



**TURUN
YLIOPISTO**

Matemaattis-luonnontieteellinen
tiedekunta

Jan Mayenin arktisen tulivuorisaaren merisienilajisto

Siru Gestrin

Biologia
LuK-tutkielma
Laajuus: 8 op

22.1.2024

Turku

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu
Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

LuK-tutkielma

Pääaine: Biologia

Tekijä: Siru Gestrin

Otsikko: Jan Mayenin arktisen tulivuorisaaren merisienilajisto

Ohjaajat: Timo Kosonen, Teppo Rämä

Sivumäärä: 24 sivua + liitteet 3 sivua

Päivämäärä: 22.1.2024

Merisienet ovat sieniä, jotka elävät meri- tai murtovesiympäristössä. Merisieniä elää monenlaisissa elinympäristöissä ja monenlaisilla substraateilla, ja niiden arvioidaan olevan tärkeitä merten biogeokemialliselle kierrolle. Tästä huolimatta merisienet ovat hyvin vähän tutkittu eliöryhmä, ja erityisesti arktisia merisieniä on tutkittu hyvin vähän. Arktinen alue on erityisen haavoittuvainen ilmastonmuutoksen vaikutuksille. Ilmaston lämpeneminen aiheuttaa muun muassa meriveden lämpenemistä, meren suolapitoisuuden vähenemistä ja merijään sulamista. Tutkimuksen vähäisyyden vuoksi emme tiedä, miten muutokset vaikuttavat arktisiin merisieniin. Tämän tutkielman tarkoituksena on kartoittaa Jan Mayenin merisienilajistoa ja verrata sitä Manner-Norjan ja muun arktisen alueen merisienilajistoon sekä Antarktiksien puuta ja rakennusmateriaaleja kolonisoivaan sienilajistoon. Jan Mayen on Norjalle kuuluva arktinen tulivuorisaari Pohjoisella jäämerellä. Saaren merisienilajistoa ei ole ennen kartoitettu. Hypoteesini oli, että Jan Mayenilta löytyy arktista merisienilajistoa, jota ei löydy Manner-Norjasta. Tutkimusaineistona oli 86 Jan Mayenilta vuoden 2022 elokuussa kerättyä levä- ja ajopuunäytettä. Määritin näytteistä löytyvää merisienilajistoa mikroskopioimalla ja DNA-viivakoodien avulla. Kartoitin Jan Mayenin lajistoa vertaamalla DNA-viivakoodeja NCBI:n geenipankista löytyviin sekvensseihin BLAST-haulla ja vertailin Jan Mayenin lajistoa muun arktisen alueen ja Antarktiksien lajistoon fylogeneettisten puiden avulla. Vertailualueiden lajiston DNA-sekvenssit sain julkaistuista artikkeleista. Jan Mayenin näytteissä dominoiva ryhmä oli kotelosienet, mutta myös kantasieniä ja yksi Mucoromycotina-alajakson sieni löytyi. Dominoivat luokat olivat Leotiomycetes ja Dothideomycetes ja yleisin suku oli *Cadophora*. Jan Mayenilta löytyi useita lajeja ja ryhmiä, joita ei ollut Manner-Norjan aineistossa. Jan Mayenilta löytyi myös mahdollisesti tieteelle uusia lajeja, joiden sekvensseille ei löytynyt hyviä osumia geenipankista eikä vertailuaineistoista. Jan Mayenilta saatujen sekvenssien lukumäärä oli varsin pieni, vain 89, joten sekvenssit tuskin antavat kattavaa kuvaa saaren ajopuulla ja levillä elävästä merisienilajistosta. Havaitut erot Jan Mayenin ja Manner-Norjan merisienilajistoissa voivat johtua esimerkiksi eroista meriveden lämpötilassa alueiden välillä, sillä Jan Mayenin merivesi on keskimäärin monta Celsius-astetta kylmempää kuin Manner-Norjan pohjoisimmista osista. Jan Mayenin lajistoa verrattiin kuitenkin vain yhteen julkaisuun Manner-Norjasta, joten tämän vertailun perusteella havaitut erot Jan Mayenin ja Manner-Norjan lajistossa eivät välttämättä ole todellisia. Joka tapauksessa tämä tutkielma antaa uutta tietoa aiemmin hyvin huonosti tunnetusta Jan Mayenin sienilajistosta, ja siitä, miten saaren merisienilajisto vertautuu muun arktisen alueen ja Antarktiksien sieniyhteisöihin.

Avainsanat: merisieni, Jan Mayen, arktinen alue, taksonomia, ITS, ajopuu, makrolevä

Sisällys

1 Johdanto	1
1.1 Merisienet	1
1.2 Arktiset merisienet.....	2
1.3 Jan Mayen.....	3
1.4 Lajien erottelminen ja ITS-alue.....	3
1.5 Tutkielman tavoite ja hypoteesit	5
2 Menetelmät	5
2.1 Laboratoriotyöskentely.....	5
2.2 Fylogeneettiset analyysit.....	7
3 Tulokset	9
4 Pohdinta.....	17
4.1 Jan Mayenin merisienilajisto	17
4.2 Lajistojen vertailu alueittain	18
4.3 Johtopäätökset.....	20
5 Kiitokset.....	20
Lähteet.....	20
Liitteet.....	24
Liite 1. Jan Mayenilta kerätyistä ajopuu- ja levänäytteistä saatujen sekvenssien koodit, niiden työnimet ja parhaat BLAST-osumat NCBI:n geenipankista	24
Liite 2. Alustava fylogeneettinen puu Jan Mayenin sekvensseistä ja niiden parhaista BLAST-osumista.....	24

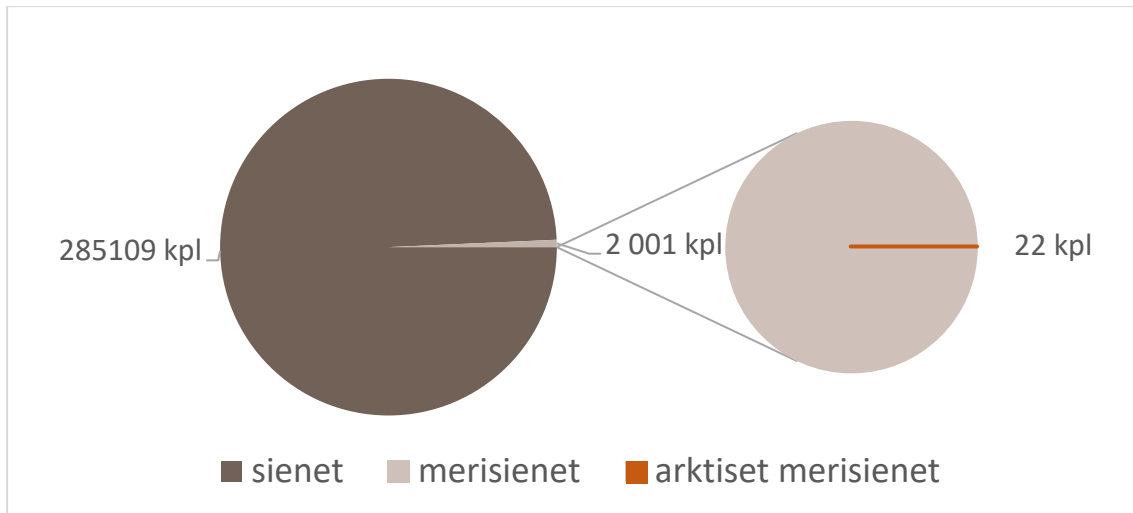
1 Johdanto

1.1 Merisienet

Merisienet ovat sieniä, jotka pystyvät kasvamaan tai lisääntymään meriympäristössä, muodostavat symbionttisia suhteita muihin meriorganismeihin tai pystyvät geneettisesti adaptoitumaan tai olemaan metabolisesti aktiivisia meriympäristössä (Pang ym. 2016). Merisienet ovat loisia, mutualistisia symbiontteja sekä ravinteiden kierrolle tärkeitä saprotrofeja eli kuolleen orgaanisen materiaalin kuluttajia (Rämä ym. 2014). Merisieniä voidaan löytää hyvin monenlaisista elinympäristöistä, kuten syvänmeren sedimenteistä, hydrotermisistä purkausaukoista, merijäältä, pintavesistä sekä vuorovesirannoilta (Gladfelter ym. 2018). Myös kasvualustat eli substraatit, joilla merisienet kasvavat, ovat moninaisia: ajopuusta eläviin ja kuolleisiin makroleviin sekä panssarilevistä merten selkärangattomiin ja jopa kaloihin. Ei siis ole ihme, että merisienien uskotaan olevan tärkeässä osa merten biogeokemiallista kiertoa.

Merisienet ovat myös fylogeneettisesti monimuotoinen ryhmä. Merisieniyhteisön koostumukseen vaikuttaa maantieteellinen sijainti, erilaiset ekologiset muuttujat sekä substraatti (Rämä ym. 2014). Ajopuulla ja makrolevillä dominoiva sieniryhmä on kotelosienet (Kohlmeyer & Kohlmeyer 1979; Rämä ym. 2014). Monet meristä löytyvät sienet ovat samoja, joita esiintyy myös maalla. Tällaiset terrestriseksi ajateltujen lajien esiintymät on perinteisesti merisienitutkimuksessa ohitettu kontaminaatioina (Rämä ym. 2014). Tällainen poissulkeminen ei ota huomioon sienten plastisuutta ja metabolista muuntautumiskykyä (Slepecky & Starmer, 2009; Wittenberg ym. 2009). Richards ym. (2012) osoittivatkin, että sienten evoluutiohistoriassa on tapahtunut useita siirtymiä terrestrisestä ympäristöstä meriympäristöön sekä päinvastoin.

Laajasta levinneisyydestään ja monimuotoisuudestaan huolimatta merisienet ovat hyvin vähän tutkittu eliöryhmä. Esimerkiksi Web Of Science -tietokannan kaikista sieniä käsittelevistä artikkeleista vain 0,7 % käsittelee merisieniä (kuva 1) (Web Of Science 2023). Ensimmäiset merisienet kuvattiin tieteellisesti 1850-luvulla (Sutherland 1915). Aluksi merisienien monimuotoisuutta kartoitettiin morfologisten tuntomerkkien, pääasiassa itiöitä tuottavien rakenteiden, perusteella. DNA-tekniikat yleistyivät 1990-luvulta lähtien myös merisienitutkimuksessa, ja tämä kehitys on mullistanut käsityksemme merisienien monimuotoisuudesta (Pang ym. 2016). Vuonna 1996 arviot merisienien lajimäärästä olivat noin 1500, kun taas vuoteen 2011 mennessä arvio oli noussut 10 000 lajiin (Jones 2011).



Kuva 1. Sieniä, merisieniä ja arktisia merisieniä käsittelevien artikkeleiden määrät Web Of Science -tietokannassa 12.4.2023 (Web Of Science 2023).

1.2 Arktiset merisienet

Web Of Science -tietokannan 2001:stä merisieniä käsittelevästä julkaisusta vain 22 julkaisua käsittelee arktisia merisieniä (kuva 1; Web Of Science 2023). Uraauurtava merisienitutkimus 1900-luvulla keskittyi lähinnä lauhkeisiin alueisiin (Sutherland 1916, 1915; Barghoorn & Linder 1944; Kohlmeyer & Kohlmeyer 1979). Ei ole kuitenkaan todisteita siitä, että merisienilajisto olisi suppeampaa pohjoisilla leveyspiireillä (Rämä ym. 2017), joten merisienitutkimusta tarvitaan myös arktisella alueella. Vaikka tutkittavaa riittää yhä, on arktisten merisienien tutkimus lisääntynyt 2000-luvulla, ja suhteellisen suuri löydettyjen uusien lajien määrä viittaa arktiselle alueelle ominaisen puulla kasvavan merisienilajiston olemassaoloon (Rämä ym. 2014).

Ilmastonmuutoksen vaikutukset näkyvät voimakkaimmin maapallon pohjoisimmilla alueilla, Arktiksella (AMAP 2021). Ilmastonmuutos aiheuttaa muun muassa meriveden lämpenemistä, meriveden suolapitoisuuden vähenemistä ja merijään sulamista. Ajopuun kulkeutuminen arktisille rannoille on riippuvaista merijäästä: jos rungot eivät kulkeutuisi osaa matkasta joko merijäähän kiinnittyneinä tai jään päällä, ne eivät kelloisi koko pitkää merimatkaa Siperian rannikolta saarille, Manner-Norjaan, Islantiin tai Grönlantiin (Hellmann ym. 2013; Kolář ym. 2022). Merijään väheneminen tulee todennäköisesti vähentämään uuden ajopuun kertymistä rannoille, minkä voi olettaa vaikuttavan negatiivisesti rantojen ajopuulla esiintyvään lajistoon. Tutkimuksen vähäisyyden vuoksi emme tiedä, miten ilmastonmuutoksen aiheuttamat muutokset vaikuttavat muilla kasvualustoilla esiintyviin arktisiin merisieniin (Rämä ym. 2017).

1.3 Jan Mayen

Jan Mayen (70°58'59.99" N -8°31'59.99" W) (Latitude.to 2024) on Norjalle kuuluva arktinen tulivuorisaari Pohjoisella jäämerellä. Saari sijaitsee 950 kilometriä Norjasta länteen ja 600 kilometriä Islannista pohjoiseen (Simen Grinden 2015). Jan Mayenilla sijaitsee sääasema, joka on ollut asutettu vuodesta 1921 lähtien, mutta muuten saari on asumaton. Jan Mayenilla vallitsee arktinen ilmasto ja saari on osittain jäätiköiden peittämä. Meriveden keskilämpötila Jan Mayenilla on lämpimimpänä kuukautena 6,5 °C (Seatemperature.Info 2023).

Hellman ym. (2013) osoittivat arktisen ajopuun olevan lähtöisin Siperian ja Pohjois-Amerikan sirkumpolaarisista borealisista metsistä, mistä puuaines kulkeutuu suurten jokien kautta Pohjoiseen jäämereen. Todennäköisesti ajopuuta kulkeutuu Jan Mayenille samoja reittejä. Kesävi-hanta puu yleensä uppoaa ennen kiinnittymistään merijäähän, joten arktisilta rannoilta löytyvä ajopuu on tyypillisesti havupuulajistoa (Hellman ym. 2013). Yleisin arktisten rantojen ajopuu-laji on metsämänty (*Pinus sylvestris* L.), joka on pääosin lähtöisin Siperiasta.

1.4 Lajien erottaminen ja ITS-alue

Vaikka laji on biologian peruskäsite, ei sille ole yhtä yleisesti hyväksyttyä määritelmää. Lajien rajat eivät ole absoluuttisia, vaan aina jossain määrin subjektiivisia. On olemassa lukuisia erilaisia lajikäsitteitä, joista osa on pääasiassa teoreettisia, osa käytännöllisempiä. Sienten taksonomisessa tutkimuksessa on perinteisesti hyödynnetty morfologista lajikäsitettä (Taylor ym. 2000). Morfologisen lajikäsitteen mukaan lajit erotetaan toisistaan ominaisuuksien epäjatkuvuuden perusteella (Aldhebani, 2018). Lajirajojen määrittely morfologian perusteella voi kuitenkin olla hyvin subjektiivista, eivätkä lajien väliset erot usein näy morfologiassa, mikä vuoksi monet kryptiset lajit jäävät tunnistamatta pelkästään morfologisen luokittelun perusteella (Taylor ym. 2000). Fylogeneettisellä lajien erottamisella on pyritty ohittamaan näitä ongelmia tarkastelemalla suoraan geneettistä vaihtelua, joka ei (vielä) ilmenny morfologiassa. Harrington ja Rizzo (1999) ehdottivat fylogeneettiseksi lajin määritelmäksi pienintä ryhmittymää populaatioita, jolla on yhteinen kantamuoto ja joilla on yhteisiä ainutlaatuisia, tunnistettavia fenotyyppejä piirteitä (“... the smallest aggregation of populations with a common lineage that share unique, diagnosable phenotypic characters”).

ITS-alue on standardoitu geneettinen markkeri sienten fylogeneettisessä tutkimuksessa. Se on tuman ribosomaalisen RNA-sistonin osa, joka koostuu kahdesta transkription jälkeisissä pro-

sesseissa poistettavasta välikappaleesta (ITS1 ja ITS2) sekä niiden väliin jäävästä 5.8S-geenistä (Schoch ym. 2012). ITS on valikoitunut viralliseksi sienten DNA-viivakoodiksi, koska useimmissa sieniryhmissä sen monistamisella ja sekvensoinnilla on korkea onnistumisprosentti ja sen variaatio lajien välillä on selvästi suurempaa kuin lajinsisäinen variaatio. Tämä mahdollistaa sienilajien erottelun toisistaan ITS-alueen perusteella. Yli 94,3 % samankaltaisten ITS-alueen sekvenssien voidaan ajatella useimmiten edustavan samaa sukua ja yli 99,6 % samankaltaisten sekvenssien edustavan samaa lajia (Vu ym. 2019). Lajinsisäisen (kuten myös suvunsisäisen) vaihtelun määrä ITS-alueella kuitenkin vaihtelee eri sieniryhmissä, eikä tarkkaa rajaa ole (Schoch ym. 2012). Vaikka koko sienikunnalle soveltuvaa kynnysarvoa ei voida määrittellä, käytän tässä tutkielmassa yleisenä lajien erottelun rajana 97 %:n kynnysarvoa.

ITS-alue ei ole täydellinen työkalu lajien erottelukseen, ja sen käyttökelpoisuus vaihtelee eri sieniryhmien välillä (Schoch ym. 2012). ITS-alueen samanlaisuutta eri lajien välillä on havaittu muun muassa Pezizomycotina-ala-alueeseen kuuluvissa suvuissa *Cladosporium*, *Penicillium* ja *Fusarium*. Toisen ongelman lajien erottelussa ITS-alueen perusteella aiheuttavat kimeeriset eli keinoitekoisesti yhdistyneet sekvenssit (Nilsson ym. 2015). Eri alkuperistä olevat sekvenssit voivat PCR:n aikana yhdistyä epäaidoksi sekvenssiksi, joka ei edusta mitään tiettyä lajia. ITS-alue on valitettavan edullinen kimeeristen sekvenssien muodostumiselle hyvin konservoituneen 5.8S-geenin vuoksi. Kimeeriset sekvenssit aiheuttavat ongelmia erityisesti sekvensoitaessa ympäristönäytteitä, joissa on luonnollisesti paljon eri lajeja. Niitä voi kuitenkin syntyä myös itiöemistä eristettyä DNA:ta monistaessa, esimerkiksi kontaminaatioista, itiöemillä loisivista sienistä tai muista symbionteista johtuen.

Näistä ongelmista huolimatta DNA-viivakoodit ovat hyödyllisiä lajien erottelussa. Nykyään vallalla oleva, niin sanottu monivaiheinen taksonomia (polyphasic taxonomy) yhdistää morfologisen ja fylogeneettisen sekä muita lähtökohtia lajien erottelussa (Gannibal, 2022). Monivaiheisessa taksonomiassa käytetään vertailevia analyyskejä kaikista saatavilla olevista tuntomerkeistä, jolloin erilaiset lajikäsitteet täydentävät toisiaan. Geneettisen informaation käyttö yhdessä muiden tuntomerkkien kanssa auttaa saamaan kokonaisvaltaisen kuvan fenotyypistä vaihtelusta ja antaa varmemman pohjan lajirajojen vetämiselle. Tässä tutkielmassa karotoitan Jan Mayenin merisienilajistoa DNA-viivakoodien perusteella. Rajallisen ajan vuoksi en ole juurikaan voinut yhdistää sienistä kerättyä morfologista ja ekologista informaatiota DNA-pohjaisiin analyysseihin.

1.5 Tutkielman tavoite ja hypoteesit

Tämän tutkielman tarkoituksena on kartoittaa Jan Mayenin ajopuulla ja levillä esiintyvää merisienilajistoa ja verrata sitä muun arktisen alueen merisienilajistoon sekä Antarktiksensa puuta ja rakennusmateriaaleja kolonisoivaan sienilajistoon. Erityisesti tarkastelen Jan Mayenin ja Manner-Norjan lajistojen välisiä eroja. Hypoteesini on, että Jan Mayenilta löytyy arktista lajistoa, jota ei löydy Manner-Norjan lauhkeammilta vesiltä. Jan Mayenin merisienilajistoa ei ole aiemmin kartoitettu, ja tutkielma antaa lisää tietoa arktisten merisienilajien levinneisyydestä, jota voidaan hyödyntää saarta ja arktisia alueita koskevassa päätöksenteossa.

2 Menetelmät

2.1 Laboratoriotyöskentely

Tutkimusaineistona oli 86 Jan Mayenilta vuoden 2022 elokuussa kerättyä levä- ja ajopuunäytettä. Osallistuin valmiiksi kerättyjen näytteiden analysointiin. Määritin näytteistä löytyvää merisienilajistoa stereo- ja läpivalaisumikroskoopin avulla. Jos sienestä löytyi valomikroskoopilla tarkasteltuna itiöitä muodostavia rakenteita, keräsin itiöemiä DNA-näytettä varten ja perustin itiöitä tuottavista rakenteista tai itiöistä viljelmiä.

Itiöemä-DNA-näytettä varten poimin yhdestä viiteen itiöemää suodatinpaperille, jonka taittelin, merkitsin ja säilytin, kunnes olin käynyt läpi kaikki näytteet. Pipetoin laminaarikaapissa (Thermo Scientific™ Herasafe™ 2000 Class II Biological Safety Cabinet) steriloituihin Eppendorf-putkiin 100 mikrolitraa steriloitua Milli-Q®-vettä (Merck) ja siirsin itiöemät suodatinpaperilta putkiin. Sekoitin liuokset Vortex-sekoittimella (VWR®) ja pakastin ne -80°C:ssa. Näytteet olivat pakastimessa vähintään vuorokauden. Pakastuksen jälkeen sekoitin liuoksia uudelleen Vortex-sekoittimella.

Perustin jokaisesta löydetyistä sienistä kaksi puhtasviljelmää, yhden mallasuute-agar-maljalle (D2MAA) ja yhden maissijauho-agar-maljalle (D2CAA). Yksi litra D2MAA-kasvupohjaa sisälsi 4 g VWR® mallasuutetta, 40 g Instant Ocean® merisuolaa, 15 g agaria ja 1 L Milli-Q® vettä. Yksi litra D2CAA-kasvupohjaa sisälsi 17 g NutriSelect® Plus maissijauho-agaria (2g/L maissijauhoa, 15g/L agaria), 40 g Instant Ocean® merisuolaa ja 1 L Milli-Q® vettä. Lisäksi maljoissa oli antibiootteja (kanamysiini, 10mg/L; streptomysiini, 25mg/L) bakteerikontaminaatioiden ehkäisemiseksi. Poimin maljalle steriloidun partaterän tai neulan avulla yhdestä viiteen

itiöemää substraatilta tai itiöitä mikroskooppilasilta. Kostutin poimimiani itiöemiä tai itiöitä steriloidulla Milli-Q®-vedellä ja suljin maljat tiivistekalvolla. Maljoja säilytettiin +15°C:ssa.

Kun viljelmät olivat kasvaneet riittävästi, otin niistä DNA-näytteet. Maljan reunalla, kaukana inokulaatiokohdasta kasvaneet koloniat oletin kontaminaatioiksi ja poistin. Viljelmistä otetuista DNA-näytteistä saadaan todennäköisemmin hyvä sekvenssi kuin suoraan itiöemistä otetuista DNA-näytteistä. Itiöemä-DNA-näytteitä otetaan kuitenkin siltä varalta, että sienien viljely epäonnistuu. DNA-näytteet viljelmistä otin vastaavasti kuin itiöemä-DNA-näytteet: Avasin viljelmät laminaarikaapissa ja otin steriilillä muovitikulla sienirihmasto steriloituun Eppendorf-putkeen, jossa oli 100 mikrolitraa steriloitua Milli-Q®-vettä. Sekoitin liuokset Vortex-sekoittimella, pakastin ne -80°C:ssa ja sekoitin uudelleen Vortex-sekoittimella.

Monistin DNA-näytteistä ITS1, 5.8S ja ITS2-alueita PCR-menetelmällä (taulukko 1) ja sekvenssoin PCR-tuotteet. Liiallinen määrä sientä näytteessä voi johtaa PCR:n epäonnistumiseen, joten ennen PCR:ää tein DNA-näytteistä 1 : 50-laimennokset ja käytin PCR:ssä sekä alkuperäisiä näytteitä että laimennoksia. Yksinkertaisen PCR-pohjan ohje sisälsi 12,5 µL DreamTaq Green PCR Master Mix (2 x) -liuosta (Thermo Scientific), 0,5 µL 10 µM ITS5-aluketta, 0,5 µL 10 µM ITS4-aluketta (Bruns ym. 1990) ja 10,5 µL ddH₂O-vettä. Pipetoin PCR-putkiin 24 µL PCR-pohjaa ja 1 µL DNA-näytettä. Kontrolliputkeen pipetoin DNA-näytteen sijasta 1 µL:n ddH₂O-vettä.

Taulukko 1. Käytetty PCR-ohjelma

Työvaihe	Lämpötila	Aika
Alkudenaturaatio	95 °C	5 min
Denaturaatio	95 °C	30 s
Sykli 35x	Alukkeiden kiinnittyminen	30 s
	Ekstensio	72 °C
Loppuekstensio	72 °C	10 min
Säilytys	4 °C	∞

Tarkistin elektroforeesilla, onnistuiko PCR. Käytin elektroforeesissa 1 %:sta agarosigeeliä (Agarosi (Life technologies, UltraPure™ Agarose), 1 x TBE (Life technologies), 10 x Gel Red (BioTium)) ja puskuriliuoksena 1 x TBE-liuosta. Agarosigeelissä käytetty Gel Red tekee DNA:n näkyväksi, kun elektroforeesin tulosta tarkastellaan UV-valossa. Valikoin elektroforeesin perusteella onnistuneet PCR-tuotteet puhdistettaviksi ja sekvensoitaviksi. Jos osa PCR-tuotteista tuotti elektroforeesissa vahvemman viivan ja osa heikomman, tein vahvimista PCR-

tuotteista 1 : 5-laimennokset pipetoimalla PCR-putkeen 75 µL ddH₂O-vettä. PCR-tuotteiden puhdistukseen käytin A'SAP™ PCR Clean-up Kit -pakkausta (ArcticZymes) valmistajan ohjeiden mukaan ja suoritin puhdistusohjelman laitteella Eppendorf Mastercycler® nexus gradient PCR Thermal Cycler (taulukko 2).

Taulukko 2. PCR-tuotteiden puhdistukseen käytetty puhdistusohjelma

Työvaihe	Lämpötila	Aika
Inkubaatio	37 °C	5 min
Lämpöinaktivaatio	80 °C	10 min
Säilytys	4 °C	∞

Sekvensointia varten tein jokaisesta puhdistetusta PCR-tuotteesta sekä ITS5-alukkeellisen liuoksen että ITS4-alukkeellisen liuoksen. Liuoksiin tuli 1 µL puhdistettua PCR-tuotetta, 1 µL Big Dye 3.0 -väriainetta, 2 µL 5 x Sekvensointipuskuria (Applied Biosystems, dGTP Big-Dye™ Terminator v. 3.0 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit), 1 µL 1 µM:sta ITS5- tai ITS4-aluketta ja 5 µL ddH₂O-vettä. Suoritin sekvensointiohjelman PCR-laitteella (taulukko 3), minkä jälkeen toimitin sekvensointituotteet Tromssan yliopistollisen sairaalan sekvensointilaboratorioon luettaviksi.

Taulukko 3. Käytetty sekvensointiohjelma

Työvaihe	Lämpötila	Aika
Alkudenaturaatio	96 °C	1 min
Sykli 30x	Denaturaatio	96 °C
	Alukkeiden kiinnittyminen	47 °C
	Ekstensio	60 °C
Säilytys	4 °C	∞

2.2 Fylogeneettiset analyysit

Jan Mayenin näytteistä saatiin yhteensä 89 sekvenssiä. Tarkistin ja tarvittaessa korjasin saatuja sekvenssejä Geneious Prime -ohjelmistolla (<https://www.geneious.com/>). Tarkastelin sekvenssien samankaltaisuutta NCBI:n geenipankista (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) löytyviin sekvensseihin BLAST-haulla (Altschup ym. 1990) (liite 1). Poimin jokaiselle sekvenssille yhdestä viiteen parasta BLAST-osumaa, joiden joukosta valitsin uniikit sekvenssit ja keräsin yhteen fasta-tiedostoon. Haun perusteella annoin Jan Mayenin sekvensseille työnimet. Jos sekvenssin

samankaltaisuus (identity) parhaaseen osumaan oli alle 97 %, merkitsin samankaltaisuusprosentin sekvenssin nimeen. Tein Jan Mayenin sekvensseistä ja niiden parhaista BLAST-osumista linjauksen ja alustavan fylogeneettisen sukupuun (liite 2). Alustavan puun pohjalta sain tietää, mitä luokkia aineistossa oli.

Tein kotelosienistä luokkakohtaiset linjaukset ja niiden pohjalta fylogeneettiset puut. Kantasieniä oli huomattavasti vähemmän kuin kotelosieniä, joten tein yhden fylogeneettisen puun, joka sisälsi kaikki aineiston kantasienet. Lisäksi tein oman fylogeneettisen puun *Mucoromycotina*-alajaksolle. Otin näihin puihin mukaan Jan Mayenin sekvenssit ($n = 89$) sekä vertailusekvenssejä eri tutkimuksista arktiselta alueelta sekä Antarktikselta (Blanchette ym. 2010, 2016; Rämä ym. 2014; Hagestad ym. 2020). Vertailusekvenssejä oli yhteensä 318: Manner-Norjasta 147, muualta arktiselta alueelta (Grönlanti, Siperia ja Huippuvuoret) 117 ja Antarktikselta 54. Jan Mayenin, Manner-Norjan ja muun arktisen alueen sekvenssit olivat vain merisienistä, Antarktikselta oli mukana historiallisista rakennuksista puulta ja muilta rakennusmateriaaleilta eristettyjä sieniä. Lisäsin myös tyyppisekvenssit niistä lajeista, joita BLAST-osumien perusteella löytyi Jan Mayenin aineistoista, jos lajin tyyppisekvenssi löytyi NCBI:n geenipankista. Tarkistin taksonomisten ryhmien ajantasaiset tieteelliset nimet ja lajien autorit MycoBank-tietopankista (<https://www.mycobank.org/>). Fylogeneettisissä puissa (kuvat 2–7) voi olla vanhentuneita lajinimiä, mutta tutkielmatekstin tulososuudessa (pääluku 3) mainitut lajinimet ovat ajantasaisia.

Tein linjaukset MAFFT v. 7 -ohjelmalla. Fylogeneettiset puut perustuvat Maximum likelihood -metodiin ja rapid bootstrapping-analyysiin (RaXML-HPC2 on XSEDE (8.2.12)). Bootstrap-iteraatioita oli 1000. Maximum Likelihood -metodi perustuu todennäköisyyslaskentaan, eli sillä tuotetaan todennäköisimpään polveutumishistoriaan perustuva fylogeneettinen puu tutkittavista näytteistä (Huelsenbeck & Crandall, 1997). Tuotetun fylogenian luotettavuutta testataan bootstrap-analyysillä, joka tuottaa datasta pseudoreplikaatteja uudelleenjärjestelmällä alkuperäistä sekvenssidataa ja tuottaa näistä pseudoreplikaateista fylogenian samalla periaatteella kuin alkuperäisestä datasta (Ojha ym. 2022). Noodin eli puun oksan bootstrap-arvo ilmentää sitä, kuinka monessa iteraatiossa sadasta kyseinen noodi oli samassa kohdassa kuin alkuperäisessä puussa.

3 Tulokset

Jan Mayenin näytteissä oli eniten kotelosieniä (86,5 %), mutta myös kantasieniä ja yksi *Mucoromycotina*-laji. Kotelosieniluokkia oli neljä (*Leotiomycetes*, *Dothideomycetes*, *Eurotiomycetes* ja *Sordariomycetes*) ja kantasieniluokkia kolme (*Agariomycetes*, *Microbotryomycetes* ja *Tremellomycetes*). Yleisimmät luokat olivat *Leotiomycetes* (27,6 %) ja *Dothideomycetes* (24,84 %). Yleisin suku oli *Cadophora* (18,4 %) ja yleisin laji oli *Cadophora luteo-olivacea* (J.F.H. Beyma) T.C. Harrington & McNew (11,96 %).

Jan Mayenin aineistossa oli useita lajeja ja ryhmiä, joita ei ollut Manner-Norjan aineistossa. Monia näistä lajeista ei löytynyt myöskään geenipankista tai muiden vertailualueiden aineistoista. Kymmenen sekvenssiä Jan Mayenin 89:stä sekvenssistä sai ainoastaan alle 97 %:n BLAST-osumia lajitasolle määritetyistä sekvensseistä NCBI:n geenipankista. Näistä kaksi, JM_FB22 ja JM_FB3, edustivat morfologiansa ja ekologiansa perusteella tunnettua lajia *Phycomelaina laminariae* (Rostr.) Kohlm., josta ei ole aikaisemmin tuotettu DNA-viivakoodia, eikä sen vuoksi ollut löydettävissä geenipankissa tai vertailuaineistoissa. Muut kahdeksan (taulukko 4) edustavat mahdollisesti tieteelle uusia lajeja. Näistä kolme sai ainoastaan alle 97%:n osumia kaikista geenipankin sekvensseistä ja ryhmittyi fylogeneettisissä analyyseissä erilleen vertailuaineistojen sekvensseistä vähintään bootstrap-arvolla 80 (kuvat 2–4). Nämä lajit ovat siis mahdollisesti myös Jan Mayenille endeemisiä, eli esiintyvät vain Jan Mayenilla (taulukko 4).

Taulukko 4. Potentiaalisesti tieteelle uusia lajeja edustavat Jan Mayenin näytteet, kunkin paras BLAST-osuma ja samankaltaisuus parhaan BLAST-osuman kanssa. Mahdollisesti Jan Mayenille endeemisiä lajeja edustavat näytteet on merkitty keltaisella korostusvärillä.

Näyte	paras BLAST-osuma	samankaltaisuus (identity)
JM_NMF42	<i>Phialocephala</i> sp. ¹	94,83 %
JM_NMF49	<i>Phialocephala</i> sp. ¹	94,83 %
JM_NMF73	<i>Cadophora</i> sp.	83,50 %
JM_22_69	<i>Pseudeurotium</i> sp.	99,60 %
JM_22_15	<i>Pseudeurotium</i> sp.	99,01 %
JM_22_45	<i>Pleurostoma</i> sp.	97,88 %
JM_NMF65	<i>Scedosporium</i> sp.	92,50 %
JM_NMF35	<i>Sclerococcum</i> sp.	91,33 %
JM_NMF74	<i>Mytilinidion</i> sp.	99,25 %
JM_NMF33	<i>Trichoderma</i> sp.	82,76 %

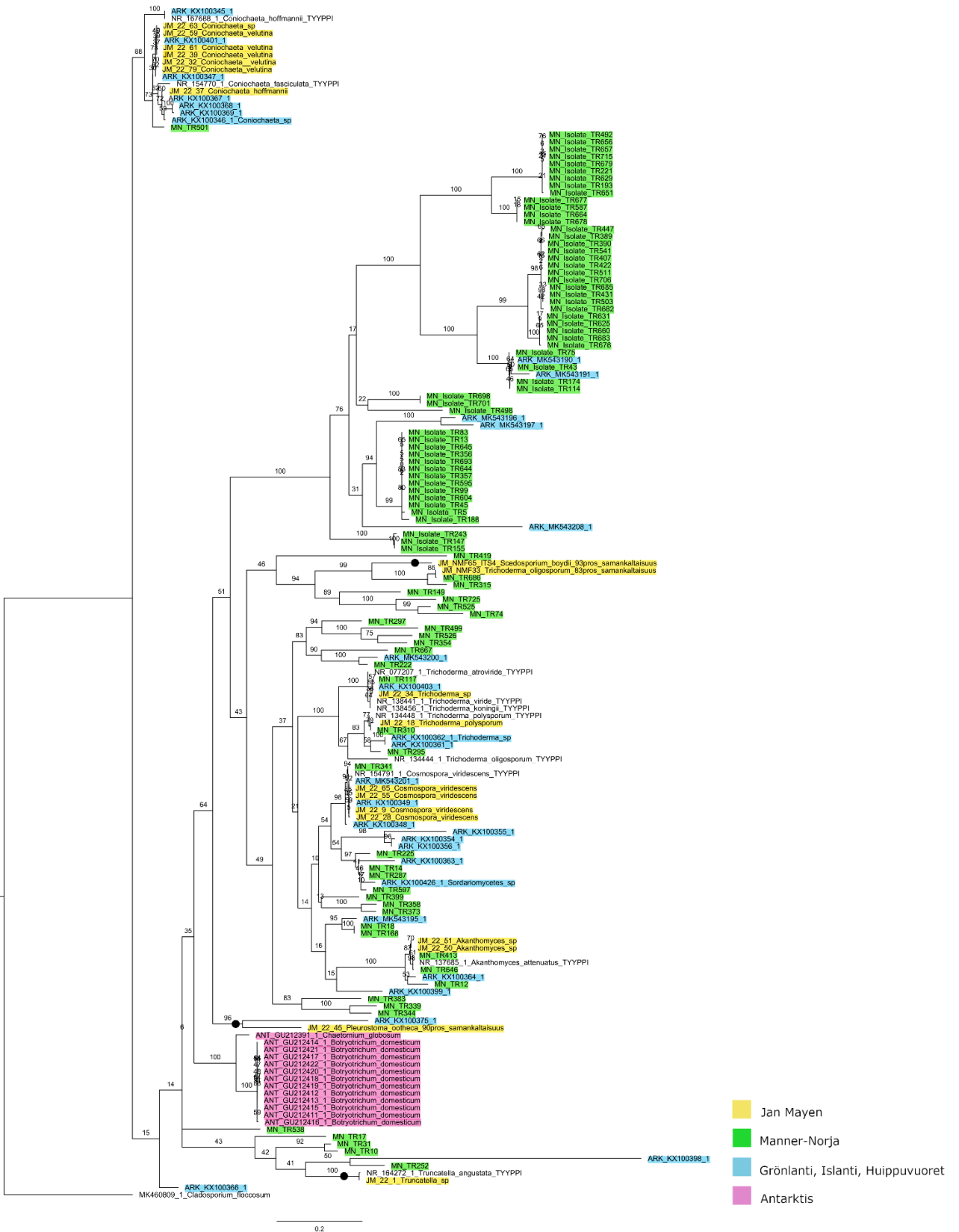
¹Näytteet JM_NMF42 ja JM_NMF49 saivat BLAST-haulla myös yli 97% samankaltaisen osuman sekvenssistä MG195486.1, jolle on todennäköisesti virheellisesti annettu nimi *Mollisia* sp.

Leotiomycetes-luokan puussa (kuva 2) oli 13 Jan Mayenin sekvenssiä, joille ei löytynyt vastaavia Manner-Norjan aineistosta, eli ne ryhmittivät erilleen Manner-Norjan sekvensseistä vähintään bootstrap-arvolla 80. Nämä sekvenssit sijoituivat sukuihin *Thelebolus*, *Pseudeurotium* ja *Pseudogymnoascus* ja *Cadophora*. Sekvenssi JM-22-52 oli BLAST-haun perusteella yhtä samankaltainen (98,64 %) lajien *Thelebolus microsporus* (Berkeley & Broome) Kimbrough ja *Thelebolus balaustiformis* E. Bovio, L. Garzoli, A. Poli, V. Prigione & G.C. Varese kanssa. Sekvenssi JM_FB24 taas oli yhtä samankaltainen (99,61 %) lajien *Thelebolus microsporus* ja *Thelebolus globosus* Brummelen & de Hoog kanssa. Sekvenssit JM_22_15 ja JM_22_69 sijoituivat BLAST-haun perusteella *Pseudeurotium*-sukuun (yli 99 %:n samankaltaisuus), mutta eivät saaneet hyviä osumia eli osumia, joiden samankaltaisuusprosentti on 97% tai enemmän, minkään tunnetun *Pseudeurotium*-lajin kanssa. Sekvenssit JM_22_76, JM_NMF47, JM_NMF52 ja JM_NMF43 edustivat lajia *Pseudogymnoascus pannorum* (Link) Minnis & D.L. Lindner. JM_NMF73-sekvenssille ei löytynyt hyvää osunaa geenipankista tai vastaavuutta vertailuaineistoista. Samankaltaisin (83,50 %) laji BLAST-haun perusteella oli *Cadophora spadicis* R. Travadon, D.P. Lawrence, S. Rooney-Latham, W.D. Gubler, W.F. Wilcox, P.E. Rolshausen & K. Baumgartner, joka on sittemmin kuvattu uudelleen nimellä *Cadophora ramosa* S.Bien & Damm (Bien & Damm, 2020), ja myös fylogeneettisen analyysin perusteella sekvenssi sijoittui muiden *Cadophora*-lajien yhteyteen. Viimeiset neljä Manner-Norjan sekvensseistä selvästi erottuvaa Jan Mayenin sekvenssiä edustivat joko lajia *Cadophora fastigiata* Lagerberg & Melin tai *Cadophora melinii* Nannfeldt. Näiden lisäksi Leotiomycetes-luokan puussa oli kaksi sekvenssiä, JM_NMF42 ja JM_NMF49, jotka sijoituivat BLAST-haun perusteella *Phialocephala*-sukuun, mutta eivät saaneet hyviä osumia mistään tunnetusta *Phialocephala*-lajista, mikä viittaa siihen, että kyseessä on mahdollisesti tieteelle uusi laji. Sekvensseille löytyi kuitenkin geenipankista myös yli 97%:n osuna, jolle oli todennäköisesti virheellisesti annettu nimi *Mollisia* sp., eli laji ei ole Jan Mayenille endeeminen.



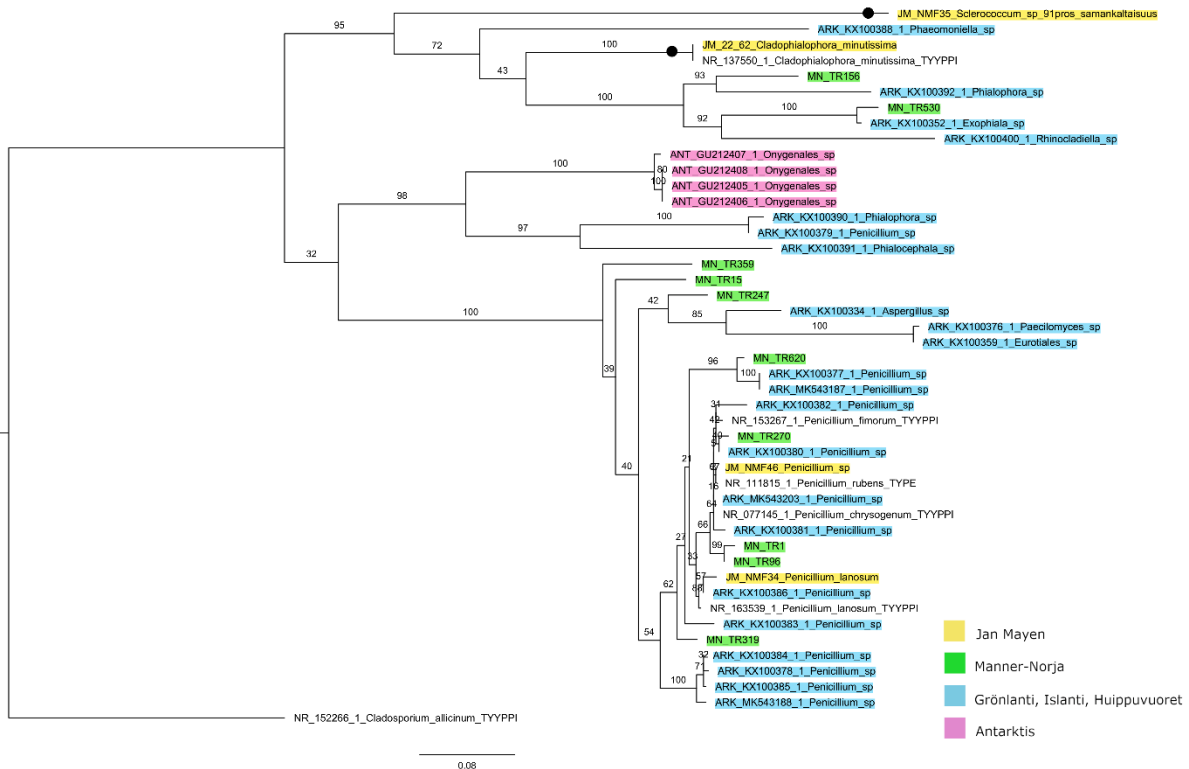
Kuva 2. Leotiomycetes-luokan puu. Fylogeneettinen puu, jossa on kaikki Jan Mayenin aineiston ja vertailuaineistojen Leotiomycetes-luokkaan kuuluvat sekvenssit/OTU:t (operatiiviset taksonomiset yksiköt), sekä Jan Mayenilta löydettyjen lajien tyyppinäytteiden sekvenssejä. Ulkoryhmä on *Cladosporium floccosum*. Mustat pallot merkitsevät tilastollisesti merkitseviä (bootstrap-arvo yli 80) noodeja, joissa on Jan Mayenin sekvenssejä, mutta ei Manner-Norjan sekvenssejä.

Sordariomycetes-luokan puussa (kuva 3) oli kolme Jan Mayenin sekvenssiä, joille ei löytynyt vastaavia Manner-Norjan aineistosta. Yksi näistä, sekvenssi JM_22_1, sijoittui sukuun *Truncatella*. Sekvenssi oli BLAST-haun perusteella yhtä samankaltainen (99,81 %) lajien *Truncatella angustata* (Pers.) S. Hughes ja *Truncatella laurocerasi* (Westendorp) Steyaert kanssa. Kahdelle muulle sekvenssille ei löytynyt hyvää lajistason osumaa geenipankista tai vastaavuutta vertailuaineistoista. Paras lajitasolle määritetty BLAST-osuma näistä toiselle, sekvenssille JM_22_45, oli *Pleurostoma ootheca* (Berkeley & M.A. Curtis) M.E. Barr (90,68 %:n samankaltaisuus) ja toiselle, sekvenssille JM_NMF65, paras osuma oli *Scedosporium boydii* (Shear) Gilgado, Gené, Cano & Guarro (92,50 %:n samankaltaisuus). Sekvenssi JM_22_45 oli lisäksi 97,88 % samankaltainen sekvenssin kanssa, jolle oli annettu nimi ”*Pleurostoma* sp.”. Molemmat ovat siis mahdollisesti uusia lajeja, ja JM_NMF65 on mahdollisesti Jan Mayenille endeeminen. Näiden lisäksi Sordariomycetes-luokan puussa oli myös mahdollisesti uutta lajia edustava sekvenssi JM_NMF33, joka ei saanut hyviä osumia geenipankista, ja jonka paras lajitasolle määritetty osuma oli *Trichoderma oligosporum* Z.X. Zhu & W.Y. Zhuang (82,76%:n samankaltaisuus). Sekvenssi edustaa fylogeneettisen puun perusteella samaa lajia kuin Manner-Norjasta löytynyt sekvenssi MN_TR686 (kuva 3).



Kuva 3. Sordariomycetes-luokan puu. Fylogeneettinen puu, jossa on kaikki Jan Mayenin aineiston ja vertailuaineistojen Sordariomycetes-luokkaan kuuluvat sekvenssit/OTU:t, sekä Jan Mayenilta löydettyjen lajien tyyppinäytteiden sekvenssejä. Ulkoryhmä on *Cladosporium floccosum*. Mustat pallot merkitsevät tilastollisesti merkitseviä (bootstrap-arvo yli 80) noodeja, joissa on Jan Mayenin sekvenssejä, mutta ei Manner-Norjan sekvenssejä.

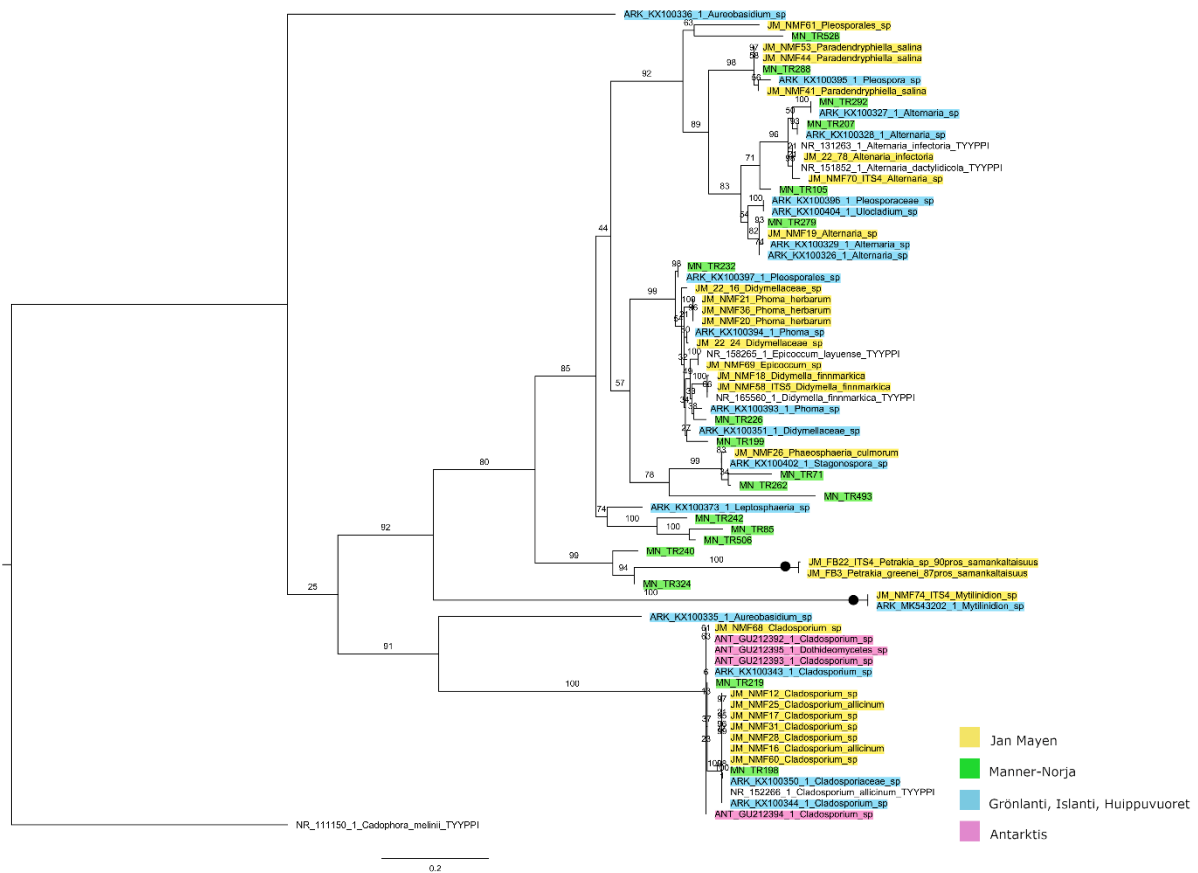
Eurotiomycetes-luokan puussa (kuva 4) oli kaksi Jan Mayenin sekvenssiä, joille ei löytynyt vastaavia sekvenssejä Manner-Norjan aineistosta. Toinen näistä, sekvenssi JM_22_62, edusti lajia *Cladophialophora minutissima* M.L. Davey & Currah. Toiselle, sekvenssi JM_NMF35:lle, ei löytynyt hyvää osumaa geenipankista tai vastaavia sekvenssejä vertailuaineistoista. Paras BLAST-osuma tälle sekvenssille oli nimellä *Sclerococcum aff. parasiticum* (91,33 %:n samankaltaisuus).



Kuva 4. Eurotiomycetes-luokan puu. Fylogeneettinen puu, jossa on kaikki Jan Mayenin aineiston ja vertailuaineistojen Eurotiomycetes-luokkaan kuuluvat sekvenssit tai OTU:t, sekä Jan Mayenilta löydettyjen lajien tyyppinäytteiden sekvenssejä. Ulkoryhmä on *Cladosporium allicinum*. Mustat pallot merkitsevät tilastollisesti merkitseviä (bootstrap-arvo yli 80) noodeja, joissa on Jan Mayenin sekvenssejä, mutta ei Manner-Norjan sekvenssejä.

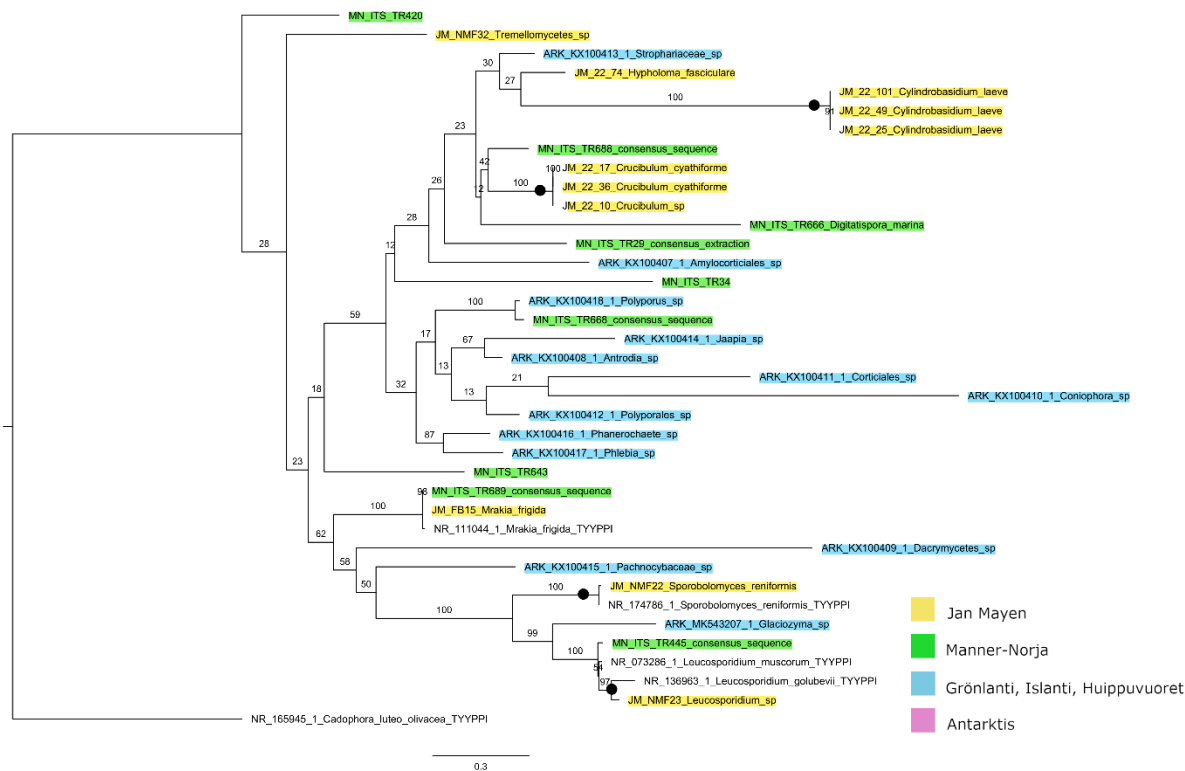
Dothideomycetes-luokan puussa (kuva 5) oli kolme sekvenssiä, joille ei löytynyt vastaavia Manner-Norjan aineistosta. Yksi näistä, sekvenssi JM_NMF74, sijoittui *Mytilinidion*-sukuun, mutta ei saanut hyvää osumaa mistään geenipankista löytyvästä lajitasolle nimetystä *Mytilinidion*-sekvenssistä. Samankaltaisuus lähimmän lajitasolle määritetyn *Mytilinidion*-lajin kanssa oli vain 83,01 %. Sekvenssi oli samaa lajia kuin arktiselta vertailualueelta löytynyt sekvenssi ARK_MK543202_1. Sekvenssit JM_FB22 ja JM_FB3 ovat tunnetusta lajista *Phycomelina laminariae*, jolle ei ole aiemmin tuotettu DNA-viivakoodia. Lajin on aiemmin luultu kuuluvan Sordariomycetes-luokkaan (*The Catalogue of Life Partnership: Species Fungorum Plus*,

2024), mutta tästä fylogeneettisistä analyysistä paljastuu, että se kuuluu luokkaan Dothideomycetes.

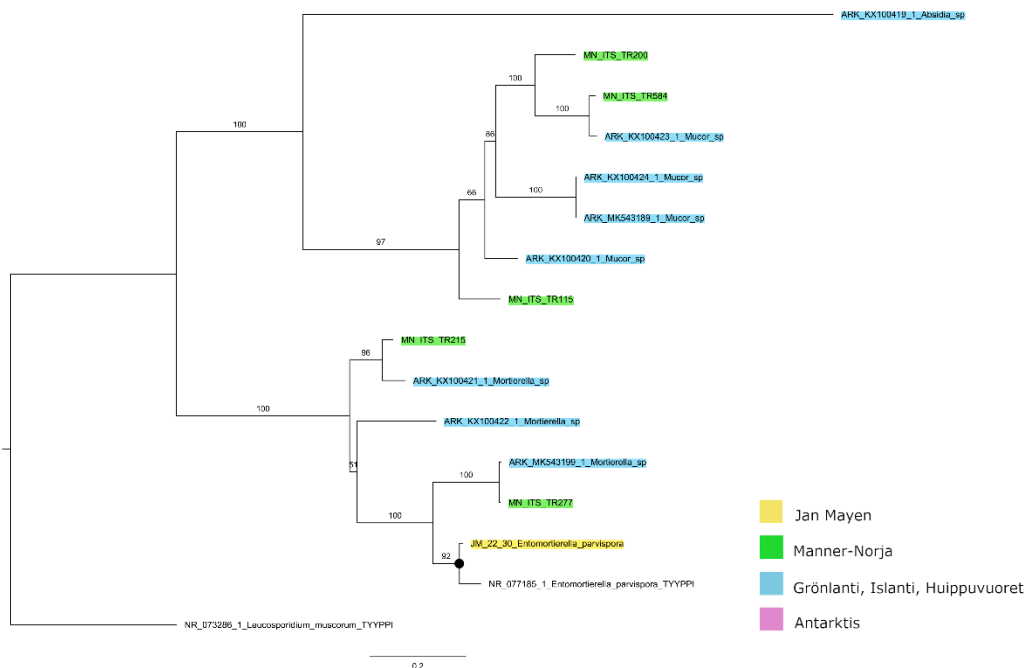


Kuva 5. Dothideomycetes-luokan puu. Fylogeneettinen puu, jossa on kaikki Jan Mayenin aineiston ja vertailuaineistojen Dothideomycetes-luokkaan kuuluvat sekvenssit tai OTU:t, sekä Jan Mayenilta löydettyjen lajien tyyppinäytteiden sekvenssejä. Ulkoryhmä on *Cadophora melinii*. Mustat pallot merkitsevät tilastollisesti merkitseviä (bootstrap-arvo yli 80) nodeja, joissa on Jan Mayenin sekvenssejä, mutta ei Manner-Norjan sekvenssejä.

Kantasienten fylogeneettisessä puussa (kuva 6) oli kahdeksan sekvenssiä, joille ei löytynyt vastaavia Manner-Norjan aineistosta. Näistä sekvensseistä kolme edusti BLAST-haun perusteella lajia *Cylindrobasidium laeve* (Pers.) Chamuris ja kolme lajia *Crucibulum cyathiforme* H.J. Brodie. Kaksi muuta, JM_NMF22 ja JM_NMF23, edustivat lajeja *Sporobolomyces reniformis* Q.M. Wang, F.Y. Bai & A.H. Li ja *Leucosporidium globulevii* Gadanho, J.P. Sampaio & R. Bauer. Jan Mayenilta löytynyttä Mucoromycotina-alajaksoon kuuluvaa lajia *Entomortierella parvispora* (Linnemann) Vandepol & Bonito ei löytynyt Manner-Norjan tai muiden vertailualueiden aineistoista (kuva 7).



Kuva 6. Kantasienten puu. Fylogeneettinen puu, jossa on kaikki Jan Mayenin aineiston ja vertailuaineistojen kantasieniin kuuluvat sekvenssit tai OTU:t, sekä Jan Mayenilta löydettyjen lajien tyyppinäytteiden sekvenssejä. Ulkoryhmä on *Cadophora luteo-olivacea*. Mustat pallot merkitsevät tilastollisesti merkitseviä (bootstrap-arvo yli 80) noodeja, joissa on Jan Mayenin sekvenssejä, mutta ei Manner-Norjan sekvenssejä.



Kuva 7. Mucoromycotina-alajakson puu. Fylogeneettinen puu, jossa on Jan Mayenin ja vertailuaineistojen kaikki Mucoromycotina-alajaksoon kuuluvat sekvenssit tai OTU:t, sekä Jan Mayenilta löydetyn lajin *Entomortierella parvispora* tyyppinäytteen sekvenssi. Ulkoryhmä on *Leucosporidium muscorum*. Mustat

pallot merkitsevät tilastollisesti merkitseviä (bootstrap-arvo yli 80) noodeja, joissa on Jan Mayenin sekvenssejä, mutta ei Manner-Norjan sekvenssejä.

4 Pohdinta

4.1 Jan Mayenin merisienilajisto

Tässä tutkielmassa kartoitin Jan Mayenin merisienilajistoa levä- ja ajopuunäytteiltä ja vertailin sitä DNA-sekvenssien perusteella muun arktisen alueen merisienilajistoon sekä Antarktisen puuta ja rakennusmateriaaleja kolonisoivaan sienilajistoon. Selvästi suurin osa Jan Mayenilta saaduista sekvensseistä kuului kotelosienilajeille. Vain pieni osa edusti kantasieniä ja vielä pienempi osa Mucoromycotina-alajaksoa. Myös aiemmissa napa-alueiden ajopuun merisienilajistoa käsittelevissä tutkimuksissa on havaittu samanlainen jakauma, jossa kotelosienet ovat selvästi yleisin ja kantasienet toiseksi yleisin ryhmä (Blanchette ym. 2016; Rämä ym. 2016; Pedersen ym. 2020). Myös sedimenteistä löydetään tyypillisesti eniten kotelosieniä, kun taas merivedessä ja merijäätissä vaikuttaa olevan enemmän kantasieniä ja piiskasiimasieniä (Rämä ym. 2017).

Monet eristetyistä sekvensseistä saivat huonoja osumia geenipankin tunnetuista lajeista, mikä viittaa siihen, että näytteissä on tieteelle tuntemattomia sienilajeja (taulukko 4). Osa näistä sekvensseistä myös erottui fylogeneettisissä analyyseissä selvästi vertailualueiden lajistosta (kuvat 2–5), joten osa tuntemattomista lajeista voi olla Jan Mayenille endeemisiä (taulukko 4). Voi myös olla, että näytteet edustavat tunnettuja lajeja, joille ei ole DNA-viivakodeja geenipankissa. Jotta saadaan varmuus siitä, edustavatko näytteet tieteelle uusia lajeja, on näytteiden ekologiaa ja morfologiaa tarkasteltava yhdessä geneettisen informaation kanssa.

Uusien lajien määrittämisessä törmätään siihen ongelmaan, että ei ole yksiselitteistä sääntöä sille, miten paljon uuden lajin on erottava muista lajeista, tai miten paljon vaihtelua lajin sisällä voi olla. DNA-viivakoodit eivät ole täydellinen työkalu lajien erottelemiseen, ja soveltuvat joillekin sieniryhmille paremmin kuin toisille (Schoch ym. 2012). Esimerkiksi Jan Mayenilta löytynyttä kahdeksaa *Cladosporium*-suvun yksilöä ei pystytä määrittämään lajitasolle DNA-viivakoodien perusteella, sillä *Cladosporium*-suvussa lajien välillä ei esiinny riittävästi vaihtelua ITS-alueella (Schoch ym. 2012). Toisaalta morfologian perusteellakin lajinmääritys on haasteellista, sillä eri lajit eivät aina eroa havaittavasti morfologialtaan. Tällaisissa tapauksissa on tarpeellista sekvensoida muita geenejä, erityisesti proteiineja koodaavia geenejä (Seifert ym. 2007; Visagie ym. 2014).

Jan Mayenin näytteistä löytyneistä lajeista huomattava osa edusti *Cadophora*-sukua. *Cadophora*-suku on morfologisesti ja ekologisesti monimuotoinen sekä viimeaikaisten tutkimusten mukaan parafyleettinen (Maciá-Vicente ym. 2020; Zhang ym. 2022). Se siis sisältää yhteisen kantamuodon, mutta jättää pois joitain monofyleettisiä ryhmiä. Jan Mayenin *Cadophora*-lajit muodostavat monofyleettisen ryhmän, mutta sen sijaan yksi arktiseen vertailualueeseen kuuluva *Cadophora*-sekvenssi, ARK_KX100342_1, sijoittuu erilleen muista *Cadophora*-sekvensseistä (kuva 2). Tämä voi johtua siitä, että ryhmä on parafyleettinen, sillä puun topologian (rakenteen) perusteella kyseisellä sekvenssillä on yhteinen kantamuoto paitsi muiden *Cadophora*-suvun sekvenssien, myös kaikkien muiden Leotiomycetes-puun sekvenssien kanssa. Toisaalta kyseisen noodin bootstrap-arvo on vain 39, eli sillä ei ole tilastollista tukea, vaikka muita *Cadophora*-sekvenssejä yhdistävällä noodilla onkin. Myös useilla muilla puiden noodeilla on alhaiset bootstrap-arvot, joten puiden kokonaistopologiaan on suhtauduttava varauksella.

Cadophora-lajien on raportoitu dominoivan puisten substraattien sieniyhteisöjä myös aiemmissä tutkimuksissa napa-alueilta (Blanchette ym. 2004, 2010, 2016; Rämä ym. 2017). Niiden on havaittu olevan tehokkaita lahottajia, joilla on käytössään laaja kirjo kylmässä toimivia entsyymejä (Blanchette ym. 2016). Yleisyytensä ja tehokkaan hajotustoimintansa perusteella *Cadophora*-lajien voidaan olettaa olevan tärkeässä asemassa ravinteiden kierrossa napa-alueilla (Blanchette ym. 2016; Rämä ym. 2017; Zhang ym. 2022), mukaan lukien Jan Mayenin saarella.

4.2 Lajistojen vertailu alueittain

Fylogeneettisten puiden perusteella tarkastelin erityisesti Jan Mayenin ja Manner-Norjan merisienilajistojen eroja. Hypoteesini oli, että Jan Mayenilta löytyy arktista lajistoa, jota ei löydy Manner-Norjasta. Hypoteesi sai tukea: Jan Mayenin aineistosta löytyi lajeja ja ryhmiä, joita ei löytynyt Manner-Norjan aineistosta. Globaalisti tärkeimpiä ajopuulla kasvavien merisienien esiintymiseen vaikuttavia ympäristötekijöitä ovat meriveden lämpötila ja suolapitoisuus (Rämä ym. 2014). Manner-Norjan pohjoisimman seudun, Finnmarkin läänin, meriveden keskilämpötila lämpimimpänä kuukautena on noin 9,5 °C (World Sea Temperatures 2023), kun taas vastaava luku Jan Mayenilla on 6,5 °C (Seatemperature.Info 2023). Osaa havaituista eroista alueiden merisienilajistoissa voi siis hyvinkin selittää se, että Jan Mayenin kylmässä merivedessä esiintyy lajeja, jotka eivät menesty Manner-Norjan haaleassa vedessä. Tätä hypoteesia tukee myös se, että monia näistä lajeista löytyi Jan Mayenin lisäksi muilta Arktisilta vertailualueilta ja Antarktikselta.

Yksi Jan Mayenin ajopuunäytteiltä löytynyt suku, jota ei ollut Manner-Norjan aineistossa, oli *Thelebolus* (kuva 2). *Thelebolus*-suku on kylmään sopeutunut (Wicklow & Malloch 1971) ja yleinen Antarktiksella (De Hoog ym. 2005; Leotta & Reinoso 2009; Nikitin ym. 2022). Toinen kahdesta *Thelebolus*-sukuun sijoittuneesta sekvenssistä, JM_FB24, oli BLAST-haun perusteella yhtä samankaltainen lajien *T. globosus* ja *T. microsporus* kanssa. Fylogeneettisen puun (kuva 2) perusteella myös *T. balaustiformis* on hyvin samankaltainen näytteen kanssa. Puusta huomataan, että lajien *T. globosus* ja *T. balaustiformis* tyyppisekvenssit eivät juurikaan eroa, mikä voi viitata siihen, että kyseessä on sama laji. Näin ollen myöhemmin kuvattu *T. balaustiformis* ei olisikaan oma lajinsa. On kuitenkin todettu, että ITS-alue ei välttämättä ole toimiva geneettinen markkeri lajien erotteluun *Thelebolus*-suvussa (De Hoog ym. 2005), joten *T. balaustiformis* -lajia ei voida sulkea pois mahdollisena identiteettinä *Thelebolus*-sukuun sijoittuneille näytteille. Näistä kolmesta lajista *T. globosus*-lajia pidetään Antarktikselle endeemisenä (De Hoog ym. 2005), joten mikäli Jan Mayenilta löytynyt näyte edustaa tätä lajia, se muuttaa käsityksemme lajin levinneisyydestä. On myös mahdollista, että kyseessä on *T. microsporus* tai *T. balaustiformis* -lajin yksilö, tai tieteelle tuntematon kylmässä vedessä menestyvä *Thelebolus*-laji. Kyseisen näytteen identiteetin selvittämiseksi tulisi hyödyntää siitä hankittua ekologista ja morfologista informaatiota sekä proteiineja koodaavien geenien sekvenssointia.

On huomioitava, että vertasin Jan Mayenilta löytynyttä lajistoa vain yhteen julkaisuun Manner-Norjasta, vaikkakaan muita yhtä laajoja ja DNA-sekvenssejä sisältäviä julkaisuja Manner-Norjan merisienistä ei juuri ole. Kyseisessä julkaisussa käsiteltiin myös vain puisella substraatilla kasvavia merisieniä, kun taas Jan Mayenilta ja muilta arktisilta vertailualueilta mukana oli myös levillä kasvavia sieniä. Näin ollen varmuutta siitä, onko tiettyjä lajeja havaittu Manner-Norjassa vai ei, ei tämän vertailun perusteella saada. Toisaalta sekvenssejä saatiin Jan Mayenilta varsin vähän, joten myöskään Jan Mayenin ajopuulla ja levillä esiintyvän merisieniyhteisön kokonaisdiversiteetti tuskin on edustettuna.

Jan Mayenilta löytyi monia samoja lajeja, joita oli myös muun arktisen vertailualueen ja Antarktiksensa aineistoissa. Erityisesti Leotiomycetes-luokan puussa (kuva 2) nähdään yhtäläisyyksiä Jan Mayenin ja Antarktiksensa lajistoissa: molemmista sijainneista on löydetty paljon *Cadophora*-suvun yksilöitä sekä lajia *Pseudogymnoascus pannorum*. Lisäksi Jan Mayenilla ja muilla arktisilla alueilla oli paljon samaa lajistoa, mukaan lukien potentiaalisesti tieteelle uusi *Mytilinidion*-laji (kuva 5). Toisaalta kaikilta vertailtavilta alueilta oli myös sekvenssejä, joille ei löytynyt vastaavia muilta alueilta.

4.3 Johtopäätökset

Jan Mayenin ajopuulla ja makrolevilla elää monimuotoinen merisienilajisto, johon kuuluu muun muassa tehokkaita kylmään sopeutuneita lahottajia sekä mahdollisesti tieteelle tuntematonta ja endeemistä lajistoa. Todellisuudessa lajikirjo on todennäköisesti vielä paljon monimuotoisempi, kuin mitä tämän tutkielman perusteella voidaan todistaa. Sen lisäksi, että tutkielma antaa oletettavasti vain suppean kuvan Jan Mayenin ajopuun ja makrolevien sienilajistosta, niin saaren muilla substraateilla esiintyvä merisienilajisto jää vielä tutkittavaksi. Myös lajit, jotka eivät tuota itiöemiä, ja joita ei pystytä viljelemään, jäivät kartoittamatta. Joka tapauksessa tutkielma antaa ensikatsauksen Jan Mayenilta löytyvästä merisienidiversiteetistä ja siitä, miten se vertautuu muun arktisen alueen merisienilajistoon ja Antarktiksella esiintyvään sienilajistoon. Tätä tietoa voidaan hyödyntää jatkotutkimuksissa ja Jan Mayenin sekä Arktiksen luontoa koskevassa päätöksenteossa.

5 Kiitokset

Kiitos Timo Kososelle, joka ymmärsi ohjata minut näin innostavan aiheen äärelle. Kiitos hänelle ja Teppo Rämälle myös tämän tutkielman mahdollistamisesta ja kaikesta ohjauksesta matkan varrella. Tein tutkielmaa työharjoittelussa Tromssan yliopistolla Marbion tutkimusryhmässä osana Artsdatabankenin Norwegian Marine Fungi -projektia. Haluan kiittää Marbion ja Marbankin henkilökuntaa kärsivällisestä avusta käytännön laboratoriotyössä sekä Fanny Kurppaa kärsivällisyydestä ja neuvoista ulkomaan työharjoitteluun liittyen. Lopuksi kiitos Teemu Harjulle mittaamattomasta avusta tietotekniikan kanssa.

Lähteet

- Aldhebani, A. Y. (2018). Species Concept and Speciation. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(3), 437–440. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.04.013>
- Altschup, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic Local Alignment Search Tool. *Journal of Molecular Biology*, 215(3), 403–410. [https://doi.org/10.1016/s0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/s0022-2836(05)80360-2)
- AMAP, 2021. (2021). Arctic Climate Change Update 2021: Key Trends and Impacts. Summary for Policy-Makers.
- Barghoorn, E. S., & Linder, D. H. (1944). Marine Fungi: Their Taxonomy and Biology. *Farlowia :A Journal of Cryptogamic Botany*, 1(3), 395–467. <https://doi.org/10.5962/p.315987>

- Bien, S., & Damm, U. (2020). *Arboricolonus simplex* Gen. Et Sp. Nov. And Novelties in *Cadophora*, *Minutiella* and *Proliferodiscus* From *Prunus* Wood in Germany. *MycKeys*, 63, 119–161.
<https://doi.org/10.3897/mycokeys.63.46836>
- Blanchette, R. A., Held, B. W., Arenz, B. E., Jurgens, J. A., Baltes, N. J., Duncan, S. M., & Farrell, R. L. (2010). An Antarctic Hot Spot for Fungi at Shackleton’s Historic Hut on Cape Royds. *Microbial Ecology*, 60(1), 29–38. <https://doi.org/10.1007/s00248-010-9664-z>
- Blanchette, R. A., Held, B. W., Hellmann, L., Millman, L., & Buntgen, U. (2016). Arctic Driftwood Reveals Unexpectedly Rich Fungal Diversity. *Fungal Ecology*, 23, 58–65.
<https://doi.org/10.1016/j.funeco.2016.06.001>
- Blanchette, R. A., Held, B. W., Jurgens, J. A., McNew, D. L., Harrington, T. C., Duncan, S. M., & Farrell, R. L. (2004). Wood-Destroying Soft Rot Fungi in the Historic Expedition Huts of Antarctica. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(3), 1328–1335.
<https://doi.org/10.1128/AEM.70.3.1328-1335.2004>
- Bruns, T. D., Lee, S. B., & Taylor, J. W. (1990). Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, 315–322. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>
- De Hoog, G. S., Göttlich, E., Platas, G., Genilloud, O., Leotta, G., & Van Brummelen, J. (2005). Evolution, Taxonomy and Ecology of the Genus *Thelebolus* in Antarctica. *Studies in Mycology*, 51, 33–76. ISBN:90-70351-55-2
- Gannibal, Ph. B. (2022). Polyphasic Approach to Fungal Taxonomy. *Biology Bulletin Reviews*, 12(1), 18–28. <https://doi.org/10.1134/S2079086422010029>
- Gladfelter, A. S., James, T. Y., & Amend, A. S. (2018). Marine Fungi. *Current Biology*, 29(6), 191–195. <https://doi.org/10.1098/rspb.2018.0090>
- Hagestad, O. C., Andersen, J. H., Altermark, B., Hansen, E., & Rämä, T. (2020). Cultivable Marine Fungi From the Arctic Archipelago of Svalbard and Their Antibacterial Activity. *Mycology*, 11(3), 230–242. <https://doi.org/10.1080/21501203.2019.1708492>
- Harrington, T. C., & Rizzo, D. M. (1999). Defining Species in the Fungi. *Structure and Dynamics of Fungal Populations*, 43–71. Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-011-4423-0_3
- Hellmann, L., Tegel, W., Eggertsson, Ó., Schweingruber, F. H., Blanchette, R., Kirilyanov, A., Gärtner, H., & Buntgen, U. (2013). Tracing the Origin of Arctic Driftwood. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 118(1), 68–76. <https://doi.org/10.1002/jgrg.20022>
- Huelsenbeck, J. P., & Crandall, K. A. (1997). Phylogeny Estimation And Hypothesis Testing Using Maximum Likelihood. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 28(1), 437–466.
<https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.28.1.437>
- Jones, E. B. G. (2011). Are There More Marine Fungi to Be Described? *Botanica Marina*, 54(4), 343–354. <https://doi.org/10.1515/bot.2011.043>

- Kohlmeyer J., & Kohlmeyer E. (1979). Algae-Inhabiting Fungi. *Marine Mycology—the Higher Fungi*, 54–69. Academic Press.
- Kolář, T., Rybníček, M., Eggertsson, Ó., Kirdyanov, A., Čejka, T., Čermák, P., Žid, T., Vavřík, H., & Büntgen, U. (2022). Predicted Sea-Ice Loss Will Terminate Iceland’s Driftwood Supply by 2060 CE. *Global and Planetary Change*, 213. <https://doi.org/10.1016/j.gloplacha.2022.103834>
- Latitude.to (v1.64-im) 2024 (2024). <https://latitude.to/articles-by-country/no/norway/1594/jan-mayen> [Luettu 19.01.2024]
- Leotta, G. A., & Reinoso, E. H. (2009). *Thelebolus microsporus*. *Revista Argentina de Microbiología*, 41(3), 197. PMID: 19831319
- Maciá-Vicente, J. G., Piepenbring, M., & Koukol, O. (2020). Brassicaceous Roots as an Unexpected Diversity Hot-Spot of Helotialean Endophytes. *IMA Fungus*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/s43008-020-00036-w>
- Nikitin, D. A., Sadykova, V. S., Kuvarina, A. E., Dakh, A. G., & Biryukov, M. V. (2022). Enzymatic and Antimicrobial Activities in Polar Strains of Microscopic Soil Fungi. *Doklady Biological Sciences*, 507(1), 380–393. <https://doi.org/10.1134/S0012496622060151>
- Nilsson, R. H., Tedersoo, L., Ryberg, M., Kristiansson, E., Hartmann, M., Unterseher, M., Porter, T. M., Bengtsson-Palme, J., Walker, D. M., De Sousa, F., Gamper, H. A., Larsson, E., Larsson, K. H., Kõljalg, U., Edgar, R. C., & Abarenkov, K. (2015). A Comprehensive, Automatically Updated Fungal ITS Sequence Dataset for Reference-Based Chimera Control in Environmental Sequencing Efforts. *Microbes and Environments*, 30(2), 145–150. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME14121>
- Ojha, K. K., Mishra, S., & Singh, V. K. (2022). Computational Molecular Phylogeny: Concepts and Applications. *Bioinformatics*, 67–89. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89775-4.00025-0>
- Pang, K. L., Overy, D. P., Jones, E. B. G., Calado, M. da L., Burgaud, G., Walker, A. K., Johnson, J. A., Kerr, R. G., Cha, H. J., & Bills, G. F. (2016). ‘Marine Fungi’ and ‘Marine-Derived Fungi’ in Natural Product Chemistry Research: Toward a New Consensual Definition. *Fungal Biology Reviews*, 30(4), 163–175. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2016.08.001>
- Pedersen, N. B., Matthiesen, H., Blanchette, R. A., Alfredsen, G., Held, B. W., Westergaard-Nielsen, A., & Hollesen, J. (2020). Fungal Attack on Archaeological Wooden Artefacts in the Arctic—Implications in a Changing Climate. *Scientific Reports*, 10(1), 14577. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71518-5>
- Rämä, T., Davey, M. L., Nordén, J., Halvorsen, R., Błaalid, R., Mathiassen, G. H., Alsos, I. G., & Kauserud, H. (2016). Fungi Sailing the Arctic Ocean: Speciose Communities in North Atlantic Driftwood as Revealed by High-Throughput Amplicon Sequencing. *Microbial Ecology*, 72(2), 295–304. <https://doi.org/10.1007/s00248-016-0778-9>

- Rämä, T., Hassett, B. T., & Bubnova, E. (2017). Arctic Marine Fungi: From Filaments and Flagella to Operational Taxonomic Units and Beyond. *Botanica Marina* 60(4), 433–452.
<https://doi.org/10.1515/bot-2016-0104>
- Rämä, T., Nordén, J., Davey, M. L., Mathiassen, G. H., Spatafora, J. W., & Kausserud, H. (2014). Fungi Ahoy! Diversity on Marine Wooden Substrata in the High North. *Fungal Ecology*, 8(1), 46–58. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2013.12.002>
- Richards, T. A., Jones, M. D. M., Leonard, G., & Bass, D. (2012). Marine Fungi: Their Ecology and Molecular Diversity. *Annual Review of Marine Science*, 4, 495–522. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-120710-100802>
- Schoch, C. L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J. L., Levesque, C. A., Chen, W., Bolchacova, E., Voigt, K., Crous, P. W., Miller, A. N., Wingfield, M. J., Aime, M. C., An, K. D., Bai, F. Y., Barreto, R. W., Begerow, D., Bergeron, M. J., Blackwell, M., ... Schindel, D. (2012). Nuclear Ribosomal Internal Transcribed Spacer (ITS) Region as a Universal DNA Barcode Marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(16), 6241–6246. <https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>
- seatemperature.info*. (2023, April 9). <https://seatemperature.info/jan-mayen-water-temperature.html>
 [Luettu 20.12.2023]
- Seifert, K. A., Samson, R. A., Dewaard §, J. R., Houbraken, J., André, C., Vesque, L., Moncalvo, J.-M., Louis-Seize, G., & Hebert, P. D. N. (2007). Prospects for Fungus Identification Using CO1 Dna Barcodes, With *Penicillium* as a Test Case. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(10), 3901-3906. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0611691104>
- Simen Grinden. (2015). *Jan Mayen Meteorologisk Institutt*. <https://jan.mayen.no/> [Luettu 20.12.2023]
- Slepecky, R. A., & Starmer, W. T. (2009). Phenotypic Plasticity in Fungi: A Review With Observations on *Aureobasidium pullulans*. *Mycologia*, 101(6), 823–832. <https://doi.org/10.3852/08-197>
- Sutherland, G. K. (1916). Marine Fungi Imperfecti. *New Phytologist*, 15, 35-48. [doi/10.1111/j.1469-8137.1916.tb07201.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1916.tb07201.x)
- Sutherland, Geo. K. (1915). New Marine Fungi On *Pelvetia*. *New Phytologist*, 14, 33–42.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1915.tb07171.x>
- Taylor, J. W., Jacobson, D. J., Kroken, S., Kasuga, T., Geiser, D. M., Hibbett, D. S., & Fisher, M. C. (2000). Phylogenetic Species Recognition and Species Concepts in Fungi. *Fungal Genetics and Biology*, 31(1), 21–32. <https://doi.org/10.1006/fgbi.2000.1228>
- The Catalogue of Life Partnership: Species Fungorum Plus*. (2024). <https://www.speciesfungorum.org/Names/GSDSpecies.asp?RecordID=336640> [Luettu 8.1.2024]
- Visagie, C. M., Houbraken, J., Frisvad, J. C., Hong, S. B., Klaassen, C. H. W., Perrone, G., Seifert, K. A., Varga, J., Yaguchi, T., & Samson, R. A. (2014). Identification and Nomenclature of the Genus *Penicillium*. *Studies in Mycology*, 78(1), 343–371. <https://doi.org/10.1016/j.smyco.2014.09.001>

- Vu, D., Groenewald, M., de Vries, M., Gehrman, T., Stielow, B., Eberhardt, U., Al-Hatmi, A., Groenewald, J. Z., Cardinali, G., Houbraken, J., Boekhout, T., Crous, P. W., Robert, V., & Verkley, G. J. M. (2019). Large-Scale Generation and Analysis of Filamentous Fungal DNA Barcodes Boosts Coverage for Kingdom Fungi and Reveals Thresholds for Fungal Species and Higher Taxon Delimitation. *Studies in Mycology*, 92, 135–154. <https://doi.org/10.1016/j.smyco.2018.05.001>
- Web of Science. (2023). Web Of Science –tietokannassa tehty kolme hakua:
<https://www.webofscience.com/wos/woscc/summary/493fccef-0b25-4cce-94e4-a3f82c81a666-815f5d9a/relevance/1> ; <https://www.webofscience.com/wos/woscc/summary/bdc6146a-811f-4513-bb71-d59973e7c6df-815f51a9/relevance/1> ;
<https://www.webofscience.com/wos/woscc/summary/ef01af72-e054-4400-91a5-0de6ffcc5d90-814cfb71/relevance/1> [luettu 12.4.2023]
- Wicklow, D., & Malloch, D. (1971). Studies in the Genus *Thelebolus*: Temperature Optima for Growth and Ascocarp Development. *Mycologia*, 63(1), 118-131.
<https://doi.org/10.2307/3757693>
- Wittenberg, A. H. J., van der Lee, T. A. J., M'Barek, S. Ben, Ware, S. B., Goodwin, S. B., Kilian, A., Visser, R. G. F., Kema, G. H. J., & Schouten, H. J. (2009). Meiosis Drives Extraordinary Genome Plasticity in the Haploid Fungal Plant Pathogen *Mycosphaerella Graminicola*. *PLoS ONE*, 4(6), e5863. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005863>
- World sea temperature 2023. (2023). *seatemperature.org*. <https://www.seatemperature.org/europe/norway/finnmark/> [Luettu 20.12.2023]
- Zhang, B., Li, X., Li, G., Wang, Q. M., & Wang, M. (2022). *Cadophora* Species From Marine Glaciers in the Qinghai-Tibet Plateau: An Example of Unsuspected Hidden Biodiversity. *IMA Fungus*, 13(15). <https://doi.org/10.1186/s43008-022-00102-5>

Liitteet

Liite 1. Jan Mayenilta kerätyistä ajopuu- ja levänäytteistä saatujen sekvenssien koodit, niiden työnimet ja parhaat BLAST-osumat NCBI:n geenipankista

Liite 2. Alustava fylogeneettinen puu Jan Mayenin sekvensseistä ja niiden parhaista BLAST-osumista

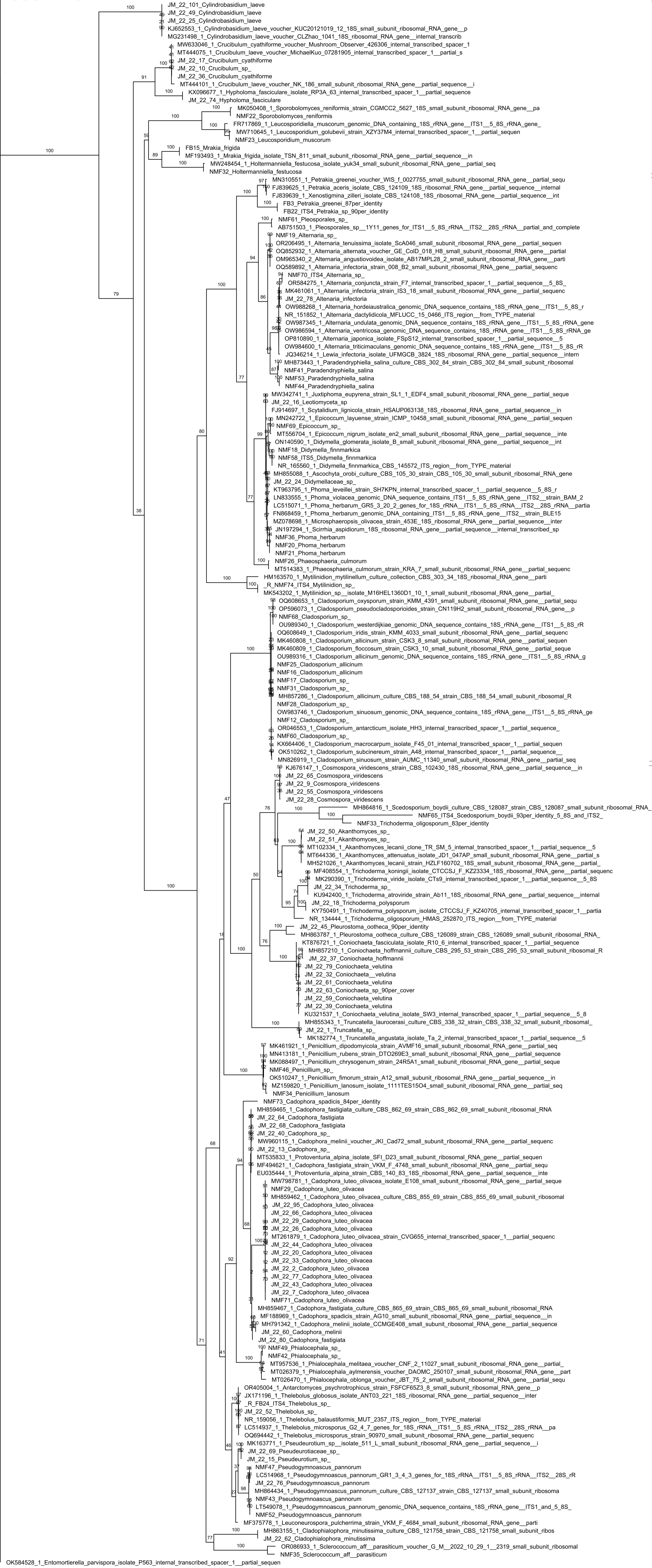
Liite 1. Jan Mayenilta kerätyistä ajopuu- ja levänäytteistä saatujen sekvenssien koodit, niiden työnimet ja parhaat BLAST-osumat NCBI:n geenipankista.

NÄYTE	NIMI	SAMANKALTAI-SUUS (IDENTITY) (%)	PÄÄLLEKKÄISYYS (QUERY COVER) (%)	TUNNISTE
JM-22-1	<i>Truncatella</i> sp.	99,81	100	MH855343.1
JM-22-2	<i>Cadophora luteo-olivacea</i>	100	100	MT261879.1
JM-22-7	<i>Cadophora luteo-olivacea</i>	100	100	MH859462.1
JM-22-9	<i>Cosmospora viridescens</i>	100	100	KJ676147.1
JM-22-10	<i>Crucibulum</i> sp.	97,78	100	MT444101.1
JM-22-13	<i>Cadophora</i> sp.	100	100	MW960115.1
JM-22-15	<i>Pseudeurotium</i> sp.	99,01	100	MK163771.1
JM-22-16	<i>Leotiomycetes</i> sp.	99,61	100	MW342741.1
JM-22-17	<i>Crucibulum</i> sp.	97,88	100	MW633046.1
JM-22-18	<i>Trichoderma polysporum</i>	100	100	KY750491.1
JM-22-20	<i>Cadophora luteo-olivacea</i>	99,15	100	MT261879
JM-22-24	<i>Didymellaceae</i> sp.	100	100	MK268151.1
JM-22-25	<i>Cylindrobasidium laeve</i>	99,86	100	MG231498.1
JM-22-26	<i>Cadophora luteo-olivacea</i>	100	100	MT261879.1
JM-22-28	<i>Cosmospora viridescens</i>	99,38	98	KJ676147.1
JM-22-29	<i>Cadophora luteo-olivacea</i>	99,66	100	MT261879.1
JM-22-30	<i>Entomortierella parvispora</i>	100	100	OK584528.1
JM-22-32	<i>Coniochaeta velutina</i>	99,81	98	KU321537.1
JM-22-33	<i>Cadophora luteo-olivacea</i>	100	100	MT261879.1
JM-22-34	<i>Trichoderma</i> sp.	99,81	100	MT035967.1
JM-22-36	<i>Crucibulum cyathiforme</i>	99,01	100	MW633046.1
JM-22-37	<i>Coniochaeta hoffmannii</i>	99,38	100	MH857210.1
JM-22-39	<i>Coniochaeta velutina</i>	100	100	KU321537.1
JM-22-40	<i>Cadophora</i> sp.	100	100	MT635284.1
JM-22-43	<i>Cadophora luteo-olivacea</i>	100	100	MT261879.1
JM-22-44	<i>Cadophora luteo-olivacea</i>	100	100	MT261879.1
JM-22-45	<i>Pleurostoma</i> sp.	97,88	86	MH730174.1
JM-22-49	<i>Cylindrobasidium laeve</i>	99,86	100	MG231498.1
JM-22-50	<i>Akanthomyces</i> sp.	99,80	100	MT644336.1
JM-22-51	<i>Akanthomyces</i> sp.	99,82	100	MT644336.1
JM-22-52	<i>Thelebolus</i> sp.	98,64	100	LC514937.1
JM-22-55	<i>Cosmospora viridescens</i>	98,54	100	KJ676147.1
JM-22-59	<i>Coniochaeta velutina</i>	100	99	KU321537.1
JM-22-60	<i>Cadophora melinii</i>	99,40	99	MH791342.1
JM-22-61	<i>Coniochaeta velutina</i>	100	99	KU321537.1
JM-22-62	<i>Cladophialophora minutissima</i>	100	100	MH863155.1
JM-22-63	<i>Coniochaeta</i> sp.	99,41	93	KX100347.1
JM-22-64	<i>Cadophora fastigiata</i>	100	100	MF494621.1
JM-22-65	<i>Cosmospora viridescens</i>	99,23	100	KJ676147.1
JM-22-66	<i>Cadophora luteo-olivacea</i>	100	100	MH859462.1
JM-22-68	<i>Cadophora fastigiata</i>	99,47	100	MF494621.1
JM-22-69	<i>Pseudeurotium</i> sp.	99,60	99	MK163771.1
JM-22-74	<i>Hypholoma fasciculare</i>	100	100	KX096677.1
JM-22-76	<i>Pseudogymnoascus pannorum</i>	100	100	LC514968.1
JM-22-77	<i>Cadophora luteo-olivacea</i>	100	100	MT261879.1
JM-22-78	<i>Altenaria infectoria</i>	100	100	MK461061.1
JM-22-79	<i>Coniochaeta velutina</i>	99,81	98	KU321537.1
JM-22-80	<i>Cadophora fastigiata</i>	99,26	100	MH859467.1
JM-22-95	<i>Cadophora luteo-olivacea</i>	99,51	100	MH859462.1
JM-22-101	<i>Cylindrobasidium laeve</i>	99,73	100	KJ652553.1
JM_FB24	<i>Thelebolus</i> sp.	99,61	99	OQ694442.1
JM_FB22	<i>Petrakia</i> sp. ¹	90,16	92	FJ839625.1

JM_FB15	<i>Mrakia frigida</i>	99,70	100	MF193493.1
JM_FB3	<i>Petrakia</i> sp. ¹	86,79	99	MN310551.1
JM_NMF65	<i>Scedosporium</i> sp.	92,50	41	MH864816.1
JM_NMF74	<i>Mytilinidion</i> sp.	99,25	100	MK543202.1
JM_NMF70	<i>Alternaria</i> sp.	98,84	100	NR_151852.1
JM_NMF33	<i>Trichoderma</i> sp.	82,76	75	NR_134444.1
JM_NMF23	<i>Leucosporidium</i> sp.	99,16	100	NR_134444.1
JM_NMF22	<i>Sporobolomyces reniformis</i>	99,20	100	MK050408.1
JM_NMF32	<i>Tremellomyces</i>	99,32	100	OR392727.1
JM_NMF35	<i>Sclerococcum</i> sp.	91,33	100	OR086933.1
JM_NMF61	<i>Pleosporales</i> sp.	98,97	98	AB751503.1
JM_NMF19	<i>Alternaria</i> sp.	100	100	OR978134.1
JM_NMF41	<i>Paradendryphiella salina</i>	99,67	100	MH873443.1
JM_NMF53	<i>Paradendryphiella salina</i>	98,51	100	MH873443.1
JM_NMF44	<i>Paradendryphiella salina</i>	98,51	100	MH873443.1
JM_NMF26	<i>Phaeosphaeria culmorum</i>	99,29	100	MT514383.1
JM_NMF58	<i>Didymella finnmarkica</i>	99,80	98	NR_165560.1
JM_NMF18	<i>Didymella finnmarkica</i>	99,82	96	NR_165560.1
JM_NMF69	<i>Epicoccum</i> sp.	100	100	T556704.1
JM_NMF21	<i>Phoma herbarum</i>	98,75	100	FN868459.1
JM_NMF36	<i>Phoma herbarum</i>	98,75	100	FN868459.1
JM_NMF20	<i>Phoma herbarum</i>	98,75	100	FN868459.1
JM_NMF68	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	OP596126.1
JM_NMF31	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	MH857286.1
JM_NMF60	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	EU167591.1
JM_NMF12	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	MG548567.1
JM_NMF17	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	MG548567.1
JM_NMF28	<i>Cladosporium</i> sp.	100	100	MG548567.1
JM_NMF25	<i>Cladosporium allacinum</i>	100	100	OU989316.1
JM_NMF73	<i>Cadophora</i> sp.	83,50	91	MF188969.1
JM_NMF49	<i>Phialocephala</i> sp. ²	94,83	97	MT957536.1
JM_NMF42	<i>Phialocephala</i> sp. ²	94,83	98	MT957536.1
JM_NMF71	<i>Cadophora luteo-olivacea</i>	99,84	100	MH859462.1
JM_NMF29	<i>Cadophora luteo-olivacea</i>	100	100	MW798781.1
JM_NMF47	<i>Pseudogymnoascus pannorum</i>	99,83	100	OR900531.1
JM_NMF52	<i>Pseudogymnoascus pannorum</i>	100	100	LT549078.1
JM_NMF43	<i>Pseudogymnoascus pannorum</i>	100	100	LT549078.1

¹ Näytteet JM_FB22 ja JM_FB3 ovat peräisin lajista *Phycomelaina laminariae*, jonka ITS-alueella ei ole aikaisemmin sekvensoitu.

² Näytteet JM_NMF42 ja JM_NMF49 saivat BLAST-haulla myös yli 97% samankaltaisen osuman sekvenssistä MG195486.1, jolle on todennäköisesti virheellisesti annettu nimi *Mollisia* sp.



Mucoromycotina

Kantasienet

Dothideomycetes

Sordariomycetes

Eurotiomycetes

Leotiomycetes

Eurotiomycetes

Mucoromycotina