikrosopper (se David 1997), som også har mange arter i vårt land (se forrige artikkel).

Cladosporium magnusianum igjen
Påvisningen av *C. magnusianum* kom

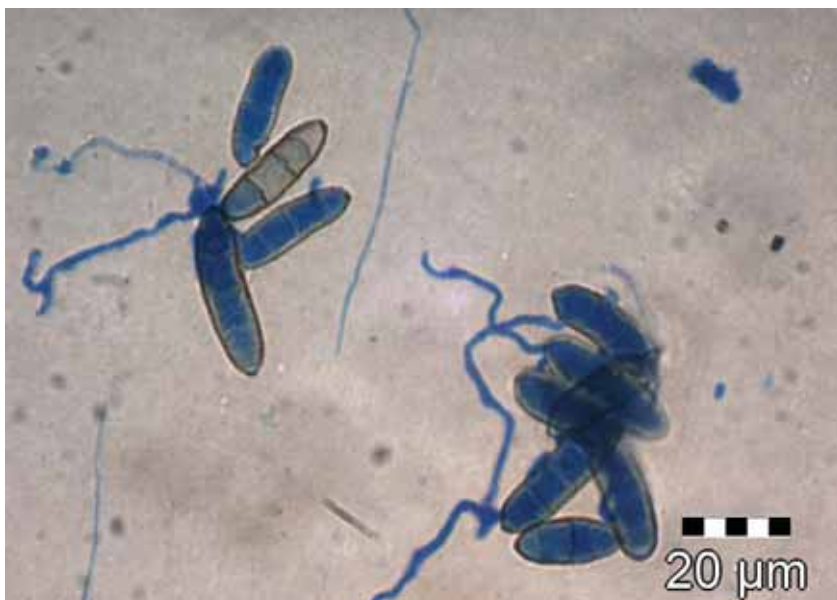


Mange steder i utmarksområdene lå det mye dødt gras fra vinteren, dette er beitespor etter smågnagernes aktivitet under snøen. På slike steder kan man kanskje forvente å påtreffe mikrosoppen *P. chartarum* (Foto: I. Mysterud).

for så vidt ikke helt uventet. For de som har fulgt med i soppundersøkelsene i alveldforskningen er denne arten en «gammel kjenning». Dette er nemlig den samme soppen som veterinæren Arne Flåøyen og mykologen Margaret di Menna påviste masseopp treden av i sine undersøkelser (se forrige artikkel). Det medførte at de undersøkte artens giftighet for lam både alene og i kombinasjon med saponiner (Flåøyen et al. 1993). Resultatet ble som kjent negativt, så de sjekket arten ut av saken, - men ikke helt. Det faktum at arten forekom så vanlig i alveldområdene førte til at Flåøyen reiste spørsmålet om rome kunne tenkes å produsere *fytoaleksiner*

som en respons på dette masseangrepet av sopp sporer (se forrige artikkel). Dette er seinere kalt *fytoaleksinhypotesen*. Fytoaleksiner er et samlenavn på en mangartede gruppe av kjemiske stoffer (sekundære metabolitter) med sterk antimikrobiell aktivitet som produseres og akkumuleres på steder der det oppstår infeksjoner i planter. Slike stoffer kan også tenkes å være giftige for beitedyr. Med andre ord, Flåøyen reiste spørsmålet om rome kunne bli mer giftig etter angrep av en sopp som i utgangspunktet var ufarlig. Dette spørsmålet kunne for så vidt etter 2004 reises igjen. Denne hypotesen er imidlertid

Fortsetter neste side.



Forstørret bilde av sporer av mikrosoppen *C. magnusianum*, en art som hadde masseopp treden på alveldbeitene i Halså/Surnadal i 2004 (Foto: Maria Nuñez).

ikke nærmere vurdert (Mysterud et al. 2003), og vil heller ikke bli kommentert her.

Mange arter påvist i tape-materialet

Det ble som nevnt funnet sporer av en lang rekke andre arter av mikrosopper på tape-stripsene, uten at masseopp-treden ble påvist for noen annen art enn *C. magnusianum*. Enkelte forhold antydte imidlertid at det fortsatt kan være aktuelt å studere mikrosopper i utmarksbeitene nærmere. På mange av stasjonene ble den beryktede mikrosoppen *Fusarium* spp. påvist. I en tidligere undersøkelse av mikrosopper i Valsøybotn, i den såkalte Halsagradienten (Mysterud et al. 2007), ble representanter i denne slekten påvist på dyrket mark i de nedre deler av gradienten. Undersøkelsene i 2004 viste at *Fusarium* også kan påtreffes høyere opp og innover i disse heiområdene. Noen masseforekomst ble imidlertid ikke påvist for denne arten. Samlet sett er forskergruppen ved Biologisk institutt, UiO nå kommet helt på linje med de konklusjoner Flåøyens forskergruppe allerede har trukket. Noen masseopp-treden av *P. chartarum* er ikke påvist noe sted i det tidsrommet det forekommer alveld. Selv om vi fort-

satt ikke kan være helt sikre på at *P. chartarum* ikke finnes og kan sporulere svært lokalt i dette terrenget, bør denne hypotesen ikke lenger gis prioritet. Det er også påvist av begge forskningsgrupper at *C. magnusianum* kan ha masseopp-treden på den tiden det forekommer alveld. Det er imidlertid ikke aktuelt å gjenta de undersøkelsene som er utført i Flåøyens gruppe, og som påviste at denne arten ikke var giftig verken alene eller under medvirkning av saponiner. Vi har derfor, også med bakgrunn i andre argumenter (se forrige artikkel), valgt å se bort fra *Cladosporium* som mulig kofaktor. Eventuelt videre arbeid langs «soppsporet» bør derfor konsentrere seg om andre og nye grupper, slik vi skisserte i forrige artikkel. Dette vil kunne by på arbeidskrevende og dyre prosjekter. I neste artikkel skal vi se på en rekke andre observasjoner som også ble gjort i 2004, og som skulle gi støtet til videre alvelforskning fra en helt annen vinkel.

Ivar Mysterud
Biologisk
institutt, Universitetet
i Oslo
Maria Nuñez
Mycoteam, Oslo

Future rundbuehaller

Den originale Futurehallen 5X6 meter. Flyttbar og med topp kvalitet i plater. Kan også brukes som ekstrahus i lamminga og ved utegangersau. Pris: kr 19.700.- + mva.



Permanente haller: 8, 10, 12 og 14 m bredde. Priseksempel for 12X24 m: kr 156.000 + mva.

Future Rundbuehaller
Postboks 28 - 3107 SEM

Tlf. 62 49 39 80 - Mob. 91 53 68 99 - Mob. 97 77 94 69

www.futurehaller.no - fadum@online.no

Sitert litteratur:

Brook, P. J. 1963. Ecology of the fungus *Pithomyces chartarum* (Berk. & Curt) M. B. Ellis in pasture in relation to facial eczema disease of sheep. *New Zealand J. Agri. Res.* 6 (3/4): 147-228.

David, J. C. 1997. A contribution to the systematics of *Cladosporium*. Revision of the fungi previously referred to *Heterosporium*. New York. CAB International. International Mycological Institute. *Mycological papers*, No 172: 1-157.

Flåøyen, A., di Menna, M. E., Collin, R. G. & Smith, B. L. 1993. *Cladosporium magnusianum* (Jaap) M. B. Ellis is probably not involved in alveld. *Vetr. Res. Comm.* 17 (3): 241-245.

Mysterud, I. 2003. Rapport fra 2003-prosjektet i Hals/Surnadal, - erfaringer fra årets beitesesong. Foredrag holdt på konferansen «Alveld og beitebruk – kvar står vi i dag?» Fylkesmannen i Møre og Romsdal, Molde 4. desember 2003. Stensil. 14s.

Mysterud, I., Vang, M. & Nortvedt, S. 2003. Lammedødelighet 2001 og tapssituasjon 1999-2001 i et alveld-område i Hals/Surnadal, Møre og Romsdal. Med en oversikt over hypoteser i alvelforskningen. *Utmarksnæring i Norge 1-03*: 1-127.

Mysterud, I., Høiland, K., Koller, G. & Stensrud, Ø. 2007. Molecular characterization and evaluation of plant litter-associated fungi from the «spring "grazing corridor"» of a sheep herd vulnerable to alveld disease. *Mycopathologia* 164: 201-215.

Lacey, J. 1975. Airborne spores in pastures. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 64: 265-281.

Lacey, J. 1988. Aerial dispersal and the development of microbial communities. Pp. 207-237; I: Lynch, J. M. & Hobbie, J. E. (eds.) *Micro-organisms in action: Concepts and applications in microbial ecology*. London, Blackwell.