



HELSINGIN YLIOPISTO

**Autotrofisen ja heterotrofisen maahengityksen kehittyminen  
kuivuudessa boreaalisen metsämännyn (*Pinus sylvestris*) kasvu-  
alustalla**

Sini-Selina Salko

Maisterin tutkielma

Helsingin yliopisto

Metsätieteiden maisteriohjelma

Metsien ekologia ja käyttö

Maaliskuu 2020



Tiedekunta – Fakultet – Faculty Maatalous-metsätieteellinen tiedekunta		Koulutusohjelma – Utbildningsprogram – Degree Programme Metsätieteiden maisteriohjelma	
Tekijä – Författare – Author Sini-Selina Salko			
Työn nimi – Arbetets titel – Title Autotrofisen ja heterotrofisen maahengityksen kehittyminen kuivuudessa boreaalisen metsämännyn ( <i>Pinus sylvestris</i> ) kasvualueella			
Oppiaine/Opintosuunta – Läroämne/Studieinriktning – Subject/Study track Metsien ekologia ja käyttö			
Työn laji – Arbetets art – Level Maisterintutkielma		Aika – Datum – Month and year Maaliskuu 2020	Sivumäärä – Sidoantal – Number of pages 45
Tiivistelmä/Referat – Abstract			
<p>Maahengitys on prosessi, jossa orgaanista hiiltä vapautuu maasta hiilidioksidina ilmakehään. Borealisissa metsissä maan hiilivarasto on erityisen suuri suhteessa maanpäällisen biomassan muodostamaan hiilivarastoon, ja biomin metsäalueiden suuren koon vuoksi niiden maan orgaanisen hiilen varasto onkin huomattava. Maan hiilivaraston muodostuminen johtuu borealisilla alueilla vallitsevasta viileästä ilmastosta, jossa orgaanisen aineen hajoaminen on hidasta. Ilmastonmuutoksen myötä kuivemmaksi tai lämpimämmäksi muuttuva ilmasto saattaa aiheuttaa muutoksen maasta ilmakehään hiilidioksidina vapautuvan hiilen poistumisnopeudessa ja siten lämmittää ilmastoa entisestään.</p> <p>Maahengitys jaetaan kahteen erilliseen prosessiin: kulleen orgaanisen aineen hajotuksessa vapautuvaan heterotrofiseen hengitykseen sekä kasvinjuurten ja niiden pinnalla elävän mikrobiston soluhengitykseen eli autotrofiseen hengitykseen. Heterotrofisen hengityksen kasvaminen suhteessa karikkeen muodostumisnopeuteen tarkoittaa maaperän hiilivaraston pienenemistä, kun taas autotrofisen hengityksen kasvaminen tarkoittaa kasvien aktiivisuuden kasvamista ja samalla juuristoon varastoituvan hiilen määrän kasvua. Kuivuuden vaikutusta kummankin ositteen toimintaan on tutkittu paljon, ja vaikuttaa siltä, että borealisissa metsäekosysteemeissä autotrofisen maahengitys reagoi kuivuuteen heterotrofista hitaammin ja vähemmän voimakkaasti.</p> <p>Ilmakehän hiilidioksidiissa on hiilen kahta vakaata isotooppia, hiili-12 ja hiili-13:ta, joista borealisella alueella vallitsevat C3-kasvilajit suosivat yhteytyksessään hiili-12:ta. Näiden hiili-isotooppien välistä suhdetta ilmaistaan <math>\delta^{13}\text{C}</math>-arvolla, ja hiili-13 syrjijminen yhteytyksessä näkyy myös yhteyttävien organismien soluhengityksessä. Maahengityksen ositteista autotrofisen hengityksen <math>\delta^{13}\text{C}</math>-arvon onkin havaittu olevan pienempi kuin heterotrofisen hengityksen <math>\delta^{13}\text{C}</math>-arvo, sillä heterotrofisessa prosessissa hiili-13 syrjäytyy vähemmän. On kuitenkin havaittu, että kuivuuden aikana yhteytyksessä tapahtuu vähemmän hiili-13:n syrjijmistä, sillä yhteyttävä kasvi ei kuivuudessa ole yhtä valikoiva sitomansa hiilen suhteen kuin silloin, kun se ei koe kuivuutta. Maahengityksen ositteiden <math>\delta^{13}\text{C}</math>-arvossa on siis ero, joka muuttuu pienemmäksi ositteiden kokiessa kuivuutta.</p> <p>Tässä tutkimuksessa haluttiin selvittää, muuttuuko maahengityksen ositteiden suuruus eri tavoin niiden kokiessa kuivuutta sekä tarkastella, pieneneekö autotrofisen maahengitys heterotrofista hitaammin. Lisäksi haluttiin selvittää, voiko ositteita erottaa niiden <math>\delta^{13}\text{C}</math>-arvon perusteella; tätä tarkasteltiin seuraamalla ositteiden <math>\delta^{13}\text{C}</math>-arvon muutosta kuivuudessa. Maahengitystä mitattiin kahdesta eri koeasetelmasta: kasvihuoneella tehdystä männyntaimien (<i>Pinus sylvestris</i>) kuivuuskokeesta, jossa männyn juurista ja niiden kasvualustan maaperästä mitattiin hiilidioksidivuota ja vuon <math>\delta^{13}\text{C}</math>-arvoa inkubointimenetelmällä, sekä pirkanmaalaisesta mäntymetsästä, jossa hiilidioksidivuota ja sen <math>\delta^{13}\text{C}</math>-arvoa mitattiin inkubointi- ja kammiomittausmenetelmillä. Tämän jälkeen niiden kehitystä tarkasteltiin suhteessa toisiinsa sekä mittaushetkellä vallinneisiin kosteus- ja lämpötilaolosuhteisiin.</p> <p>Sekä kasvihuonekokeessa että mäntymetsässä autotrofisen maahengitys muuttui vähemmän suhteessa kuivuuden kehitykseen kuin heterotrofisen. Lisäksi mäntymetsässä autotrofisen hengityksen <math>\delta^{13}\text{C}</math>-arvo mitattiin teorian mukaisesti heterotrofista <math>\delta^{13}\text{C}</math>-arvoa pienemmäksi. Kummassakaan koeasetelmassa ei kuitenkaan havaittu kehittyvän selkeästi suhteessa kuivuuteen. Molemissa koeasetelmassa vaikutti olevan virhelähteitä, sillä ympäristöolosuhteet kehittyivät odottamattomasti sekä kasvihuoneella että metsässä. <math>\delta^{13}\text{C}</math>-mittauksissa vähemmän destruktivisen kammiomittausmenetelmän havaittiin tuottavan parempia tuloksia.</p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords maahengitys, maahengityksen ositteet, $\text{C}^{13}$ syrjäytyminen, boreaalinen metsämaa, mänty			
Ohjaaja tai ohjaajat – Handledare – Supervisor or supervisors Dosentti Liisa Kulmala (Helsingin yliopisto, Ilmatieteen laitos), tohtorikoulutettava Kira Ryhti (Helsingin yliopisto)			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited Helsingin yliopiston kirjasto – Helda / E-thesis (opinnäytteet) ethesis.helsinki.fi			
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information			



Tiedekunta – Fakultet – Faculty Faculty of Agriculture and Forestry		Koulutusohjelma – Utbildningsprogram – Degree Programme Department of Forest Sciences	
Tekijä – Författare – Author Sini-Selina Salko			
Työn nimi – Arbetets titel – Title The development of autotrophic and heterotrophic soil respiration in drought on boreal pine ( <i>Pinus sylvestris</i> ) soil matrix			
Oppiaine/Opintosuunta – Läroämne/Studieinriktning – Subject/Study track Forest Ecology and Management			
Työn laji – Arbetets art – Level Master's thesis		Aika – Datum – Month and year March 2020	
		Sivumäärä – Sidoantal – Number of pages 45	
Tiivistelmä/Referat – Abstract			
<p>Soil respiration is a process in which soil organic carbon is released in the atmosphere as carbon dioxide. In boreal forests, soil carbon storage is particularly high relative to the carbon storage of aboveground biomass. Due to the large size of the forest areas of the biome, boreal forests' soil organic carbon storage is globally significant. The cool climate drives the formation of soil carbon storage in boreal regions. With climate change, the growing conditions can become drier and warmer than they have been in the past, which can accelerate the carbon release from soil to the atmosphere, thereby further warming the climate.</p> <p>Soil respiration is divided into two distinct processes: heterotrophic respiration where carbon dioxide is released from decomposition of dead organic matter, and autotrophic cellular respiration of plant roots and root associated fungi. Increase in heterotrophic respiration in relation to litter formation rate implies a decrease in the carbon stock of the soil, whereas increase in autotrophic respiration implies an acceleration in the activity of the photosynthesizing biomass and, at the same time, an increase in the amount of carbon stored in the root system. The effect of drought on the activity of both components has been studied extensively, and it appears that autotrophic terrestrial respiration responds to drought more slowly and less strongly in the boreal forest ecosystem.</p> <p>Atmospheric carbon dioxide contains two stable carbon isotopes, carbon-12 and carbon-13, of which C3 plants prefer lighter carbon-12 in photosynthesis. The relationship between these carbon isotopes is expressed with <math>\delta^{13}\text{C}</math>-value, and the discrimination of carbon-13 in photosynthesis reflected in the cellular respiration of the autotrophic organisms. As a result, the <math>\delta^{13}\text{C}</math>-value of autotrophic respiration has been found to be lower than the <math>\delta^{13}\text{C}</math> value of heterotrophic respiration, as carbon-13 is discriminated less in the heterotrophic respiration. However, it has been found that during a drought period there is less discrimination of carbon-13 in plants' carbon assimilation, as the photosynthesizing plant may not be as selective for the carbon as when it is not exposed to drought. Thus, there is a difference in the <math>\delta^{13}\text{C}</math>-value of the soil respiration components, but it becomes smaller as the components experience drought.</p> <p>The purpose of this study was to determine whether the respiration rate of the components vary in different ways as they experience drought by examining whether autotrophic respiration decreases more slowly than heterotrophic. In addition, it was sought to determine whether the components could be distinguished by their <math>\delta^{13}\text{C}</math>-value, so the study examined the development of the components' <math>\delta^{13}\text{C}</math>-value during drought. The measurements were done in two different experiment sites. The first one was an artificial drought experiment with pine saplings (<i>Pinus sylvestris</i>) in a greenhouse, where carbon dioxide flux and its <math>\delta^{13}\text{C}</math>-flux was measured from pine roots and their soil by incubation method. Second one was in a Pirkanmaa pine forest where carbon dioxide flux and its <math>\delta^{13}\text{C}</math>-flux were measured with incubation method and chamber measuring method. After the sampling, the development of the phenomenon was examined together with moisture- and temperature conditions at the time of the measurement.</p> <p>In this study, soil respiration's autotrophic component changed more slowly in relation to drought than the heterotrophic component. In addition, in the pine forest, the <math>\delta^{13}\text{C}</math>-value of autotrophic respiration was below the heterotrophic <math>\delta^{13}\text{C}</math>-value, as the theory suggests. However, there was no clear development in relation to drought with the components' <math>\delta^{13}\text{C}</math>-value. In the greenhouse experiment, no clearly distinguishable development was observed between the development of the components, and the <math>\delta^{13}\text{C}</math>-value of soil respiration was rather similar between the components. In both experiment sites, there appeared to be sources of error as environmental conditions improved unexpectedly in both the greenhouse and in the forest. Furthermore, it can be stated that the less destructive chamber measuring protocol seems to produce more reliable data.</p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords soil respiration, soil respiration components, $\text{C}^{13}$ discrimination, boreal forest soil, pine			
Ohjaaja tai ohjaajat –Handledare – Supervisor or supervisors Docent Liisa Kulmala (Helsingin yliopisto, Ilmatieteen laitos), doctoral candidate Kira Ryhti (Helsingin yliopisto)			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited Helsingin yliopiston kirjasto – Helda / E-thesis (opinnäytteet) <a href="https://ethesis.helsinki.fi">ethesis.helsinki.fi</a>			
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information			

# Sisällysluettelo

<b>1 Johdanto</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Maahiili</b> .....	<b>1</b>
<i>1.1.1 Hiilenkierto borealisessa metsässä</i> .....	1
<i>1.1.2 Maahengityksen ositteet</i> .....	2
<i>1.1.3 Ilmastonmuutoksen vaikutus maahengitykseen</i> .....	3
<b>1.2 Hiilen vakaiden isotooppien käyttö kaasunvaihdon tutkimisessa</b> .....	<b>5</b>
<i>1.2.1 <sup>13</sup>C C3-kasvien yhteyksessä</i> .....	5
<i>1.2.2 Maahengityksen ositteiden erottaminen eristys- ja isotooppitekniikalla</i> .....	6
<b>1.3 Tavoitteet</b> .....	<b>8</b>
<b>2 Aineisto ja menetelmät</b> .....	<b>9</b>
<b>2.1 Kasvihuonekoe</b> .....	<b>9</b>
<i>2.1.1 Koeasetelma kasvihuonekokeessa</i> .....	9
<i>2.1.2 Maahengitysmittaukset kasvihuonekokeessa</i> .....	9
<i>2.1.3 Kasvihuonekokeen näytteiden jälkikäsitteily</i> .....	11
<i>2.1.4 Taustamittaukset kasvihuoneella</i> .....	12
<b>2.2 Maastomittaukset</b> .....	<b>12</b>
<i>2.2.1 Koeasetelma maastomittauksissa</i> .....	12
<i>2.2.2 Maahengitysmittaukset maastossa</i> .....	14
<i>2.2.3 Maastomittausten näytteiden jälkikäsitteily</i> .....	15
<i>2.2.4 Jatkuva-aikaiset mittaukset maahengityskoealalla</i> .....	15
<b>2.3 Data-analyysi</b> .....	<b>16</b>
<i>2.3.1 Maahengityksen vuon laskeminen</i> .....	16
<i>2.3.2 Isotooppivuon laskenta ja havaintojen suodattaminen</i> .....	17
<i>2.3.3 Tilastollinen analyysi</i> .....	18
<b>3 Tulokset</b> .....	<b>20</b>
<b>3.1 Kasvihuonekokeen tulokset</b> .....	<b>20</b>
<b>3.2 Maastomittausten tulokset</b> .....	<b>24</b>
<b>4 Tulosten tarkastelu</b> .....	<b>30</b>
<b>4.1. Autotrofisen hengityksen reagointi kuivuuteen</b> .....	<b>30</b>
<b>4.2. Heterotrofisen hengityksen reagointi kuivuuteen</b> .....	<b>31</b>
<b>4.3. <math>\delta^{13}\text{C}</math>-signaali ja menetelmän käytettävyys</b> .....	<b>33</b>
<b>4.4. Mahdollisia virhelähteitä aineiston keräämisessä ja käsittelyssä</b> .....	<b>35</b>
<b>5 Johtopäätökset</b> .....	<b>38</b>
<b>Kiitokset</b> .....	<b>39</b>
<b>Lähteet</b> .....	<b>40</b>

# 1 Johdanto

## 1.1 Maahiili

### *1.1.1 Hiilenkierto boreaalisessa metsässä*

Hiili on alkuaine, joka kiertää biosfäärissä kolmessa eri makrotason varastossa: ilmakehässä, merissä sekä kasvien biomassassa (Post ym. 1990, Schlesinger 1997). Kasvit sitovat hiiltä ilmakehästä yhteyttämällä ja vapauttavat sitä takaisin hengityksessään (Taiz & Ziegler 2002) ja ekosysteemeistä, jotka sitovat hiiltä enemmän kuin vapauttavat sitä ilmakehään, käytetään käsitettä hiilinielu (Pan ym. 2011). Monet metsäekosysteemit, kuten suomalaiset boreaaliset metsät, toimivat hiilinieluinä (Mäkipää & Tomppo 1998, Batjes 1996, Pan ym. 2011). Eri ilmastovyöhykkeiden metsäekosysteemeissä yhteytyksessä sidottu hiili varastoituu eri paikkoihin, kuten maanpäälliseen ja maanalaiseen biomassaan (Dixon ym. 1994). Kylmätalvisille ilmastovyöhykkeille ominainen boreaalinen havumetsävyöhyke on yksi maailman suurimmista biomeista ja muodostaa jopa 23 % maapallon metsäpinta-alasta (FAO 2016). Boreaalisissa metsissä maaperä on merkittävin orgaanisen hiilen varasto (Dixon ym. 1994, Batjes 1996, FAO 2016).

Eloperäisessä aineessa olevaa hiiltä kutsutaan orgaaniseksi hiileksi (Schnitzer & Khan 1975). Metsäekosysteemeissä orgaaninen hiili päätyy maahan kasvillisuuden karikkeena ja varastoitumalla kasvien juuriin; karikkeen hajotuksesta ja juurten hengityksestä käytetään käsitettä maahengitys (mm. Lambers ym. 1998). Lämpötila ja kosteus ovat tärkeimmät maahengitystä ajavat tekijät, ja erot orgaanisen hiilen kertymisessä maaperään selittyvätkin pitkälti niillä sekä hiiltä kerryttävän karikkeen laadulla (mm. Witkamp 1966, Borken ym. 2002, Högberg ym. 2001). Viileissä ilmastoissa kasvillisuuden kasvu ja hengitys sekä kuolleen biomassan hajoaminen ovat hitaita prosesseja verrattuna lämpimämpiin ilmasto-oloihin (Dixon ym. 1994). Erityisesti kasvukauden ulkopuolella, viileän ajanjakson aikana, ekosysteemin toiminta on hyvin vähäistä (Janssens & Pilegaard 2003). Kasvillisuus, joka kykenee sietämään niukkaravinteisiä olosuhteita, tuottaa vastaavasti hitaasti hajoavaa ja niukkaravinteistä kariketta (Read 1991). Karikkeen kertymiselle maaperään muodostuu tällöin positiivinen takaisinkytkentä: kylmään ilmastoon ja niukkaravinteiseen maaperään sopeutunut kasvillisuus tuottaa niukkaravinteistä kariketta, jota maaperän organismien on vaikea hajottaa. Ravinneköyhässä maaperässä pärjää parhaiten siihen sopeutunut kasvillisuus, joka edelleen tuottaa heikosti hajoavaa kariketta. Boreaaliset kasvilajit, kuten havupuut ja ikivihreät var-

vut, tuottavat lämpimämpien vyöhykkeiden lajistoon nähden vähän kariketta, joka on niukkaravinteista ja hitaasti hajoavaa (Post ym. 1990). Borealisessa metsämaassa positiivinen takaisinkytkentä tarkoittaa siis sitä, että hiiltä kertyy maaperään poistumaa enemmän, jolloin se toimii hiilen varastona.

Ilmastonmuutoksen edetessä ekosysteemien toiminta muuttuu nopeasti vasteena nopeasti muuttuville ympäristöolosuhteille (IPCC 2014). Boreaalisen metsämaan hiilivarasto on suuri potentiaalinen hiilidioksidin lähde, mikäli ympäristönmuutos kiihdyttää varastoituneen hiilen palaamista maaperästä ilmakehään: muutokset ilmasto-oloissa aiheuttavat muutoksia kasvillisuudessa, mikä puolestaan muuttaa maaperän toimintaa (Raich & Schlesinger 1992). Maaperän prosessien ja niihin vaikuttavien tekijöiden ymmärtäminen on tärkeää, jotta hiilivaraston muutosta ilmaston muuttuessa kyettäisiin arvioimaan luotettavammin.

### ***1.1.2 Maahengityksen ositteet***

Maaperän orgaanisen aineen sisältämän hiilen muutosta hiilidioksidiksi (CO<sub>2</sub>) ja palautumisesta ilmakehään on perinteisesti tarkasteltu kahtena erillisenä prosessina (Hanson ym. 2000). Kasvinjuurten ja kasvien sienijuurten soluhengitystä kutsutaan omavaraiseksi eli autotrofiseksi hengitykseksi (Taiz & Ziegler 2002). Mikrobien, kasveista riippumattomien sienten ja maaperäeläinten hajotustoimintaa ja hengitystä kutsutaan puolestaan toisenvaraiseksi eli heterotrofiseksi hengitykseksi (Taiz & Ziegler 2002). Kasvien sienijuurten ja niiden välittömässä läheisyydessä olevan maaperän eli ritsosfäärin hengitys on todellisuudessa heterotrofista, mutta koska kasvin sienijuurten ja ritsosfäärin hengitystä on vaikea erottaa kasvinjuuren hengityksestä, niiden katsotaan kuuluvan samaan ositteeseen (Gregory & Hingsinger 1999). Jako kahteen ositteeseen johtuu hengittävien organismien toiminnallisesta eroavuudesta; ositteiden vasteet ympäristötekijöihin poikkeavat toisistaan, joten niitä on järkevää tarkastella erikseen (Epron 2009).

Autotrofisen hengityksen hiili on peräisin yhteytystuotoksesta, jonka kasvit siirtävät juuritoonsa (Högberg ym. 2001). Kasvinjuuret ja niiden symbionttisienet käyttävät osan juuriin allokoitua hiilestä rakenteelliseen kasvuun, ja loput siitä kuluu solujen ylläpitohengitykseen (Majdi & Öhrvik 2004). Autotrofisen hengityksen kautta ilmakehään palautuva hiili viipyy siis juuristossa suhteellisen lyhyen aikaa (Epron 2009). Heterotrofisessa hengityksessä vapautuva hiili saattaa puolestaan viipyä maaperän karikkeessa hyvinkin kauan ennen hajoamistaan: nopeinten hajoavien karikkeenosien hajoamisaika maassa voi olla muutamia

kuukausia, osa yhdisteistä viipyy maaperässä satoja tai tuhansia vuosia ja osa ei hajoa lainkaan (Epron 2009). Hengityksen lisäksi orgaanista hiiltä voi poistua maaperästä muita reittejä, kuten huuhtoutumalla (Mälkönen 2003). Auto- ja heterotrofisen hengityksen suhde vaihtelee paljon ekosysteemistä riippuen, mutta Högberg ym. (2005a) esitti, että boreaalissa mäntymetsässä tämä suhde olisi noin 50:50.

Maahengityksen kaksi ositetta eivät kuitenkaan ole itsenäisiä tai toisistaan riippumattomia: autotrofisen juuriston on havaittu edistävän heterotrofisen eliöstön toimintaa (Karhu ym. 2016). Juurten, ja erityisesti kasvien sienijuurten, on havaittu erittävän maaperään erilaisia aineita, esimerkiksi sokereita, joiden tarkoitus on muokata juurten lähiympäristöä kasveille ja niiden sienijuurille optimaalisemmaksi (Yin ym. 2013). Nämä juurieritteiksi kutsutut aineet, jotka ovat suurimmaksi osaksi orgaanisia yhdisteitä, tehostavat kasville hyödyllisten sienten ja mikrobien toimintaa ja parantavat maan kosteusominaisuuksia (Baetz & Martinoia 2014, Yin ym. 2013). Juurieritteiden lisäksi sienet erittävät maaperään entsyymejä, jotka pilkkovat maaperän molekyylejä (Allen 1992). Sienijuurten toiminnalla on siis kiihdyttävä vaikutus heterotrofiseen maahengitykseen. Kahden ositteen keskinäistä vuorovaikutusta ei vielä täysin ymmärretä, mutta kuusikossa (*Picea abies*) tehdyssä kokeessa heterotrofisen hengityksen havaittiin pienenevän, kun autotrofiset organismit ja sitä myötä niiden vapauttamat juurieritteet poistettiin (Baldrian ym. 2012). Koe tehtiin täysikasvuisessa borealisessa luonnonmetsässä Tšekin tasavallassa.

### ***1.1.3 Ilmastonmuutoksen vaikutus maahengitykseen***

Ilmastonmuutoksella on maapallon pohjoisilla alueilla lämmittävä vaikutus, mikä nopeuttaa pohjoisten ekosysteemien ravinnekiertoa (IPCC 2014). Viileällä vyöhykkeellä on havaittu 1–2,5 °C keskimääräinen lämpötilannousu vuosien 1901–2012 aikana (IPCC 2014). Vastavasti alueen sademäärän on havaittu kasvaneen vuosien 1951–2010 vertailukauden aikana (IPCC 2014). Kasvien yhteytys- ja hengitysnopeus kasvaa lämpötilan noustessa: kasvin elintoiminnot nopeutuvat tällöin myös juuristossa (Bergh ym. 2003). Kasvien toiminnan tavoin myös orgaanisen aineen hajotus maaperässä on lämpötilariippuvaista, ja hajottava eliöstö toimii nopeammin lämpimissä olosuhteissa (Atkin ym. 2000). Lämpötilan kohotessa boreaalisten metsien maahengitys siis kiihtyy (Atkin ym. 2000, Rodeghiero ym. 2009).

Korkeammissa lämpötiloissa maan hengitystä rajoittaa veden saatavuus (Lambers ym. 1998, Davidson ym. 1998, Atkin ym. 2000). Ilmastonmuutoksen on arvioitu muuttavan boreaalisten alueiden olosuhteita niin, että kasvukaudet muuttuvat nykyistä pidemmiksi ja lämpimämmiksi kasvukauden ulkopuolisen ajan muuttuessa nykyistä sateisemmaksi (Bergh ym. 2003, IPCC 2014). Korkea lämpötila on kasvien ja maaperän toiminnalle matalaa optimaalisempi, ja ekosysteemin toiminta kiihtyy lämpötilan kohotessa. Ekosysteemille epätavallisen korkeissa lämpötiloissa eliöiden toimintakyky kuitenkin hiipuu (Davidson ym. 1998). Tämä johtuu paitsi liian korkean lämpötilan haitallisesta vaikutuksesta kasvien elintoiminoille, myös sen vaikutuksista maaperän ja ilman kosteusolosuhteisiin (Davidson ym. 1998): korkea haihdutus vähentää veden määrää ja saatavuutta maaperästä ja sen suhteellista määrää ilmassa, mikä vaikeuttaa kasvien hiilenottoa (Lambers ym. 1998).

Autotrofit reagoivat lämpötilan muutoksiin viiveellä, sillä puiden kaltaiset suuret organismit säätelevät elintoimintojaan pieniä maaperän mikrobeja hitaammin (Epron 2009). Lisäksi vuoden- ja kasvukauden ajankohta vaikuttavat autotrofien elintoimintoihin suuresti (Epron 2009). Heterotrofien reaktio lämpötilaan on puolestaan välittömämpää, ja pienikokoiset organismit voivat vastata lämpötilannousuun ja lisäämätä aktiivisuuttaan hyvinkin lyhyellä aikaviiveellä (Epron 2009). Tästä syystä kummankin ositteiden osuus kaikesta hengityksestä eli kokonaishengityksestä vaihtelee kasvukauden ajankohdan mukaan: kasvukauden alussa suurikokoiset autotrofit, kuten puut, ovat palautumassa talven aikaisesta lepotilasta, joten niiden elintoimintojen aktiivisuus on vähäistä heterotrofien kyetessä reagoimaan lämpötilannousuun nopeammin (Wang ym. 2013). Kasvukauden alussa heterotrofisen ositteiden määrä maan kokonaishiilivuosta on siis suurempi kuin keskellä kasvukautta, jolloin puolestaan autotrofien toiminta on voimakkaimmillaan (Wang ym. 2013).

Maaperän orgaanisen hiilen varasto on suuri, joten pienilläkin muutoksilla maaperän prosesseissa ja maahengityksessä on suuri vaikutus ilmakehään kulkeutuvaan hiileen (Schlesinger 1997). Autotrofisen hengityksen kasvu saattaa tarkoittaa biomassan hiilensidonnain kasvua ja sitä, että sidottua hiiltä varastoituu enemmän myös maaperään (Rouhier ym. 1996). Heterotrofisen hengityksen kasvu puolestaan tarkoittaa maaperän orgaanisen aineen nopeutunutta hajoamista, mikä pienentää maaperän hiilivarastoa (Andrews ym. 1999). Mikäli halutaan tarkastella tai ennustaa, kuinka maaperän prosessit muuttuvat ilmaston muuttuessa, on tärkeää ymmärtää maahengityksen ositteiden suhdetta.



## 1.2 Hiilen vakaiden isotooppien käyttö kaasunvaihdon tutkimisessa

Alkuaineiden isotooppien käyttö on yleinen metodi ilmakehän ja ekosysteemien kaasunvaihdon dynamiikkaa tutkittaessa. Saman alkuaineen eri isotooppimuodot eriytyvät toisistaan fysikaalisissa, biologisissa tai kemiallisissa muutostilanteissa, ja jäljittämällä tätä eriytymistä saadaan tietoa kyseisistä prosesseista (Trumbore 1995). Esimerkiksi hiilen, typen, hapen ja vedyn vakaiden ja radioaktiivisten muotojen käyttö on yleinen tapa selvittää niiden muodostamien kaasujen liikettä kaasukehässä, sitoutumista biomassaan ja maaperään sekä sedimentoitumista (Trumbore 1995). Kasvien ilmakehästä yhteyttämän hiilidioksidin isotooppeja käytetään jäljittämään sitä, minne yhteytystuotos kulkeutuu.

### 1.2.1 $^{13}\text{C}$ C3-kasvien yhteytyksessä

Hiilen luonnossa esiintyvät vakaat isotooppimuodot ovat hiili-12 eli  $^{12}\text{C}$  ja raskaampi hiili-13 eli  $^{13}\text{C}$  (IUPAC 1975). Aineen eri isotoopit ovat atomeja, joiden ytimessä on aineelle ominainen määrä protoneja, mutta toisistaan eroava määrä neutroneja: hiiliatomilla on kuusi protonia (IUPAC 1975).  $^{12}\text{C}$ :llä neutronien määrä on niin ikään kuusi, mutta  $^{13}\text{C}$ :llä on seitsemän neutronia, eli sen atomimassa on suurempi (IUPAC 1975).  $^{12}\text{C}$ :sta ja  $^{13}\text{C}$ :stä käytetään termiä vakaa isotooppi, sillä kummankin atomiydin on pysyvä eikä hajoa toisin kuin aineiden epävakailta, radioaktiivisilla isotoopeilla, kuten 14-neutronisella radiohiilellä (IUPAC 1975).

$^{13}\text{C}$ :n määrä ilmakehässä on hyvin pieni, ja sitä ilmaistaan promillemääränä ilman hiilidioksidin  $^{13}\text{C}$ -pitoisuudesta suhteessa niin kutsutun standardin  $^{13}\text{C}$ -pitoisuuteen (Wieser ja Brand, 1999).  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  standardi on Vienna Pee Dee Belemnite (V-PDB) –fossiilista tallennettu mesotsooisien aikakauden  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -isotooppisuhde (Coplen ym. 2002). Näytteen  $^{13}\text{C}$ -pitoisuutta suhteessa standardiin kuvaava  $\delta^{13}\text{C}$ -arvo näytteessä lasketaan Coplen ym. (2002) esittämällä kaavalla:

$$\delta^{13}\text{C} = \left( \frac{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{näyte}}}{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{standardi}}} - 1 \right) \times 1000 \text{ ‰} \quad (1)$$

$\delta^{13}\text{C}$ -arvon yksikkö on promille (‰). Kaavassa 1,  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  näyte on halutusta näytteestä mitattu isotooppisuhde ja  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  standardi on V-PDB-fossiilin  $^{13}\text{C}$ -pitoisuus. (Coplen ym. 2002). Koska standardin  $^{13}\text{C}$ -pitoisuus on suurempi kuin esimerkiksi ilmakehän  $^{13}\text{C}$ -pitoisuus tällä hetkellä, luonnosta otettujen kaasunäytteiden  $\delta^{13}\text{C}$ -arvot ovat yleensä negatiivisia.

Yhteyttävät kasvit sitovat hiiltä itseensä eri tavoin: yleisin on hiilen sitominen kasviin kolmiatomisena (Percy & Ehleringer 1984). Tästä yhteytyksestä käytetään termiä C3-yhteytys, ja niin yhteyttäviä kasveja kutsutaan C3-lajeiksi (Percy & Ehleringer 1984). C3-kasvilajien, jotka ovat vallitsevia boreaalisissa metsäekosysteemeissä, on havaittu suosivan yhteytyksessä hiilidioksidia, jossa on kevyempää  $^{12}\text{C}$ :tä (Farquhar ym. 1989, Högberg ym. 2005a, Yakir & Sternberg 2000). Ottaessaan hiilidioksidia ilmasta kasvit hylkivät raskaampaa  $^{13}\text{CO}_2$ -hiilidioksidia (Farquhar ym. 1989, Tu & Dawson 2005). Tämän takia kasveihin sitoutuneessa hiilessä, eli kasvien yhteytystuotoksessa ja soluhengityksessä, on vähemmän  $^{13}\text{C}$ -isotooppia kuin ilmassa (Tu & Dawson 2005). Yakir & Sternberg (2000) mittasivat maahengityksen ja ilmakehän vapaan ilman hiilidioksidin  $\delta^{13}\text{C}$ -arvon väliseksi eroksi jopa 20 ‰.

Kuivuuden on kuitenkin havaittu vaikuttavan metsäekosysteemin autotrofisen hengityksen  $\delta^{13}\text{C}$ -arvoon (Högberg ym. 2005b). Olosuhteissa, joissa vedensaanti on heikkoa ja ilman vesihöyryn kyllästysaste on pieni, kasvit joutuvat rajoittamaan veden haihdutusta lehdistä (Farquhar ym. 1989). Hiilenotto kasviin tapahtuu lehden ilmarakojen kautta: vesimolekyylin haihtuessa lehdestä ilmaraon kautta hiilidioksidi siirtyy ilmasta saman ilmaraon kautta lehteen (Farquhar ym. 1989). Kuivuudesta kärsivä kasvi vähentää haihdutustaan pienentämällä ilmarakojen aukioloastetta (Farquhar ym. 1989), jolloin myös hiilidioksidin kulku hidastuu ja ilmaraon sisäinen hiilidioksidipitoisuus laskee. Tällöin kasvi ei voi olla yhtä valikoiva sitomansa hiilidioksidin suhteen (Tu & Dawson 2005). Tällöin myös raskaampaa  $^{13}\text{C}$ :tä päätyy suuremmalla todennäköisyydellä mukaan yhteytysprosessiin (Tu & Dawson 2005). Sidottu hiili siirtyy kasvin muihin osiin, jossa se joko varastoituu osaksi kasvin rakenteita tai poistuu takaisin ilmaan kasvin hengityksessä (Högberg ym. 2005b). Kuivuus näkyy siten viiveellä myös kasvin uloshengittämän hiilidioksidin  $\delta^{13}\text{C}$ -arvossa niin, että hengityksessä on enemmän  $^{13}\text{C}$ :tä (Högberg ym. 2005b, Tu & Dawson 2005).

### ***1.2.2 Maahengityksen ositteiden erottaminen eristys- ja isotooppiteknikalla***

Maahengityksen autotrofisen ja heterotrofisen ositteen suhdetta voidaan selvittää erilaisilla menetelmillä. Yksi heterotrofisen hengityksen määrittämisen perinteisistä metodeista on ns. poissulkumetodi eli juurten kasvun estäminen mitattavalle alalle (Davis ym. 1991). Ala eristetään kaivaen se ensin irti ympäröivästä maaperästä ja estämällä juurten kasvu takaisin alan sisään esimerkiksi kankaalla (Davis ym. 1991). Mittausalan ympärille kaivetaan syvä ura ja alan sisälle kasvaneet juuret leikataan poikki (Rasilo 2008). Ala ympäröidään kankaalla tai

muulla eristeellä, jotta juuret eivät kasva takaisin (Davis ym. 1991). Mittaamalla maan hiilidioksidivuota juurettomalta alalta saadaan siis arvio siitä, kuinka suuri maaperässä tapahtuvan hajotustoiminnan tuottama hiilidioksidivuo on. Menetelmään liittyy kuitenkin useita epävarmuustekijöitä: alan sisälle jääneiden katkottujen juurten eli kuolleen biomassan hajoaminen kasvattaa heterotrofista hengitystä tilapäisesti, maaperään päätyvä vesi ei siirry juurten kautta kasvillisuuden haihduttamana pois vaan jää alalle ja kasvi- tai sienijuuret saattavat kasvaa takaisin eristekankaasta huolimatta, mikä pilaa koejärjestelyn (Davis ym. 1991).

Kuten aiemmin todettiin, yhteytyksen on havaittu hylkivän  $^{13}\text{C}$ :tä voimakkaasti, mutta tästä huolimatta sitä päätyy myös C3-kasveihin niiden yhteyttäessä, varsinkin yhteyttävän kasvin kärsiessä kuivuudesta (Tu & Dawson 2005). Kasvin soluhengityksessä  $^{13}\text{C}$ :n hyljintää ei tapahdu yhtä paljon kuin yhteytyksessä (Högberg ym. 2005b). Edelleen kuolleen kasviaineksen hajotusprosessissa  $^{13}\text{C}$  syrjäytyy vielä vähemmän kuin kasvien soluhengityksessä (Högberg ym. 2005a). Tästä syystä maahengityksen ositteiden  $\delta^{13}\text{C}$  -arvo on ositteille ominainen: autotrofisen hengityksen  $\delta^{13}\text{C}$ -arvo on pienempi kuin heterotrofisen, mutta lähestyy kuivuudessa heterotrofisen ositteen arvoa (Ghashghaie ym. 2003).

Yhteytetty hiilidioksidi hengitetään nopeammin ilmakehään maahengityksen autotrofisen kuin heterotrofisen ositteen kautta (Andrews ym. 1999). Kahden ositteen välistä suhdetta on selvitetty antamalla puustolle yhteytettäväksi  $^{13}\text{C}$ -leimattua hiilidioksidia, jossa kaasun isotooppisuhde on tunnettu ja ympäröivän ilman suhteesta selkeästi poikkeava (Andrews ym. 1999). Tällöin lyhyen ajanjakson aikana maasta hengitetty leimattu hiilidioksidi on peräisin autotrofisesta ositteesta, sillä leimattua hiilidioksidia ei ole vielä ehtinyt päätyä maaperässä hajoavaan kasviaineeseen (Andrews ym. 1999). Leimatun hiilidioksidin avulla autotrofisen ja heterotrofisen hengityksen suhdetta voidaan tarkastella hyvinkin tarkasti (Andrews ym. 1999).

On päätelty, että maahengityksen ositteiden suhdetta voitaisiin määrittää mittaamalla maahengityksen  $\delta^{13}\text{C}$ -arvoa myös ilman leimaamiskäsittelyä (O'Leary 1988, Ghashghaie ym. 2003, Högberg ym. 2005a). Tulokset ovat kuitenkin olleet ristiriitaisia. O'Leary (1988) toteaa, että tulokset, joiden mukaan maahengityksen ositteita on mahdollista erotella niiden  $\delta^{13}\text{C}$ -arvon perusteella ovat epäluotettavia, sillä kaikki ilmiöön ja mittaustekniikan luotettavuuteen vaikuttavat tekijät eivät ole tiedossa. Ghashghaie ym. (2003) toteavat ositteiden

erottelemisen olevan mahdollista, mutta monimutkaisen ilmiön kunnollisen ymmärtämisen olevan vielä kesken.

### 1.3 Tavoitteet

Tutkimuksen tavoitteena oli selvittää, vaikuttaako kuivuus eri tavoin maanhengityksen ositteisiin tarkastelemalla maahengityksestä mitattua hiilidioksidivuota ja vuon  $\delta^{13}\text{C}$ -arvoa. Tämä tehtiin mittaamalla kumpaakin ositetta erikseen. Auto- ja heterotrofinen hengitys olivat tässä tutkielmassa metsämännyn (*Pinus sylvestris*) juurista ja kasvualustasta mitattuja hiilidioksidivoita. Kummankin ositteen hengityksen odotettiin muuttuvan vähäisemmäksi hengittävän organismin kokiessa kuivuutta. Autotrofisen hengityksen  $\delta^{13}\text{C}$ -arvon odotettiin kuivuuden edetessä kasvavan; heterotrofisen hengityksen  $\delta^{13}\text{C}$ -arvon odotettiin olevan lähikohtaisesti suurempi kuin autotrofisen, ja kuivuuden vaikutuksen vuon  $\delta^{13}\text{C}$ -arvoon odotettiin olevan vähäisempi, sillä heterotrofinen hengitys syrjii  $\delta^{13}\text{C}$ :tä autotrofista vähemmän.

Tutkimuksen aineisto oli peräisin kahdesta eri lähteestä. Viikin kasvihuoneilla tehtiin männyntaimien kuivuuskoe, jonka yhteydessä suoritettiin osa tämän tutkimuksen aineistonkeruusta, ja muu aineisto kerättiin keski-ikäisestä mäntymetsässä.

Kysymykset, joita tutkimus tarkastelee ovat:

1. Pieneneekö boreaalisen männyn juurten autotrofinen hengitys kasvualustan heterotrofista hengitystä hitaammin kuivuudessa?
2. Muuttuuko autotrofinen hengitys  $\delta^{13}\text{C}$ -arvoltaan raskaammaksi eli enemmän heterotrofisen hengityksen  $\delta^{13}\text{C}$ -arvoa muistuttavaksi kuivuuden aikana?

## 2 Aineisto ja menetelmät

### 2.1 Kasvihuonekoe

#### 2.1.1 Koeasetelma kasvihuonekokeessa

Luonnonvarakeskus (LUKE) toteutti kesällä 2018 Helsingin yliopiston Viikin kampuksen kasvihuoneilla kokeen, jossa tutkittiin männyn elintoimintojen ja kasvun muutosta kuivuudessa. Kokeessa 55 taimea jaettiin kolmeen ryhmään, joista jokainen sai erilaisen kastelukäsittelyn. Ensimmäinen osa tämän tutkimuksen aineistoa on kasvihuonekokeen puiden juuriston ja niiden kasvualustana toimineen maaperän hengitys.

Kokeessa käytettiin taimia, joiden keskipituus oli 106 cm. Taimien siemenalkuperä oli iisalmelaisista männystä, joista ne kylvettiin Haapastensyrjän taimitarhalla vuonna 2009. Vuonna 2010 taimet kasvoivat avomaalla ja vuonna 2011 niiden päälle rakennettiin kasvihuone. Samalla ne vartettiin neljän eri puun klooneilla, ja vuodesta 2012 alkaen ne kasvoivat jälleen avomaalla ulkona. Taimien kasvualustana käytettiin avomaalla ruskeaa rahkaturvetta. Lisäksi kasvukauden alussa ja lopussa maaperään lisättiin kalkkia, magnesiumia ja fosforia. Taimet siirrettiin taimitarhalla Viikin kasvihuoneille ja istutettiin uusiin ruukkuihin toukokuussa 2018. Ruukun tilavuus oli 7,5 litraa ja juurten mukana tulleen maan tilavuus oli keskimäärin 3,5 l. Ruukuissa kasvualustana käytettiin samaa ruskeaa rahkaturvetta kuin avomaalla, ja uusiin ruukkuihin lisättiin Kekkilän C1-kasvuturveseosta, jotta ne tulivat täyteen.

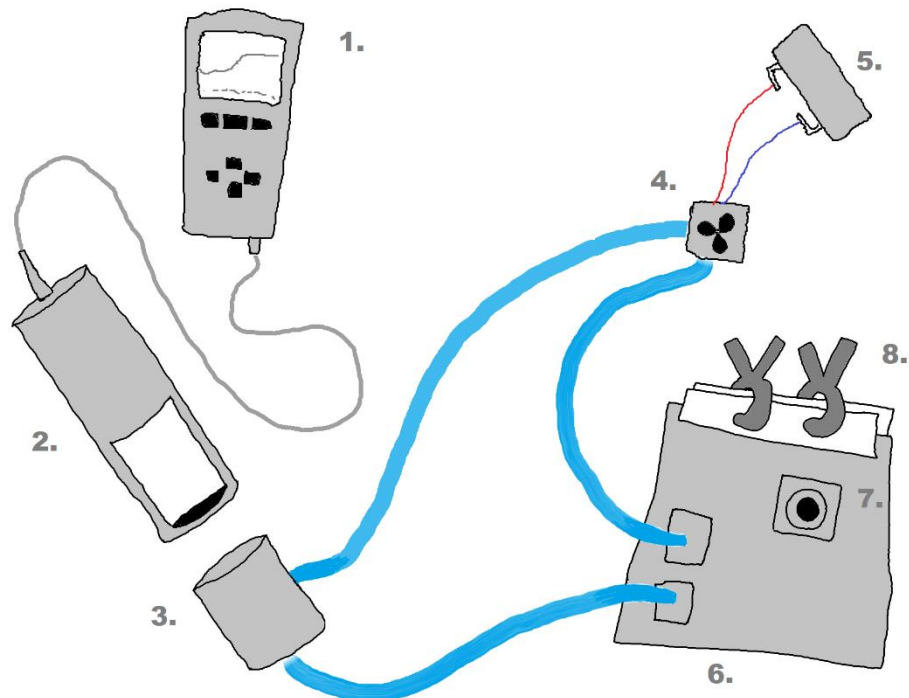
Puut jaettiin kolmeen kastelukäsittelyryhmään: kontrolliryhmään, jota kasteltiin, kuivuusryhmään, jota ei kasteltu, sekä palautusryhmään, jonka saama käsittely vastasi kuivatusryhmän käsittelyä siihen asti, että puiden neulasista mitattu vesipotentiaali alitti kriittisen rajan -1,5 MPa ja niiden kastelu aloitettiin uudestaan. -1,5 MPa:aa alittavan vesipotentiaalin määriteltiin merkitsevän sitä, että puu kärsi kuivuudesta (Galiano ym. 2017). Juurten ja maaperän hengitystä mitattiin kerran viikossa 11.6.–16.7.2018 välillä: koe oli destruktiivinen, joten jokaisella mittauskerralla mitattiin uusi 9–12 puun erä. Kuivuus- ja palautusryhmien kastelukäsittelyn saaneiden puiden neulasista mitattiin kuivumisrajan alittava vesipotentiaali neljännellä viikolla, jonka jälkeen palautusryhmää alettiin kastella.

#### 2.1.2 Maahengitysmittaukset kasvihuonekokeessa

Maahengitystä ja sen  $\delta^{13}\text{C}$ -arvoa mitattiin inkubointitekniikalla kahdesta eri näytteestä: ruukussa olevasta kasvualustasta sekä puun juuresta. Mittausprotokolla eteni seuraavasti: noin 5 cl kokoinen maanäyte otettiin maakairalla yhtä kaukaa taimen rungosta ja ruukun reunasta

niin, että näytteeseen tuleva maa-aines ulottui ruukun pinnasta pohjaan asti. Kairan halkaisija oli 1,5 cm ja ruukun syvyys 30 cm pinnasta pohjaan. Tämän jälkeen taimen rungon tyvestä kaivettiin esiin juuripaakku. Siitä eriteltiin mahdollisimman suuri ja terve juurisyklö, joka irrotettiin kokonaisuudessaan juuristosta ja katkaistiin vain yhdestä kohdasta. Myös leikkauspinnan koko minimoitiin, sillä ylimääräisten leikkauspintojen on havaittu lisäävän juuren hengitystä aiheuttaen siten yliarviota mittaukseen (Makita ym. 2013). Juurinäytteet olivat keskimäärin 5-10 cm pituisia, tyviläpimitaltaan 0,5-2 mm ja haarautuivat 1-2 cm pituisiin haaroihin.

Näytteet asetettiin inkubointipusseihin, jotka oli valmistettu foliosta ja joiden tilavuus oli 11. Pusseihin kytkettiin ilmaa kierrättävä pumppu (NMP 830 KVDC B, KNF Neuberger, Saksa) sekä CO<sub>2</sub>-pitoisuutta mittaava Vaisala GMP3 (Vaisala Oyj, Suomi) infrapuna-anturi (kuva 1). Pussin suu suljettiin tiiviisti puristimilla ja pussi imettiin tyhjäksi näyteruiskulla venttiilin kautta. Tämän jälkeen pussiin laitettiin näyteruiskulla 500 millilitralla ulkoilmaa, jonka mitattu CO<sub>2</sub>-pitoisuus oli n. 400 ppm. Pumppu kierrätti ilmaa pussin ja CO<sub>2</sub>-anturin välillä 0,5 lpm nopeudella. Anturiin kytketty käsilukulaite (MI70, Vaisala Oyj) tallensi anturin mitattaman CO<sub>2</sub>-pitoisuuden pussin sisällä olevasta ilmasta 5 sekunnin välein.



Kuva 1. Inkubointijärjestelmän osat: 1) hiilidioksidipitoisuuden kehitystä tallentava käsilukulaite, 2) hiilidioksidin pitoisuutta mittaava infrapuna-anturi, joka kiinnitettiin osaan 3

*mittauksen ajaksi, 3) inkubointipussiin letkulla yhdistetty huppu, jonne ilma kulkee pussista ja jossa anturi mittaa pitoisuuden, 4) ilmaa pussissa, letkuissa ja hupussa kierrättävä pumppu, 5) pumpun akku, 6) inkubointipussi, jonka sisälle näytteet asetettiin, 7) venttiili, jonka kautta kaasunäytteenotto tapahtui sekä 8) pussin suun ilmatiiviisti sulkevat puurimat ja puristimet.*

Ilman hiilidioksidipitoisuutta mitattiin pussin sisältä 5 sekunnin välein 15 minuutin ajan. Pussista otettiin ruiskulla 20 ml kaasunäyte isotooppianalyysia varten 1, 3, 6, 10 ja 15 minuuttia mittauksen aloittamisesta. Näyteruiskusta kaasunäyte siirrettiin lasiseen 12 ml Exetainer Vial näyteputkeen. Ilmatiiviin putken korkissa oli kuminen venttiili, jonka läpi painettiin näyteruiskuun kiinnitetty neula. Neulan kautta kaasu työnnettiin ruiskusta putkeen. Näyteputket oli tyhjiöity kompressorilla ennen näytteen siirtämistä. Kun 20 ml kaasunäyte työnnettiin 12 ml putkeen, putken sisälle syntyi lievä ylipaine.

### **2.1.3 Kasvihuonekokeen näytteiden jälkikäsitely**

Sekä maa- että juurinäytteistä määritettiin niiden tuoremassat ( $T_m$ ) ja kuivamassat ( $K_m$ ). Vuonmittauksen jälkeen näytteistä mitattiin punnitsemalla tuoremassa. Maanäytteitä kuivatettiin tämän jälkeen 24 tuntia 60 °C:ssa uunissa, minkä jälkeen ne punnittiin uudelleen. Näin saatiin selville näytteiden sisältämän aineen massa ilman vettä, minkä perusteella määritettiin maan kosteusprosentti mittaushetkellä (kaava 2).

$$\text{kosteusprosentti} = \frac{T_m - K_m}{T_m} \quad (2)$$

Juurinäytteet laitettiin juurten entsyymitoiminnan pysäyttämiseksi mikroaaltouuniin (LOGIK L23CB13E, DSG Retail Ltd, Herts, Iso-Britannia). Näytteitä käsiteltiin mikroaaltouunissa 60 sekuntia teholla 600 W. Tämän jälkeen näytteet säilöttiin pakastimessa -18 °C ja näytteenottojen päätyttyä kylmäkuivattiin. Kylmäkuivaus tehtiin SciQuip -kylmäkuivauslaitteella (SciQuip Ltd, Merrington, Iso-Britannia) 0,021 mbar paineessa yhteensä 72 tuntia. Sitten juurinäytteet punnittiin uudelleen kuivamassan määrittämiseksi ja niiden kosteusprosentti laskettiin kaavalla 2.

Kaasunäytteet toimitettiin Itä-Suomen yliopiston Kuopion kampuksen massaspektrometrian laboratorioon. Siellä ne analysoitiin isotooppisuhdemassaspektrometrillä (IRMS; Thermo

Finnigan DELTA XPPlus, Saksa), johon oli yhdistetty kaasukromatografi (TraceGC) Pre-con-liitännällä (PreCon-GC-C-IRMS, Thermo Finnigan). Näyte siirrettiin putkesta analysaattoriin PAL-näytteenottolaitteella (PAL-autosampler, Thermo Finnigan). Jokainen analysointikerta aloitettiin viidellä standardikaasunäytteellä, joissa oli tunnettu  $\delta^{13}\text{C}$ -pitoisuus. Tulosten sisäinen tarkkuus oli  $\pm 0,15\%$ , mikä määritettiin laboratorioissa säännöllisesti toistettavilla standardikaasukalibroinneilla.

#### **2.1.4 Taustamittaukset kasvihuoneella**

Tutkimuksessa käytettyjen mäntyjen kokemaa kuivuutta määritettiin tarkastelemalla puiden vesipotentiaalia. Vesipotentiaali tarkoittaa kasvin sisällä vedenkuljetussolukossa vallitsevaa negatiivista painetta, joka saa veden liikkumaan kasvin juurista yhteyttävään soluksoon (Kirkham 2005). Kasvin kärsiessä kuivuudesta sen vesipotentiaali muuttuu negatiivisemmaksi (Kirkham 2005). Vesipotentiaalia mitattiin puiden neulasista painekammilla (PMS6000D, PMS Instrument Company, Yhdysvallat) jokaisen mittauskerran yhteydessä.

Tutkimuksessa käytetään myös muutamia kasvihuoneilla jatkuva-aikaisesti mitattavia arvoja. Näistä mittauksista tutkimuksessa käytetään kasvihuoneiden ilmanlämpötilaa ja suhteellista kosteutta (relative humidity, RH). Kasvihuoneen ilmanlämpötilaa ja ilman suhteellista kosteutta mitattiin kokeen aikana psykrometrillä (Priva Hortimation, De Lier, Alankomaat). Kumpaakin arvoa mitattiin 15 minuutin välein vuorokauden ympäri.

## **2.2 Maastomittaukset**

### **2.2.1 Koeasetelma maastomittauksissa**

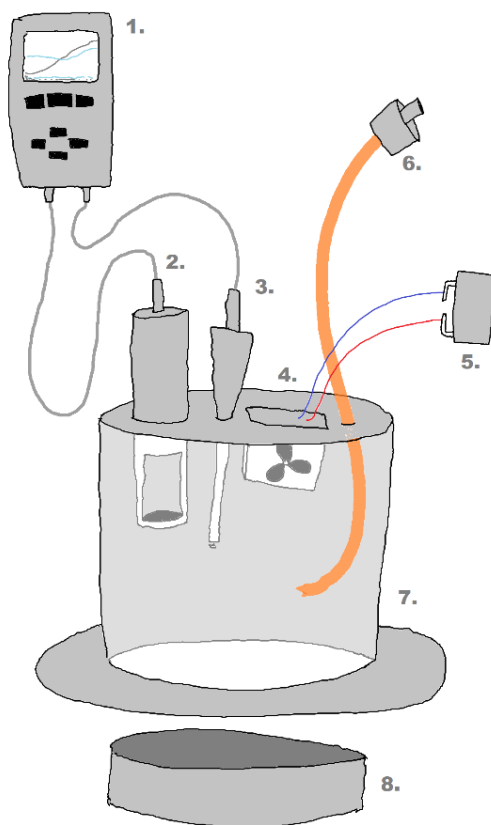
Aineiston toinen osa tuotettiin Helsingin yliopiston Hyytiälän metsäasemalla Pirkanmaalla. Hyytiälän aseman yhteydessä on metsäekosysteemin ja ilmakehän välisiä ainevirtoja kartoittava SMEAR II –tutkimusasema (”Station for Measuring Ecosystem Atmosphere Relations”,  $61^{\circ}52'N$ ,  $24^{\circ}17'E$ ; Hari & Kulmala, 2005), jonka alueella sijaitsevalta maahengityskoealalta tutkimuksen aineiston maasto-osio kerättiin. Maahengityskoeala sijaitsee vuonna 1962 perustetussa VT-männikössä, jonka alikasvoksena on kuusta ja koivua (*Betula pubescens*, *Betula pendula*) (Hari & Kulmala, 2005, Kulmala ym. 2013). Männikkö on perustettu kylvämällä kulotetulle ja kevyesti muokatulle alalle, ja sille tehtiin täydennysistutus vuonna 1966. Metsikön tiheys on n. 700 runkoa hehtaarilla (Hiilipuu 2019), ja vuonna 2012 puiden keskipituus oli 17,5 m ja pohjapinta-ala  $23 \text{ m}^2 \text{ ha}^{-1}$  (Kulmala ym. 2013). Vuoden



keskilämpötila Hyytiälässä on 4–5 °C ja vuotuinen sademäärä 600–650 mm (Ilmatieteen laitos 2020). Metsikön maannos on rautahumuspodsol (Jones ym. 2005).

Mittauksia hiilidioksidin vuosta maasta ilmakehään tehtiin kymmenellä mittauspisteellä noin 0,6 x 0,7 m kokoisella, joista kuudelta oli estetty juurten kasvu ja siten niiden hengitys alalla. Näistä mittauspisteistä käytetään jatkossa nimitystä juurettomat tai heterotrofiset mittauspisteet. Mittauspisteistä, jotka eivät saaneet tätä käsittelyä, käytetään nimitystä kokonaishengityksen mittauspisteet. Lisäksi kaikilta aloilta oli poistettu pintakasvillisuus, jottei mitattava hengitys sisältäisi pintakasvillisuuden hengitystä. Juurettomien mittauspisteiden käsittely tehtiin kesäkuussa 2017, eli näytteenoton aikana ne olivat vuoden ikäisiä. Juurten kasvu ja samalla niiden hengitys estettiin heterotrofisilla mittauspisteillä niin, että ala kaivettiin pohjamaahan asti täysin irti ympäröivästä maaperästä ja sen sisään kasvavat juuret katkaistiin. Sitten ala ympäröitiin vettä läpäisevällä nailonverkkokankaalla (LK-suodatin Oy, Suomi), jonka silmäkoko oli 1 µm ja joka esti juurten kasvun takaisin alalle.

Kullakin mittauspisteellä on pysyvä maahan asennettu mittauskaulus, jonka päälle asetettiin valonläpäisemätön kammio (kuva 2). Kiinteästi maahan asennettu mittauskaulus, jonka päälle kammio asetettiin, oli valmistettu ruostumattomasta teräksestä. Kaulus oli lieriön muotoinen, sen halkaisija oli sisäpuolelta 21,2 cm ja korkeus 6 cm. Maahan asennettuna sen yläreunan korkeus maanpinnasta vaihteli 3,8–5,7 cm välillä. Mittauskammio oli 3 mm paksuisesta polyvinyylidikloridimuovista (PVC) valmistettu lieriö, jonka toinen pää oli umpinainen: umpinaisessa kannessa oli CO<sub>2</sub>-pitoisuutta mittaava Vaisala GMP3 -anturi, ilmaa kammioiden sisällä sekoittava tuuletin sekä venttiili kaasunäytteenottoa varten. Kammion halkaisija oli sisäpuolelta 19,7 cm ja korkeus 23,9 cm. Ensimmäisen mittauskerran aikana kammioon oli kiinnitetty myös ilmanlämpötila- ja kosteusanturi (HMP75, Vaisala Oyj). Valon pääsy kammioon oli estetty käärimällä alumiinifoliota tiiviisti sen ympärille ja kiinnittämällä foliokuori kammioon teipillä. Kammion avonaisessa alaosassa oli PVC-muovista ja kumista rakennettu reunus, jonka avulla kammio voitiin asettaa mittauskauluksen päälle tiiviisti.



*Kuva 2. Kammiomittausjärjestelmän osat: 1) hiilidioksidipitoisuuden ja ilmankosteuden ja lämpötilan kehitystä tallentava käsilukulaite, 2) hiilidioksidin pitoisuutta mittaava anturi, 3) ilmanlämpötilaa ja suhteellista kosteutta mittaava anturi, jota käytettiin ainoastaan ensimmäisellä mittauskerralla, 4) ilmaa kammiossa kierrättävä tuuletin, 5) tuulettimen akku sekä 6) letku, jonka päässä on sulkumekanismi jonka kautta kaasunäytteet otettiin kammion sisältä.*

### **2.2.2 Maahengitysmittaukset maastossa**

Maahengitystä mitattiin SMEAR II:n maastokoealalta kahdella erilaisella sulkeumaan perustuvalla mittausmenetelmällä, joista käytetään tässä selkeyden vuoksi nimityksiä inkubointimittaus ja kammiomittaus.

Juurten inkuboinneissa 15–30 cm pituinen männynjuuri kaivettiin humuksen alta kivennäismaasta, katkaistiin yhdestä kohtaa katkaisupinta minimoiden, puhdistettiin pyyhkimällä varovasti juureen tarttunut maa ja laitettiin lopuksi pussiin. Mittausjärjestelmä oli vastaava kuin kasvihuonekokeessa: männynjuuri asetettiin pussiin, jossa oli ilmaa kierrättävä pumppu

sekä hiilidioksidin pitoisuutta mittaava anturi. Pussi suljettiin ilmatiiviisti, minkä jälkeen siellä oleva ilma imettiin näytteenottoventtiilin kautta pois. Sitten pussiin laitettiin venttiilin kautta 500 ml hiilidioksiditasoltaan noin 400 ppm ilmaa. Hiilidioksidipitoisuuden kehitystä pussin sisällä tallennettiin käsilukulaitteeseen 5 sekunnin välein 15 minuutin ajan, ja pussista otettiin 20 ml kaasunäytteitä ruiskulla 1, 3, 6, 10 ja 15 minuutin kuluttua sulkeumasta. Näytteet siirrettiin ruiskusta tyhjiöityihin lasiputkiin vastaavasti kuin kasvihuonekokeessa. Jatkossa tätä mittausta tarkastellaan inkubointeihin perustuvana autotrofisena mittauksena ja sen havainnoista käytetään termiä inkuboitu autotrofinen mitta.

Kammionmittauksissa maahengitystä mitattiin kammion sisällä olevasta ilmasta tallennettiin ensimmäisellä mittauksella hiilidioksidipitoisuuden lisäksi myös ilmankosteuden kehitys. Kaasunäytteet otettiin kammion sisältä 1, 5, 10, 20 ja 30 minuutin kuluttua mittauksen aloittamisesta. Jatkossa käsittelemättömiltä kontrollimittauspisteiltä mitattua vuota tarkastellaan kokonaishiilidioksidivuona, juurettomilta mittauspisteiltä mitattua vuota heterotrofisena hiilidioksidivuona ja niiden välistä erotusta autotrofisena (erotusmenetelmällä selvitetty) hiilidioksidivuona.

### ***2.2.3 Maastomittausten näytteiden jälkikäsitely***

Inkuboinnin jälkeen juuret käsiteltiin mikroaaltouunissa (Samsung MS23F32EAS, Iso-Britannia) 60 sekuntia teholla 600 W. Sitten ne kuljetettiin Viikkiin ja säilöttiin -18 °C pakastimessa kasvihuonekokeen juurinäytteiden kanssa. Näytteenottojen ne päätyttyä kylmäkuivatettiin (SciQuip Ltd) 72 tunnin ajan. Kuivauksen jälkeen juuret punnittiin ja niiden kuivamassa määritettiin kaavalla 2. Kaasunäytteet analysoitiin kasvihuonekokeen kaasunäytteiden kanssa Itä-Suomen yliopistossa isotooppisuhdemassaspektrometrillä.

### ***2.2.4 Jatkuva-aikaiset mittaukset maahengityskoealalla***

Maahengitysmittausten lisäksi SMEAR II -asemalla on useita jatkuva-aikaisia ympäristön tilaa määrittäviä mittauksia. Mittausaineistot ovat saatavilla AVAA-portaalista (AVAA 2017). Tutkimuksessa käytetään maahengityskoealojen läheisyydessä sijaitsevilta mittauspisteiltä jatkuva-aikaisesti tallennettuja lämpötila- ja maankosteusaineistoja. Lämpötila-arvot ovat peräisin kahdesta maahorisontista: pinnan orgaanisesta humuskerroksesta sekä ki-  
vännäismaan B-horisontista 9–14 cm syvyydestä. Arvoja tallennettiin kerran minuutissa

KTY81-110-anturilla (Philips, Alankomaat) viidessä eri paikassa, ja lopullinen minuuttikohtainen arvo on kaikkien viiden anturin keskiarvo. Inkubointimittausten kanssa yhdessä käytetyt maankosteusarvot ovat peräisin 14–25 cm syvyydestä B-horisontista, ja minuuttikohtaiset arvot ovat keskiarvot viiden eri kosteusanturin (Campbell TDR100 Time-Domain Reflectometer, Campbell Scientific, Yhdysvallat) tallentamista kosteusarvoista. Aineiston käsittelyn helpottamiseksi minuuttikohtainen aineisto muutettiin päiväkohtaisiksi keskiarvoiksi. Kammioimittausten kanssa yhdessä käytetyt maankosteusarvot ovat peräisin kullakin mittauspisteellä olleesta kosteusanturista (Delta-T Devices, Cambridge, Iso-Britannia), jolta vuonmittauksen yhteydessä tallennettiin maankosteusarvo 5-15 cm syvyydestä B-horisontista.

## 2.3 Data-analyysi

### 2.3.1 Maahengityksen vuon laskeminen

Aineiston data-analyysi tehtiin RStudio-ohjelmalla (RStudio Inc, USA). Jokaiselle mittaukselle laskettiin hiilidioksidivuo. Inkubointimittauksissa arvo ilmaistaan mikrogrammoina hiilidioksidia sekunnissa suhteessa juuren tai maaperänäytteen painoon ( $\mu\text{g CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) ja kammioimittauksissa mikrogrammoina hiilidioksidia neliömetrillä sekunnissa ( $\mu\text{g CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ).

Pussista ja kammioista tallennetut hiilidioksidipitoisuudet muutettiin mittauskohtaisiksi (i) voiksi kammioimittauksissa kaavalla 3 ja pussi-inkuboinneissa kaavalla 4 (Pihlatie ym. 2007).

$$Vuoi = \frac{\Delta C_i M_{CO_2} T_0}{V_m(T_0 + T_{25})} * V_i * \frac{1}{A} * \frac{1}{f_{mittaukset}} \quad (3)$$

$$Vuoi = \frac{\Delta C_i M_{CO_2} T_0}{V_m(T_0 + T_{25})} * V_i * \frac{1}{m_i} * \frac{1}{f_{mittaukset}} \quad (4)$$

Kaavoissa  $\Delta C_i$  on hiilidioksidipitoisuuden muutokseen mittausminuuteilla 3–12 sovitettun lineaarisen regressiomallin kulmakerroin,  $M_{CO_2}$  hiilidioksidin moolimassa ( $44,01 \text{ g mol}^{-1}$ ) (kaava 4),  $T_0$  ilmanlämpötila kelvineinä  $0 \text{ }^\circ\text{C}$ :ssä ( $273,15 \text{ K}$ ),  $T_{25}$  ilmanlämpötila kelvineinä  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ :ssä ( $298,15 \text{ K}$ ),  $V_m$  standardimoolitilavuus ( $22,414 \text{ l mol}^{-1}$ ) ja  $f_{mittaukset}$  mittauspisteiden

tallennusväli (5 s).  $V$  on inkubointipussin tai mittauskammion tilavuus (500 ml pussissa ja mittauskohtainen tilavuus kammiossa),  $A$  mittauskauluksen pinta-ala (yksikössä  $m^2$ ) ja  $m$  inkuboidun juuren tai maan massa (yksikössä g). Mittauksissa käytetty  $CO_2$ -anturi huomioi ilmanpaineen vaihtelusta aiheutuneet muutokset ja esittää hiilidioksidipitoisuudet  $25\text{ }^\circ C$ :n lämpötilassa.

Hiilidioksidin moolimassa ( $M_{CO_2}$ ) on sen sisältämien hiiliatomin ( $12,01\text{ g mol}^{-1}$ ) ja kahden happiatomin ( $16,00\text{ g mol}^{-1}$ ) summa (kaava 5) (IUPAC 1975).

$$M_{CO_2} = 1 * M(C) + 2 * M(O) \quad (5)$$

$\Delta C_i$ :n määrittämisessä mittauksen ensimmäiset ja viimeiset minuutit jätettiin huomiotta siksi, että mittauksen aloittaminen ja lopettaminen häiritsivät mittausta. Joissakin yksittäisissä sulkeumissa häiriötä oli myös minuuttien 3–13 aikana, joten sovituksen alkamis- tai loppumisajankohtaa täytyi siirtää. 30 minuuttia kestäneissä kammiomittauksissa suoran sovittamiseen käytettiin mittausminuutteja 3–12.

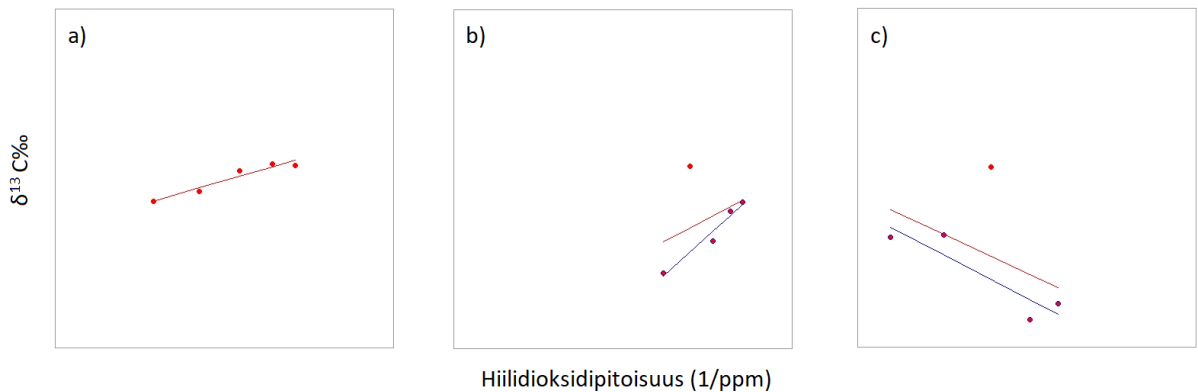
Sekä maaperä- että juurinäytteet olivat pussi-inkuboinneissa vaihtelevan kokoisia eli hengittävää biomassaa oli kussakin näytteessä eri määrä. Tästä syystä lasketut hiilidioksidivuot (kaava 4) normalisoitiin jakamalla ne näytteiden kuivamassalla. Kammiomittauksissa (kaava 3) vuot normalisoitiin jakamalla ne mittauskauluksen pinta-alalla, joka oli kaikilla pisteillä sama. Kammion tilavuus sen sijaan vaihteli mittauskauluksen asennuskorkeuden eli maanpinnan korkeuden mukaan, joten kammion tilavuus laskettiin sen perusteella ja tilavuuden vaihtelu huomioitiin itse vuota laskettaessa.

### ***2.3.2 Isotooppivuon laskenta ja havaintojen suodattaminen***

Hengitykselle laskettiin  $\delta^{13}C_{\text{vuo}}$ -arvo käyttämällä näytekohtaisia  $\delta^{13}C$ -havaintoja sekä ns. Keeling-tekniikkaa (Keeling 1958). Tekniikassa yhden mittauksen viiden  $\delta^{13}C$ -näytteen ja näytteenottohetkeä vastaavan hiilidioksidipitoisuuden käänteisluvun välille sovittiin lineaarinen regressiomalli, jonka x-akselin leikkauspiste oli mittauksen lopullinen  $\delta^{13}C_{\text{vuo}}$ -arvo. Hiilidioksidipitoisuudesta käytettiin mitattujen lukujen käänteisarvoa, sillä mallin sovittamista haluttiin tarkastella nousevana suorana (kuva 3a).

Osa kaasunäytteiden  $\delta^{13}C_{\text{vuo}}$ -arvoista jouduttiin laskemaan sovittamalla suora viiden havaintopisteen sijaan neljään, jos mittauksen yksittäinen havaintopiste oli poikkeuksellisen pieni tai suuri. Poikkeavat havaintopisteet määritettiin mittausvirheiksi ja poistettiin vertailemalla

pisteisiin sovitetun regressiomallin p-arvoa. Mikäli suoran p-arvo pieneni yhden havaintopisteen poistamisella, piste poistettiin ja suora sovitettiin uudelleen, tällä kertaa neljään havaintopisteeseen (kuva 3b). Muutamia laskettuja  $\delta^{13}\text{C}_{\text{vuo}}$ -arvoja jouduttiin hylkäämään kokonaan mahdottomina: lopullisena kriteerinä arvon mahdollisuudesta käytettiin luonnossa tavattavalle  $\delta^{13}\text{C}$ -arvolle ominaista vaihteluväliä  $-5\text{‰} > \delta^{13}\text{C} > -45\text{‰}$  (kuva 3c).



*Kuva 3. Regressiomalli, jolla  $\delta^{13}\text{C}_{\text{vuo}}$ -arvot määritettiin  $\delta^{13}\text{C}$ :n ja hiilidioksidivuon välistä suorasta. X-akselilla hiilidioksidipitoisuuden käänteisluku (1/ppm) ja y-akselilla  $\delta^{13}\text{C}$  (‰). a) Mittaus, jolla on toimiva sovite (punainen suora). b) Mittaus, jossa malli sovitettiin viiden havaintopisteen (punainen suora) sijasta neljään (sininen suora). c) Mittaus, jonka sovite hylättiin aineistosta mahdottoman  $\delta^{13}\text{C}_{\text{vuo}}$ -arvon vuoksi.*

### 2.3.3 Tilastollinen analyysi

Kasvihuonekokeessa kosteusolojen muutoksen vaikutusta hiilidioksidivuon suuruuteen tarkasteltiin vertaamalla eri kastelukäsittelyn saaneiden juurten ja maan hengitystä toisiinsa. Kastelukäsittelyn oletettiin olevan pääasiallinen ympäristötekijä, joka erotti koeryhmät toisistaan, joten niiden välisiä eroja tarkasteltiin ajassa. Näin haluttiin selvittää, pieneneekö autotrofisen ositteen hengitys kuivuuskäsittelyn aikana hitaammin kuin heterotrofisen; mikäli kontrolliryhmän- ja palautusryhmän välinen ero kasvaa heterotrofisella ositteella enemmän merkittäväksi, autotrofisen ositteen hengitys pienenee heterotrofista hitaammin kuivuuden edetessä.

Kontrolliryhmän, palautusryhmän ja kuivuusryhmän viikoittaisia hiilidioksidivoita, juurten ja maan kosteusarvoja sekä neulasten vesipotentialiaa verrattiin toisiinsa ja niiden väliltä

etsittiin tilastollista eroavuutta. Viikoittaisten havaintojen normaalijakautuneisuus testattiin Shapiro-Wilkin testillä sekä visuaalisesti ennen havaintojen vertaamista toisiinsa. Havainnot eivät olleet normaalijakautuneita, joten niiden tilastollista eroavuutta tarkasteltiin Wilcoxon merkittyjen sijalukujen testillä.

Eri ositteiden välisiä eroja  $\delta^{13}\text{C}_{\text{vuo}}$ -arvojen kehityksessä puolestaan etsittiin vertaamalla ositteiden viikoittaisia mittauksia keskenään Wilcoxonin testillä. Testin p-arvon alittaessa 5 % ( $P < 0,05$ ) ero määriteltiin tilastollisesti melkein merkitseväksi, ja sen alittaessa 1 % ( $P < 0,01$ ) se määriteltiin tilastollisesti merkitseväksi. Näin haluttiin selvittää, muuttuuko autotrofisen hengityksen  $\delta^{13}\text{C}_{\text{vuo}}$ -arvo enemmän heterotrofisen hengityksen  $\delta^{13}\text{C}_{\text{vuo}}$ -arvoa muistuttavaksi kuivuuden aikana. Tätä tarkasteltiin tilastollisen testin p-arvon avulla: mikäli ositteiden välinen ero muuttuu kuivuuden edetessä vähemmän merkitseväksi, autotrofisen hengityksen  $\delta^{13}\text{C}_{\text{vuo}}$ -arvo lähestyy heterotrofista. Lisäksi ositteiden  $\delta^{13}\text{C}_{\text{vuo}}$ -arvoja tarkasteltiin visuaalisesti, ja aikasarjakuvien perusteella selvitettiin, onko autotrofeilla hengityksellä heterotrofista pienempi  $\delta^{13}\text{C}$ -arvo.

Toisin kuin kasvihuoneilla, maankosteuden kehitys oli metsässä kontrolloimatonta, joten hiilidioksidivoiden kehitystä ja ositteiden erilaista kehitystä tarkasteltiin ajan sijaan maaperän B-horistontin kosteutta vasten.  $\delta^{13}\text{C}_{\text{vuo}}$ -arvojen eroja eri ositteilla puolestaan etsimällä tilastollisesti merkitseviä eroja Wilcoxonin testillä inkuboitujen juurten autotrofisen hengityksen sekä kammiomittausten heterotrofisen ja kokonaishengityksen väliltä.

## 3 Tulokset

### 3.1 Kasvihuonekokeen tulokset

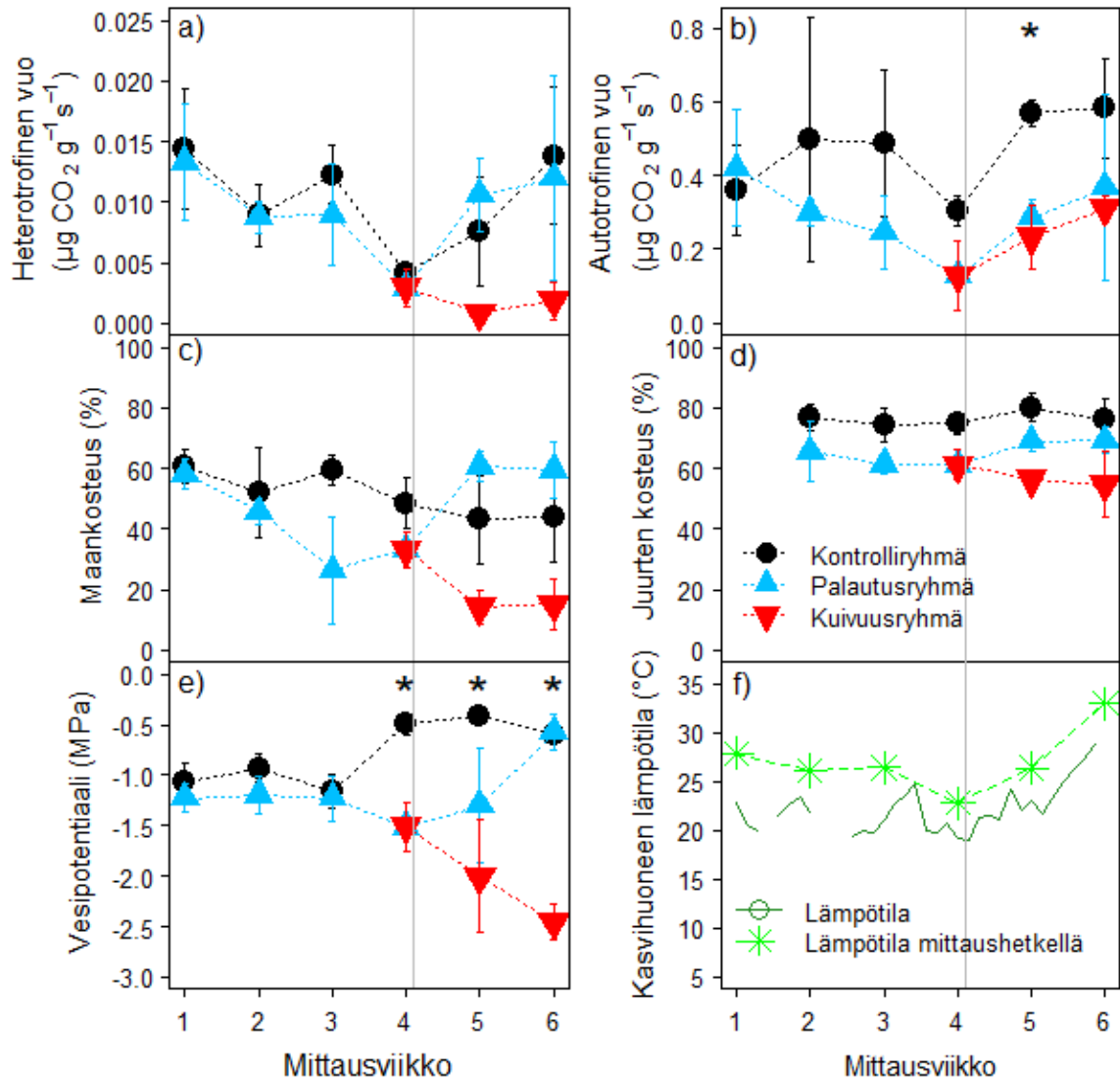
Heterotrofisesta ositteesta mitatut hiilidioksidivuot laskivat kaikilla kasteluryhmillä uudelleenkastelun aloittamiseen saakka (kuva 4). Kun palautusryhmän kastelukäsittely aloitettiin neljännen viikon mittauksen jälkeen, ryhmän hengitys kasvoi suhteessa kontrolliryhmän hengitykseen (kuva 4a). Autotrofisesta ositteesta mitattu vuo kehittyi niin, että kontrolliryhmän hengitys kasvoi alusta toiselle ja kolmannelle viikolle, pieneni neljännellä viikolla ja kasvoi jälleen viidennellä ja kuudennella mittausviikolla. Kuivuus- ja palautusryhmän autotrofiset vuot laskivat alusta neljännelle viikolle, minkä jälkeen kumpikin kasvoi viimeisten mittausviikkojen aikana (kuva 4b). Viidennellä viikolla ero kontrolli- ja kuivuusryhmien välisessä vuossa oli tilastollisesti melkein merkitsevä ( $P < 0,05$ ) (kuva 4b). Kasvihuonekokeessa mitatuista suureista tilastollisesti melkein merkitseviä eroja eri kastelukäsittelyryhmien välillä löytyi ainoastaan juurten autotrofisesta hiilidioksidivuosta sekä neulasten vesipotentiaalista.

Maankosteus säilyi kontrolliryhmällä melko tasaisena mittausjakson ajan laskien hieman neljännellä, viidennellä ja kuudennella mittausviikolla. Palautus- ja kuivuusryhmien maankosteus laski ensimmäiseltä viikolta kolmannelle, minkä jälkeen se nousi ennen uudelleenkastelun aloittamista: viidennellä ja kuudennella viikolla palautusryhmän maankosteus kohosi ja kuivuusryhmän putosi (kuva 4c). Juurten kosteus pysyi tasaisempuna kaikilla kastelukäsittelyryhmillä koko kokeen ajan. Kontrolliryhmän juurten kosteus nousi lievästi viidennen viikkoon saakka, minkä jälkeen se laski viimeisellä mittausviikolla. Palautus- ja kuivuusryhmien juurten kosteus oli koko kokeen ajan kontrolliryhmää alhaisempi, ja uudelleenkastelun aloittamisen jälkeen palautusryhmän kosteus nousi lähemmäs kontrolliryhmää kuivuusryhmän kosteuden laskiessa (kuva 4d). Ryhmien maan- ja juurten kosteuksissa ei kuitenkaan ollut tilastollisesti merkitseviä eroja.

Puiden vesipotentiaali pysyi kaikilla kastelukäsittelyryhmillä melko tasaisena kolmen ensimmäisen mittausviikon aikana, palautus- ja kuivuusryhmien vesipotentiaalin ollessa hieman negatiivisempi kuin kontrolliryhmällä (kuva 4e). Neljännellä viikolla ero kontrolliryhmän ja palautus- ja kuivuusryhmän vesipotentiaaleissa oli tilastollisesti melkein merkitsevä ( $P < 0,05$ ), minkä jälkeen kontrolli- ja kuivuusryhmien välinen ero oli melkein merkitsevä ( $P < 0,05$ ) viidennellä viikolla sekä kuudennella viikolla ja palautus- ja kuivuusryhmien välillä kuudennella viikolla (kuva 4e).



Kasvihuoneen lämpötila säilyi mittauksen ensimmäisten viikkojen aikana 18 ja 25 °C:n välillä, mutta kohosi viidennen ja kuudennen mittausviikon aikana yli 30 °C:seen (kuva 4f).

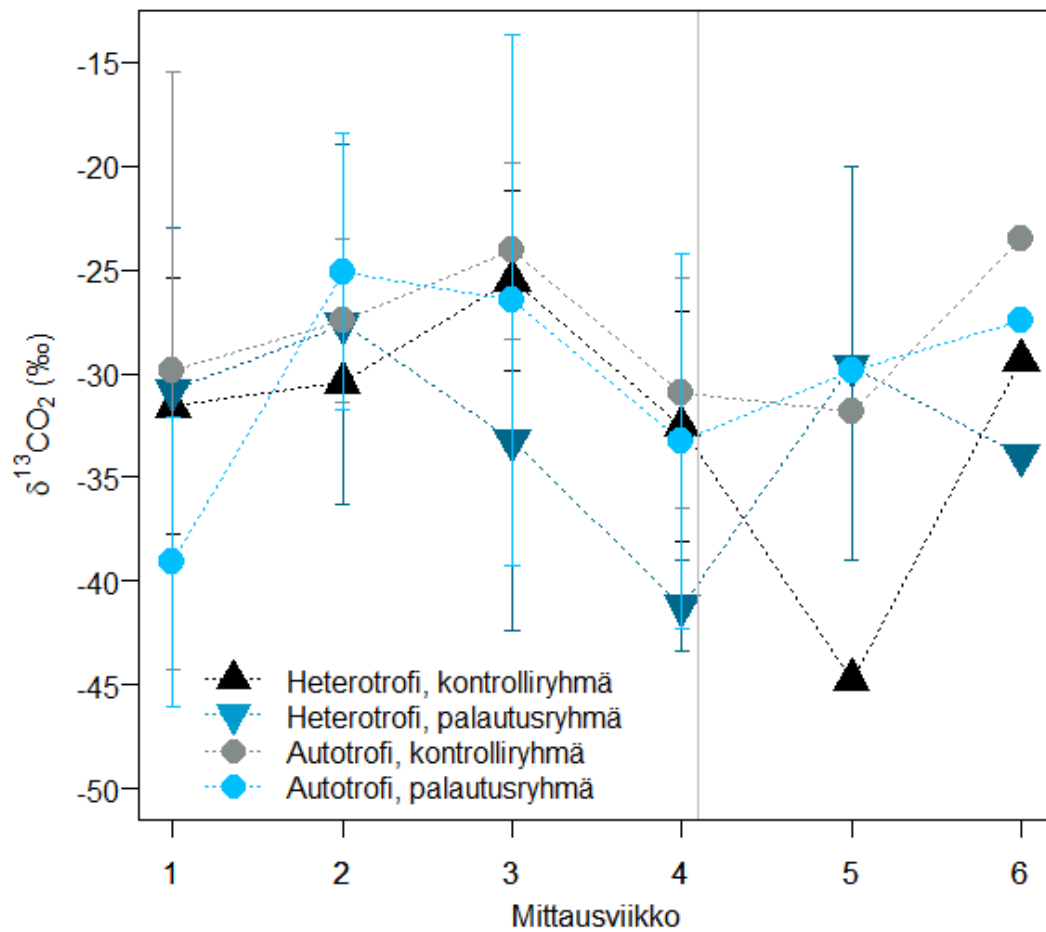


Kuva 4. Auto- ja heterotrofisen hiilidioksidivuon, maan- ja juurtenkosteuden ja neulasten vesipotentiaalin keskiarvot ja keskihajonnat sekä kasvihuoneen lämpötilän kehitys kasvihuonekokeen aikana. Palautusryhmän kastelun aloittamishetki on merkitty harmaalla viivalla. Tilastollisesti melkein merkitsevät erot ( $P < 0,05$ ) kastelukäsittelyryhmien välisessä kehityksessä on merkitty asteriskilla (\*). a-b) Maan ja juurten hiilidioksidivoiden keskiarvot ja keskihajonnat käsittelyittäin. Kuivuus- ja uudelleenkasteluryhmät ovat sama ryhmä ensimmäiseltä viikolta neljännelle, minkä jälkeen uudelleenkasteluryhmän kasteleminen

*aloitettiin. c-d) Maan- ja juurten kosteusprosenttien keskiarvot ja keskihajonnat käsittelyittäin; vastaavasti kuin kuvissa a-b, palautus- ja kuivuusryhmä ovat sama ryhmä ensimmäiseltä viikolta neljännelle. d) Koepuiden neulasista mitattujen vesipotentialien keskiarvot ja keskihajonnat käsittelyittäin. e-f) Kasvihuoneen ilmanlämpötilan kehitys kokeen aikana: vuorokauden sekä mittaushetkien keskiarvot.*

Kuivuusryhmän isotooppihavaintopisteitä oli määrällisesti vähemmän niillä mittauskerroilla, kun kuivuus- ja palautusryhmän voita mitattiin erikseen (mittausviikot 5 ja 6). Kuivuusryhmän puista ei otettu mittauksia kahdella viimeisellä mittausviikolla, mistä syystä tuloksissa tarkastellaan ainoastaan kontrolli- ja palautusryhmän  $\delta^{13}\text{C}_{\text{vuo}}$ -arvoja.

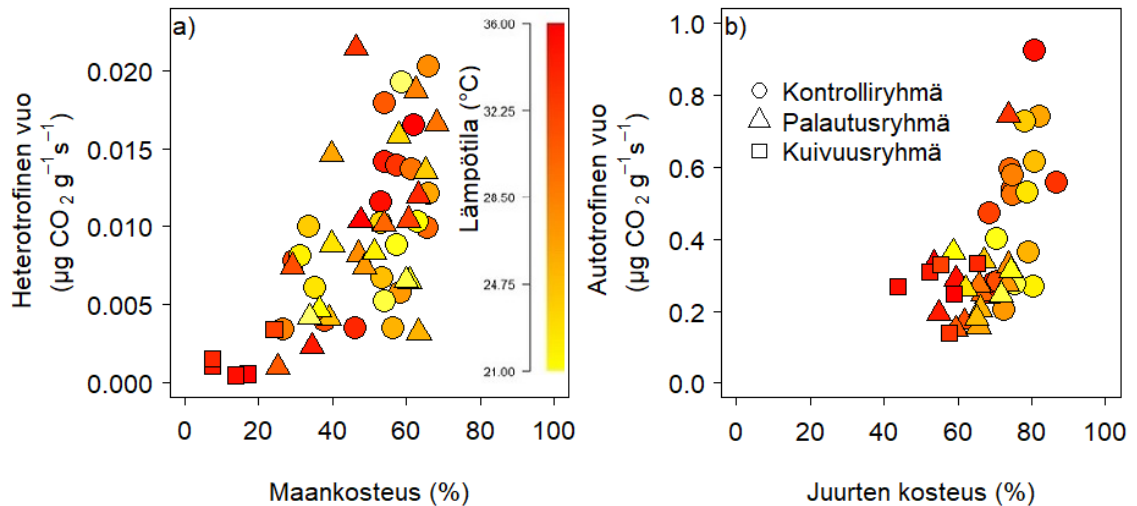
Eri kastelukäsittelyryhmien  $\delta^{13}\text{C}_{\text{vuo}}$ -arvojen välisissä eroissa ei ollut tilastollista merkittävyyttä yhdelläkään mittausviikolla eikä testien p-arvojen kehityksessä ollut johdonmukaisuutta. Autotrofiset  $\delta^{13}\text{C}_{\text{vuo}}$ -arvot olivat samankaltaisia heterotrofisten kanssa: ainoastaan ensimmäisellä mittausviikolla autotrofien kontrolliryhmä oli heterotrofista selkeästi negatiivisempi (kuva 5). Heterotrofien palautusryhmän  $\delta^{13}\text{C}_{\text{vuo}}$ -arvo laski muita alemmas viikolla neljä ja kontrolliryhmän viikolla viisi, mutta kyseinen arvo oli ryhmän ainoa havaintopiste mittausviikolta (kuva 5). Muutoin kummastakin ositteesta mitatut  $\delta^{13}\text{C}_{\text{vuo}}$ -arvot käyttäytyivät ilman selkeää kehityssuuntaa koko kokeen ajan.



Kuva 5. Auto- ja heterotrofisen hengityksen  $\delta^{13}\text{C}_{\text{vuo}}$ -arvojen keskiarvot ja keskihajonnat kasvihuonekokeen aikana. Palautusryhmän kastelun aloittamishetki on merkitty harmaalla viivalla. Pisteet, joissa ei ole keskihajontaviivoja, eivät ole havaintopisteiden keskiarvoja vaan yksittäisiä pisteitä saman ryhmän muiden havaintojen jäätyä suodattamisen jälkeen pois.

Kasvihuoneen lämpötila vaihteli kokeen aikana aiottua enemmän, joten maahengitystä tarkasteltiin kosteusarvojen lisäksi yhdessä lämpötilan kanssa. Sekä hetero- että autotrofinen hengitys kiihtyi kosteuden kasvaessa, mutta lämpötilanvaihtelu ei ollut yksiselitteisesti yhteydessä hiilidioksidivuon suuruuteen (kuva 6). Heterotrofinen hengitys muuttui pieneksi maankosteuden lähestyessä nollaa (kuva 6a), kun taas juurten kosteusprosentti säilyi suhteellisen korkeana koko kokeen ajan, eikä myöskään autotrofinen hengitys ei laskenut yhtä

lähelle nollaa kuin heterotrofeilla (kuva 6b). Sekä autotrofinen että heterotrofinen vuo eri käsittelyissä nousee kosteuden myötä ilman että eri käsittelyt silminnähden erottuisivat toisistaan.



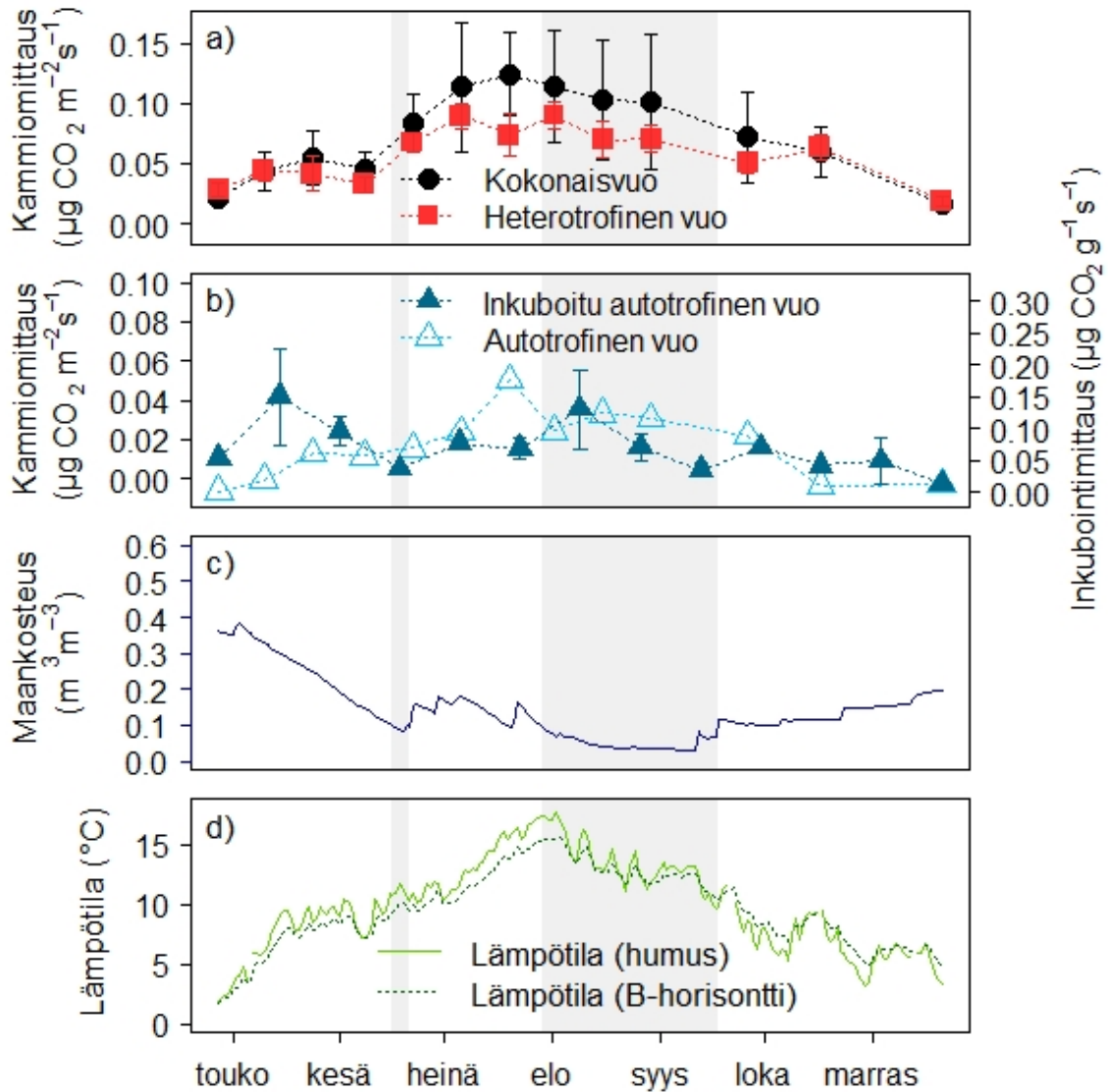
Kuva 6. a) Hetero- ja b) autotrofiset hiilidioksidivuot ositteiden kosteuden suhteen. Symbolin väri kuvastaa ilman lämpötilaa mittaushetkellä.

### 3.2 Maastomittausten tulokset

Kammiomittaustekniikalla mitattujen heterotrofisen ja kokonaishengityksen hiilidioksidivuot kasvoivat kasvukauden alusta toukokuulta heinä-elokuulle, minkä jälkeen ositteiden hengitys alkoi pienentyä kasvukauden loppua kohden (kuva 7a). Inkuboitu autotrofinen hengitys oli korkeimmillaan kesäkuun alussa (kuva 7b). Tämän jälkeen se vaihteli kesä-heinäkuun matalasta tasosta elokuun alussa korkeaan, pienentyi syyskuun alussa ja kasvoi syyskuun lopussa kutistuen kasvukauden päättyessä samaan tahtiin kuin kammiomittausten hiilidioksidivuot (kuva 7b). Kammiomittausten kokonais- ja heterotrofisesta hengityksestä erotusmenetelmällä selvitetty autotrofinen hengitys noudatteli edellisten kehitystä kasvukauden aikana, ja sen suhteellinen osuus kokonaishengityksestä oli suurimmillaan heinäkuussa (kuva 7b). Inkubointimenetelmällä mitattu autotrofinen hengitys vaihteli koko mittauskauden ajan voimakkaammin kuin erotusmenetelmällä määritetty autotrofinen hengitys tai muut kammiomittausten tulokset. Hiilidioksidivuo laski kammiomittausten tuloksiin verrattuna

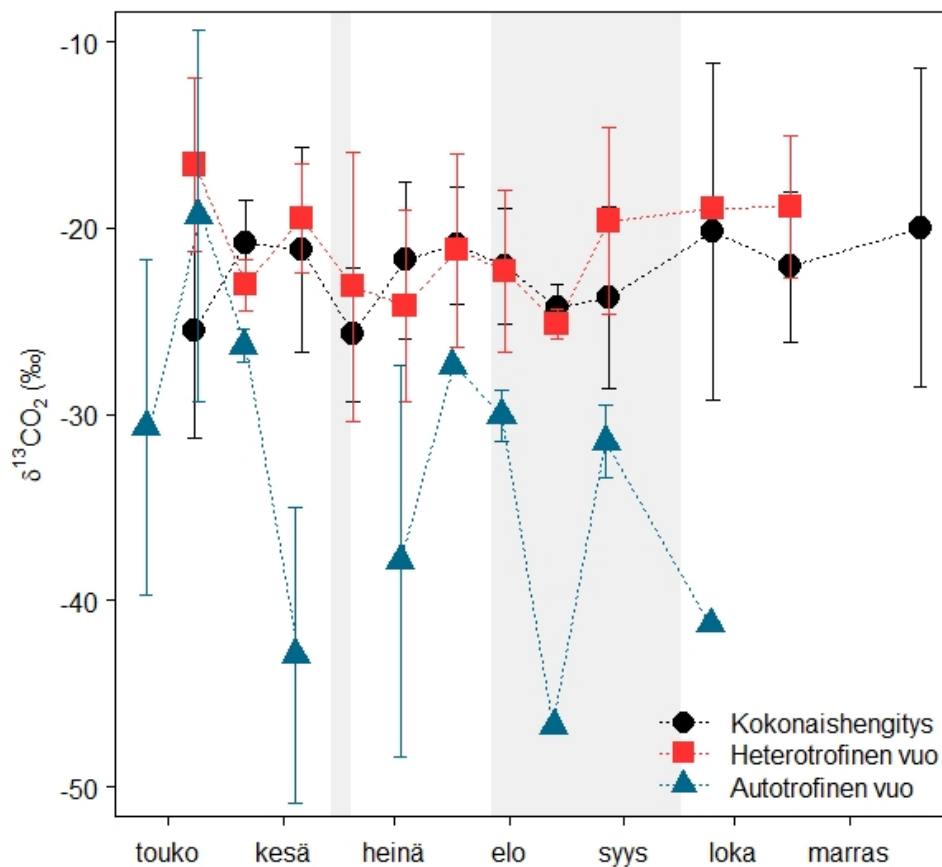
jyrkästi keväällä, nousi kasvukauden keskellä ja laski elo-syyskuun kuivana ajanjaksona jyrkemmin kuin heterotrofinen hengitys.

Maastomittausten maahengityskoealalla maan kosteus laski mittausjakson alusta kesäkuulle, minkä jälkeen se nousi hieman ja laski sitten alhaisimmilleen elo-syyskuun aikana (kuva 7c). Tämän jälkeen kosteus nousi vähitellen kohti kasvukauden loppua. Sekä humuskerroksessa että B-horisontissa maan lämpötila kohosi mittausjakson aikana ollen korkeimmillaan elokuun alussa, ja laski sitten kohti mittausjakson loppua (kuva 7d). Kasvukausi 2018 oli hyvin kuiva ja maan kosteus erittäin alhainen, laskien ajoittain alle  $0,1 \text{ m}^3\text{m}^{-3}$  (kuva 7).



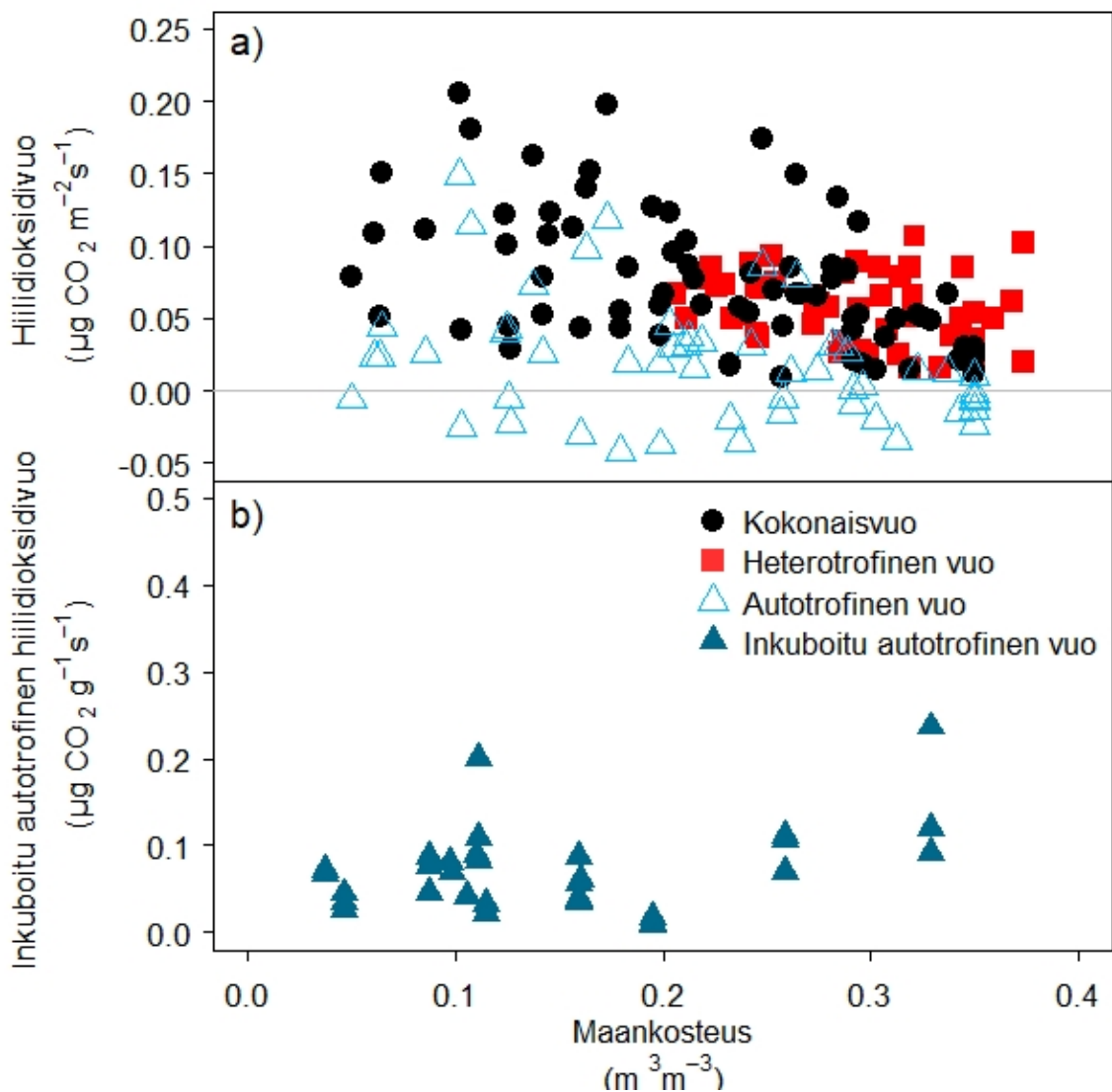
Kuva 7. Kammiomittaus- sekä inkubointimenetelmällä mitatut hiilidioksidivuot sekä maaperän kosteus ja lämpötila maahengityskoealalla 2018 mittausjakson aikana. Ajanhetket, jolloin maan vesipitoisuus alitti  $0,1 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$ , on merkitty kuvaan harmaalla taustavärillä. a) Kammiomittausalojen mitattujen hiilidioksidivoiden keskiarvot ja keskihajonnat. b) Kammiomittauksen hiilidioksidivoista erotusmenetelmällä selvitetty autotrofinen hiilidioksidi- vuo sekä inkuboitujen juurten autotrofisen hiilidioksidivuon keskiarvot ja keskihajonnat. Erotusmenetelmällä laskettu autotrofinen hiilidioksidivuo on ajoittain negatiivinen, sillä kokonais- ja heterotrofinen hengitys eivät vastaa täysin toisiaan. c) Maankosteuden vuorokauden keskiarvot B-horisontissa mittausjakson aikana. d) Maan lämpötilan vuorokauden keskiarvot humuskerroksessa ja B-horisontissa mittausjakson aikana.

Kammiomittaisten kokonaishengityksen ja heterotrofisen hengityksen  $\delta^{13}\text{C}_{\text{vuo}}$ -arvot olivat keskenään hyvin samanlaiset, kun taas inkuboitujen juurten  $\delta^{13}\text{C}_{\text{vuo}}$ -arvo oli näitä selkeästi negatiivisempi (kuva 8). Mittausviikoittain testattujen havaintojen välillä ei ollut tilastollisesti merkitseviä eroja. Autotrofisen hengityksen  $\delta^{13}\text{C}_{\text{vuo}}$ -arvo oli lähimpänä heterotrofista mittauskauden alussa, jolloin maan kosteuspitoisuus oli korkeimmillaan, ja pieneni kasvu-kauden edetessä. Autotrofisen hengityksen negatiivisimmat arvot mitattiin maankosteuden ollessa pienimmillään (kuva 8).



Kuva 8. Maahengityksen  $\delta^{13}\text{C}_{\text{vuo}}$ -arvojen keskiarvot ja keskihajonnat maahengityskoealalla mittauskauden aikana. Heterotrofisen ja kokonaishengityksen arvot on mitattu kammiomittaustekniikalla ja autotrofisen inkubointitekniikalla. Ajanhetket, jolloin maan vesipitoisuus alitti  $0,1 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$ , on merkitty kuvaan harmaalla taustavärillä. Pisteet, joissa ei ole keskihajontaviivoja, eivät ole havaintopisteiden keskiarvoja vaan yksittäisiä pisteitä saman ryhmän muiden havaintojen jäätyä suodattamisen jälkeen pois.

Maankosteus vaihteli mittauspisteillä eri tavoin riippuen siitä, oliko mittauspisteelle tehty juurenpoistokäsittely. Mittausalat, joilla ei ollut juuria, pysyivät juurellisia mittaualoja kosteampina koko mittaussjakson ajan ja ainoastaan kontrollialoilla maankosteus alitti  $0,1 \text{ m}^3 \text{ m}^{-3}$  (kuva 9a). Ositteesta riippumatta vuot käyttäytyivät ilman selkeää kehityssuuntaa suhteessa maankosteuteen (kuva 9a) lukuun ottamatta inkuboitujen juurten hengitystä, joka kasvoi hie-man kosteuden lisääntyessä (kuva 9b).



Kuva 9. Kammio- ja inkubointimittausten hiilidioksidivuot maankosteuden suhteen. a) Kontrollialoilta mitattu kokonaishiilidioksidivuo, juurettomilta koelaloilta mitattu heterotrofinen osite sekä näiden erotuksesta määritetty autotrofinen osite koelalta mittaushetkellä tehdyn kosteusmittauksen suhteen. Autotrofinen hiilidioksidivuo on ajoittain negatiivinen, sillä kokonais- ja heterotrofinen hengitys, joita käyttäen se laskettiin, eivät vastaa



*täysin toisiaan. b) Inkubointimittausten autotrofinen hiilidioksidivuo maahengityskoealalta jatkuva-aikaisesti mitatun maankosteuden suhteen.*

## 4 Tulosten tarkastelu

Kuten aiemmin todettiin, muutokset maan orgaanisen hiilen varastossa ovat merkittäviä ilmakehän hiilidioksidimäärän kannalta. Maahengityksen autotrofisen ja heterotrofisen ositteiden kasvulla on erilainen merkitys maan hiilivarastoon: autotrofisen hengityksen kasvu tarkoittaa kasvien aktiivisuuden lisääntymistä, kun taas heterotrofisen hengityksen kasvu puolestaan merkitsee maan kuolleen kasviaineksen nopeampaa hajottamista (Andrews ym. 1999). Tutkimukset maahengityksen ja sen ositteiden kehityssuunnista boreaalisissa metsissä ovat tuottaneet keskenään erilaisia tuloksia ja johtopäätöksiä sekä ilmiöstä että sen tutkimiseen käytettävistä menetelmistä. Myös tämän tutkimuksen eri kaksi eri aineistoa ja kaksi eri mittausten menetelmää tuottivat toisistaan eroavia tuloksia.

Tutkimuksessa haluttiin selvittää, pieneneekö männyn juurten autotrofinen hengitys heterotrofista hitaammin kuivuudessa ja muuttuuko sen  $\delta^{13}\text{C}_{\text{vuo}}$ -arvo enemmän heterotrofisen hengityksen  $\delta^{13}\text{C}_{\text{vuo}}$ -arvoa muistuttavaksi molempien ositteiden kokiessa kuivuutta. Tutkimusaineistona käytettiin kasvihuoneessa tehtyä kuivuuskoetta sekä maastomittauksia keskikäisessä metsässä erityisen kuivana vuonna 2018. Kasvihuonekokeessa molemmat hengityksen ositteet reagoivat selvästi kuivuuteen, kun taas maastomittauksien tulokset eivät olleet yhtä selvät. Tähän oli useita syitä, joita tarkastelen tässä luvussa. Lisäksi kummankin koeasetelman ympäristöolosuhteissa oli myöhemmin eriteltäviä tekijöitä, joita ei kyetty ennakoidaan koeasetelmaa ja mittauksia tehtäessä ja joiden vaikutusta ei pystytty poistamaan aineistosta mittauksien jälkeen. Näiden tekijöiden huomioiminen on tärkeää, kun tarkastellaan tuloksia sekä niiden luotettavuutta.

### 4.1. Autotrofisen hengityksen reagointi kuivuuteen

Aiemmissä tutkimuksissa on havaittu, että maahengityksen ositteet reagoivat toisistaan eroavasti kokemaansa kuivuuteen. Tulokset siitä, kumman aktiivisuus vähenee tai kasvaa voimakkaammin, ovat vaihdelleet ja ympäristöolosuhteiden lisäksi mm. tarkastelujakson kesto vaikuttaa paljon siihen, millainen tulos on. Autotrofisen maahengityksen suuruus määräytyy enemmän kasvukauden ajankohdalla (mm. Buchmann 2000, Lloyd & Taylor 1994) ja autotrofien kyvyllä toimia muuttuneissa olosuhteissa, kun taas heterotrofit reagoivat välittömämmin ympäristöolosuhteiden hetkellisiin muutoksiin (Lloyd & Taylor 1994). Tämän tutkimuksen kasvihuonekokeessa maahengityksen ositteiden muutokset eri kuivuuskäsittelyi-

den välillä olivat pääasiallisesti ei-merkitseviä. Hiilidioksidivoiden muutosta ajan yli ei verrattu suoraan toisiinsa, mutta niiden kehitys ei myöskään poikennut huomattavan suuresti toisistaan. Ainoa tilastollisesti melkein merkitsevä ero vuossa käsittelyiden välillä havaittiin kasvihuonekokeen viidennellä mittausviikolla autotrofisen hengityksen kontrolli- ja kuivuusryhmien välillä. Autotrofinen hengitys kuitenkin suureni neljännen viikon alhaisesta pisteestä kokeen loppua kohti myös kuivuusryhmällä, jota ei kasteltu. Autotrofinen hengitys siis näytti toipuvan erittäin kuivista olosuhteista. Maastomittausten kammiomittausaineiston perusteella puolestaan voidaan todeta, että maahengityskoealojen autotrofinen hengitys vaikutti kehittyvän enemmän suhteessa kasvukauden ajankohtaan kuin ympäristöolosuhteisiin tai maaperän kuivuuteen. Sekä kasvihuonekokeen että maastomittausten perusteella autotrofiset juuret vaikuttavat vastustavan kuivuutta pysymällä aktiivisina myös kuivuuden aikana.

Maastossa inkuboiduista juurista mitattu autotrofinen hengitys sopii kevään korkeaa vuota lukuun ottamatta melko hyvin yhteen kammiomittausten tulosten kanssa. Kevään jälkeen inkuboitu autotrofinen hengitys noudattaa kasvukaudenaikaista kehitystä, mutta ei yhtä selkeästi kuin kammiomittausten tuloksissa. Tulosten perusteella näyttääkin, että inkuboitu autotrofinen hengitys vaihtelee voimakkaammin kuin kammiomittausten autotrofinen hengitys. Inkuboitu vuo saattaa reagoida voimakkaammin ympäristöolosuhteiden muutoksiin, mutta se saattaa myös reagoida enemmän näytteenottoon eli siihen, kun hengittävä juuri kaivettiin maasta ja irrotettiin juuristosta. Mittausmenetelmän mahdollista vaikutusta inkuboitavan näytteen aktiivisuuteen arvioidaan lisää luvussa 4.4.

## **4.2. Heterotrofisen hengityksen reagointi kuivuuteen**

Kasvihuonekokeen tuloksissa palautusryhmän heterotrofinen hengitys toipui uudelleenkas-telun aloittamisen jälkeen kontrolliryhmän hengitystä muistuttavaksi, kun taas kuivuusryh-män hengitys muuttui kokeen viimeisillä viikoilla hyvin pieneksi. Heterotrofisen hengitys reagoi siis voimakkaasti sekä kuivuuteen että kastelun aloittamiseen. Maastomittauksissa vastaavaa ilmiötä ei ole havaittavissa. Tämä saattoi osittain johtua siitä, että juurettomat mit-tauspisteet, joilta heterotrofista vuota mitattiin, säilyivät kontrollimittauspisteitä kosteam-pina. Juurettomien mittauspisteiden maankosteus pysyi käsittelemättömästä maata korkeamana, sillä puiden juuret poistivat käsittelemättömästä maaperästä paljon vettä. Juurettomilla mit-tauspisteillä näin ei tietenkään käynyt, joten pisteiden maankosteus säilyi korkeampana kuin

ympäröivän maan. Juurettomien- ja kontrollimittauspisteiden toisistaan eroavan maankosteuden vuoksi niiden hengitystä on hankala verrata keskenään. Ositteiden käyttäytymistä suhteessa kuivuuteen saattaisi kuitenkin olla mahdollista tarkastella, jos aineisto olisi kahden kasvukauden ajalta eli kuivan 2018 kesän lisäksi normaalisateiselta kesältä.

Aiemmat tutkimukset osoittavat, että boreaalisessa metsämaassa heterotrofisella maahengityksellä on autotrofista suurempi kapasiteetti muuttua ympäristöolosuhteiden muuttuessa aiempaa kuivemmiksi: synteesissään maahengityksen maailmanlaajuisista kehityssuunnista muuttuvien lämpötila- ja sadeolosuhteiden suhteen Wei ym. (2010) havaitsivat eroja maahengityksen ositteiden vasteissa lisääntyneeseen lämpöön ja kosteuteen. Autotrofinen hengitys lisääntyy tiettyyn kynnyksiarvoon saakka lämpötilan ja kosteuden kasvaessa, mutta lämpötilan kynnyksiarvon ylittyttyä autotrofinen hengitys ei lisäännä (mm. Lloyd & Taylor 1994, Wei ym. 2010). Heterotrofisella hengityksellä puolestaan ei ole yhtä selkeää kynnyksiarvoa, jonka ylittymisen jälkeen aktiivisuuden kasvu pysähtyisi (Wei ym. 2010). Schindlbacherin ym. (2009) kuusimetsässä Alppien vuoristoboreaalisella vyöhykkeellä suorittamassa maan lämmityskokeessa puolestaan havaittiin heterotrofisen hengityksen vastaavan lämpötilan nousuun autotrofista nopeammin. Kokeessa maata lämmitettiin 4 °C:n verran senhetkiseen lämpötilaan verrattuna kahtena kasvukautena, minkä seurauksena heterotrofinen hengitys kasvoi 39–45 % kokonismaahengityksen kasvaessa 45–47 % (Schindlbacher ym. 2009). Samalla koealalla 24 tunnin ja 10 °C:n lämmityskokeessa puolestaan kuitenkin havaittiin, että autotrofinen hengitys reagoi heterotrofista voimakkaammin lämpötilan muutokseen lyhyellä aikavälillä. Tuloksen arveltiin olevan merkittävä maan hiilivarastoille vuorokausilämpötiloiltaan äärevillä kasvupaikoilla (Schindlbacher ym. 2008).

Korkeiden lämpötilojen ja kuivuuden on siis todettu rajoittavan heterotrofista maahengitystä autotrofista vähemmän. Tämän tutkimuksen kasvihuoneaineiston tulokset viittaavat samaan, sillä heterotrofinen vuo reagoi autotrofista voimakkaammin ympäristöolosuhteiden muutoksiin. Maastomittauksissa vastaavaa ilmiötä ei ole havaittavissa. Kasvihuonekokeessa, jonka tuloksissa hiilidioksidivuota tarkastellaan mittausajankohdan ilmanlämpötilan kanssa, ei havaittu selkeää yhteyttä vuon suuruuden ja lämpötilan kanssa. Sen sijaan näytteen kosteudella oli selvä yhteys vuon suuruuteen kummallakin ositteella kuivuuskäsittelystä riippumatta. Maastomittauksissa vuon suuruus ei kehittänyt yhtä voimakkaasti yhdessä maankosteuden kanssa, paitsi inkuboitujen juurten tapauksessa. Kirjallisuuden perusteella vaikuttaa siltä, että boreaalisen kasvillisuusvyöhykkeen maaperän hiilivarasto muuttuu pienemmäksi, mikäli ilmastonmuutos muuttaa vyöhykkeen kasvuolosuhteita lämpimämmiksi (mm. IPCC

2014, Schindlbacher ym. 2009, Wei ym. 2010). Tämän tutkimuksen tulokset viittaisivat siihen, että myös kuivuudessa heterotrofinen hengitys reagoi autotrofista voimakkaammin.

Maahengityksen muutos lämpenevissä olosuhteissa on huomionarvoinen ilmiö myös kasvukauden ulkopuolella. Lumipeitteinen aika, joka on boreaaliselle vyöhykkeelle ja metsälle, jossa maastomittaukset suoritettiin, ominainen (Ilmatieteen laitos 2019), on muutoksessa (IPCC 2014), mikä vaikuttaa maahengitykseen kasvukauden ulkopuolisena aikana. Jiao & Wang (2019) tutkivat maahengitystä temperaattisessa lehtimetsässä, jossa oli kasvukauden ulkopuolisena aikana paksu lumipeite. Yksi tutkimuksen tuloksista oli, että maahengityksen lämpötilaherkkyys on sekä sen heterotrofisella että autotrofisella ositteella suurempi kasvukauden ulkopuolella, mikäli lumipeitettä ei ole (Jiao & Wang 2019). Tämä lieneekin merkittävä yksityiskohta myös boreaalisen metsämaan hengitystä tarkasteltaessa, sillä lumipeitteisen ajanjakson ennustetaan lyhenevän erityisesti boreaalisella alueella (Post ym. 1990). Mikäli halutaan tarkempia ennusteita siitä, kuinka orgaaninen hiili vapautuu maahengityksessä borealisesta metsämaasta ilmakehään, on tärkeää, että prosessin tutkiminen ulotetaan myös kasvukauden ulkopuolelle.

### **4.3. $\delta^{13}\text{C}$ -signaali ja menetelmän käytettävyys**

Kasvihuonekokeessa maahengityksen  $\delta^{13}\text{C}$ -arvot käyttäytyivät eri tavalla kuin oli oletettu. Autotrofisten juurten  $\delta^{13}\text{C}$ -signaalin oletettiin olevan heterotrofisen maan arvoa pienempi kokeen alussa, ja kontrolliryhmän juurilla arvon oletettiin säilyvän muita ryhmiä pienempänä koko kokeen ajan. Sen sijaan autotrofisen hengityksen  $\delta^{13}\text{C}$ -signaali ei kastelukäsittelystä riippumatta ollut selkeästi heterotrofista pienempi missään vaiheessa koetta, eivätkä erot kahden ositteen välillä olleet merkittäviä. Kasvihuonekokeen tulosten perusteella autotrofisen hengityksen  $\delta^{13}\text{C}$ -signaali ei ollut merkittävästi tai selkeästi heterotrofisen hengityksen signaalia pienempi, eikä maahengityksen ositteiden  $\delta^{13}\text{C}$ -arvoilla kuivuusolosuhteista riippumatta ollut merkittävä eroa.

Kasvihuonekokeen  $\delta^{13}\text{C}$ -signaalin kehityksen tulkitseminen luotettavasti ja tarkoituksenmukaisesti on vaikeaa myös aineiston aukkoisuuden takia. Mittausjakson kahdella viimeisellä viikolla kuivuskäsittelyryhmälle ei tehty kaasunäytteenottoa, joten kuivuudesta kärsineiden juurten  $\delta^{13}\text{C}$ -signaalia ei voitu tarkastella kasteltuja arvoja vasten. Havaintopisteiden puuttumisen lisäksi myös mahdollisia havaintopisteitä suodattui runsaasti pois kaikista kuivuskäsittelyryhmistä. Tästä syystä varsinkin kokeen viimeisten viikkojen  $\delta^{13}\text{C}$ -havainnot

ovat keskiarvojen sijaan yksittäisiä havaintopisteitä, joiden kehitystä ei voi luotettavasti yleistää koskemaan koko aineistoa.

Högbergin ym. (2005b) lisäksi Sakata ym. (2007) ja Ekblad ym. (2002) tutkivat autotrofisen ja heterotrofisen maahengityksen erottamista toisistaan niiden  $\delta^{13}\text{C}$ -signaalien perusteella. Kummassakin tutkimuksessa tulokset poikkesivat tämän tutkimuksen tuloksista ja rohkaisivat isotooppimenetelmän käyttöön: Sakata ym. (2007) mittasivat temperaattisessa lehtimetssä ositteille toisistaan merkitsevästi poikkeavat  $\delta^{13}\text{C}$ -signaalit ja esittivät siksi, että ositteiden suhdetta on mahdollista tarkastella ja erotella niiden  $\delta^{13}\text{C}$ -signaalien perusteella. Vastaavasti Ekblad ym. (2002) mittasivat boreaalisessa männikössä autotrofiselle ja heterotrofiselle maahengitykselle selkeästi eroavat  $\delta^{13}\text{C}$ -signaalit ja päättelivät, että hiili-13:n syrjäytyminen on heterotrofisessa hengityksessä hyvin vähäistä. Aaltonen ym. (2017) puolestaan havaitsi boreaalisen männikön kokonaismaahengityksen muuttuvan  $\delta^{13}\text{C}$ -signaaliltaan merkitsevästi suuremmaksi metsikön kokiessa kuivuutta.

Toisin kuin kasvihuonekokeen tuloksissa, maastomittausten inkuboidun autotrofisen hengityksen  $\delta^{13}\text{C}$ -signaali oli pienempi kuin kammioimitatun heterotrofisen hengityksen. Maastossa maahengityksen  $\delta^{13}\text{C}$ -signaalien havaittiin siis käyttäytyvän kuten Farqhar ym. (1989) esittivät ja mm. Sakata ym. (2007) sekä Ekblad ym. (2002) myöhemmin totesivat. Inkuboituja autotrofisia havaintoja suodattui kuitenkin runsaasti pois, joten osassa mittausviikoista tulos oli usean havainnon keskiarvon sijaan vain yksi havainto. Autotrofisen ja heterotrofisen hengityksen  $\delta^{13}\text{C}$ -signaalien eron luotettava tarkastelu ei tulosten puitteissa ole mahdollista, mutta myös tämän aineiston perusteella vaikuttaisi, että suuremmalla otoskoollla ja yhtenäisemmällä mittausmenetelmällä ilmiön toimintaa voisi tutkia tarkemmin.

Maahengityksen ositteiden erottamisesta  $\delta^{13}\text{C}$ -signaalien perusteella tehdyt tutkimukset ovat todenneet, että  $\delta^{13}\text{C}$ -signaalien käyttö maahengityksen on tutkimusmenetelmänä suhteellisen uutuutensa vuoksi epävarma ja että sitä on kehitettävä edelleen. Yksi Högbergin ym. (2005b) keskeisistä johtopäätöksistä oli, että ei-destruktiiviset mittausmenetelmät tuottavat tarkempia ja luotettavampia tuloksia kuin destruktiiviset. Tämän tutkimuksen menetelmistä kasvihuonekoe oli kokonaisuudessaan destruktiivinen, sillä puu, jonka juuristoa mitattiin, kuoli aina mittauksen yhteydessä. Pussi-inkubointi oli sekä maata että juurta mitattaessa destruktiivinen menetelmä, sillä mittauksen yhteydessä mitattu juuri kuoli ja maan tapauksessa muutti sen normaalia toimintaa. Kammiomittausmenetelmässä juurettomien koealojen teke-

minen häiritsi maaperän toimintaa, mutta se oli luonteeltaan vähemmän destruktiivinen koeasetelma sillä maaperä palautti käsittelyn jälkeen hieman. Tässä tutkimuksessa mittauspisteiden tekemisen ja mittausten ajankohdan välillä oli vuosi, joten maa oli ehtinyt palautua käsittelystä. Tutkimuksen aineisto oli siis lähtöisin sekä pahasti häirityistä että vähemmän häirityistä lähteistä.

#### **4.4. Mahdollisia virhelähteitä aineiston keräämisessä ja käsittelyssä**

Kasvihuonekokeessa maan ja juurten kosteus sekä puiden vesipotentiaali kehittyivät kokeen aikana suunnilleen odotetusti. Kuivuusrajan alittava vesipotentiaali mitattiin palautus- ja kuivuusryhmän puista, joten kuivuusryhmän puut kärsivät kuivuudesta kolmen viikon ajan ja palautusryhmän puut yhdellä viikolla ennen kastelun aloittamista. Vesipotentiaali oli ainoa mitattu suure, jonka kastelukäsittelyjen välisissä eroissa oli tilastollista merkitsevyyttä käsittelyn edetessä. Vesipotentiaalin perusteella kuivuuskäsittelyllä oli siis suunniteltu vaikutus puiden toimintaan. Vesipotentiaalin sekä maan ja juurten kosteuskehityksen perusteella kuivuuskäsittelyn voi arvioida onnistuneen.

On kuitenkin perusteltua olettaa, että kasvihuonekokeessa maahengitys kehittyi kastelun ja kosteuden lisäksi niiden yhteisvaikutuksen sekä mahdollisesti muiden ympäristötekijöiden suhteen, toisin kuin koeasetelmaa luotaessa oli tarkoitus. Hengityksen voimakkuuteen suuresti vaikuttava tekijä, ilman lämpötila, vaihteli paljon mittausjakson aikana ja oli yleisesti korkeimmillaan kokeen lopussa, jolloin kuivuuskäsittely oli pisimmillään. Vaikka lämpötila ei tulosten perusteella olekaan yksiselitteisesti yhteydessä hiilidioksidivuon suuruuteen, on todennäköistä, että se on vaikuttanut hengittävien organismien elintoimintoihin esimerkiksi kiihdyttäen hengitystä mittaushetkellä. Mittaukset suoritettiin iltapäivisin vuorokauden lämpimimmillä hetkillä, joten mitattavien näytteiden hengitykset ovat saattaneet olla myös mittaushetkellä poikkeavia suhteessa muihin ajanhetkiin mittauskauden aikana.

Epäyhtenäisten ympäristöolosuhteiden lisäksi kasvihuoneella mitatut näytteet ovat saattaneet olla keskenään erilaisia. Kokeessa mitattiin näytteitä, joiden toimintakyky saattoi vaihdella mittaajan ja näytteenottajan tietämättä: mitatun maaperän laadussa havaittiin mittaussvaiheissa eroja: osassa maanäytteistä oli mukana vaihteleva määrä hiekkaa. Tämä vaikuttaa maanäytteen aktiivisuuteen mahdollisesti laskevasti, ja maanäytteiden olisi pitänyt olla koostumukseltaan mahdollisimman samanlaisia. Mitattujen juurten ikää ja toimintakykyä ei voi mittaustilanteessa arvioida eikä suhteuttaa muihin mitattaviksi valittuihin juuriin. Mikäli

näytteitä olisi ollut enemmän, niiden määrä olisi saattanut tasoittaa niiden välistä toiminnallista heterogeenisuutta, jolloin tarkasteltavien prosessien välillä olisi saatettu havaita selkeämpiä ja enemmän merkitseviä eroja.

Maahengitystä boreaalisessa mäntymetsässä tutkineet Andrews ym. (1999) totesivat, että autotrofisen ja heterotrofisen hengityksen suhde vaihtelee paitsi paikallisesti, myös kasvukauden aikana hyvin paljon. Kasvukauden sisäinen vaihtelu ositteiden suhteessa on havaittavissa myös tämän tutkimuksen aineistossa. Högberg ym. (2005b) puolestaan esittää, että tästä syystä ositteiden erottaminen toisistaan ei ole välttämättä tarkoituksenmukainen tapa niiden välisen vuorovaikutuksen tutkimiseen. Tämän tutkimuksen perusteella väite on osittain perusteltu, sillä juurettomien- ja kontrollimittauspisteiden maankosteus poikkesi toisistaan ositteet erottavan koeasetelman vuoksi kuten luvussa 4.2 kuvailtiin. Sama tapahtui Schindlbacherin ym. (2008) juurettomilla koealoilla, missä juurettomien ja kontrollialojen väliset kosteuserot olivat kuitenkin niin vähäiset, että tuloksia kyettiin vertaamaan. Ero maankosteudessa kontrolli- ja juurettomien koealojen välillä on yleinen ongelma, ja mittaus tulosten vertautuvuus tuleekin määrittää tapauskohtaisesti sen perusteella, kuinka paljon kosteusolosuhteet toisistaan poikkeavat ja voidaanko asialle tehdä jotain aineistoa analysoitaessa.

Aiemmin todettu ero juurettomien mittauspisteiden ja käsittelemättömän maaperän kosteusolosuhteissa aiheuttaa kuitenkin sen, että heterotrofisen hengityksen ympäristöolosuhteet eivät vaihdelleet yhtä voimakkaasti kuin inkuboidun autotrofisen hengityksen. Lisäksi destruktiivisen mittausmenetelmän on arvioitu aiheuttavan inkuboitavalle juurelle stressitilan, jossa se hengittää enemmän (Makita ym. 2013). Tästä syystä on mahdollista, että autotrofien hengitys on inkuboinnin aikana ollut normaalista tilastaan poikkeavaa eikä siksi vertaudu luotettavasti kammiomittausten tuloksiin.

Maastomittausten tuloksissa havaittiin hiili-13 syrjintää enemmän kuin kasvihuonekokeen tuloksissa. Maan hiilidioksidivuo, -lämpötila ja -kosteus kehittyvät kasvukaudelle ominaisesti, ja autotrofisen hengityksen  $\delta^{13}\text{C}$ -signaali on heterotrofista alhaisempi. Toisin kuin kasvihuoneella, osa maastomittauksista oli vähemmän destruktiivisia. Inkubointia vähemmän destruktiivinen kammiomittausmenetelmä vaikuttavaa tämän tutkimuksen tulosten perusteella tuottavan  $\delta^{13}\text{C}$ -signaalia paremmin kuvaavia tuloksia. Erityisesti  $\delta^{13}\text{C}$ -kaasunäytteenoton perusteella vaikuttaisikin, että kammiomittaus on inkubointia luotettavampi mittausmenetelmä isotooppien tarkastelun kannalta.  $\delta^{13}\text{C}$ -havaintoja karsiutui kammiomittausten



tuloksista huomattavasti vähemmän kammiomittausten kuin inkubointimittausten tuloksista. Yhden havaintopisteen poistaminen sovitteen parantamiseksi tehtiin inkubointimittauksissa suurelle osalle tuloksista, mutta kammiomittauksissa tätä ei tarvinnut tehdä kertaakaan. Vastaavasti vähäisempi määrä tuloksista oli mahdottomia eli  $-5\% >$  tai  $> -45\%$ . Kammiomittaustekniikan kaasunäytteenotto tuotti siis useammin laadukkaita havaintoja kuin inkuboinnin. Tästä syystä kahdella eri tekniikalla saatujen tulosten vertaaminen keskenään on ongelmallista ja tuottaa epäluotettavia johtopäätöksiä.

## 5 Johtopäätökset

Tutkimuksessa haluttiin selvittää maahengityksen eroa ositteiden muutoksessa kuivuudessa. Autotrofisen ja heterotrofisen maahengityksen mitatut hiilidioksidivuot poikkesivat toisistaan kuivuuden aikana, ja kummankin koeasetelman perusteella vaikuttaa siltä, että autotrofinen osite kykenee vastustamaan kuivuutta enemmän ja toipumaan siitä paremmin kuin heterotrofinen hengitys. Kuivuuskehitystä tarkasteltiin myös maahengityksen  $\delta^{13}\text{C}$ -signaalin perusteella. Toisessa koeasetelmassa on havaittavissa teorian mukaista hiili-13:n syrjintää, mutta kummankin koeasetelman  $\delta^{13}\text{C}$ -mittaukset tuottivat niin epävarmoja havaintoja, että johtopäätösten tekeminen niiden perusteella ei ole tarkoituksenmukaista. Sen sijaan kammiomittausmenetelmä havaittiin pussi-inkubointia luotettavammaksi menetelmäksi  $\delta^{13}\text{C}$ -näytteenottoon.

Boreaalisen metsämaan maahengityksen muutos muuttuvissa ympäristö- ja ilmasto-olosuhteissa on ilmiö, jonka kunnollinen ymmärtäminen on tärkeää ilmastotutkimuksen kannalta. Hengityksen hiili-13:n syrjintä toimii sen ositteilla eri tavoin, mutta ennen  $\delta^{13}\text{C}$ -signaalin luotettavaa tarkastelua on tärkeää hahmottaa ja mahdollisesti kontrolloida kunnolla mitattavien organismien toimintaa ohjaavia ulkoisia prosesseja. Vakuuttavien maahengityksen ja sen  $\delta^{13}\text{C}$ -signaalin käyttäytymistä kuvailevien tulosten saavuttamiseksi tarvitaankin tätä tutkimusta paljon laajempi aineisto sekä yhtenäisempi mittausprotokolla. Lisäksi tulevassa tutkimuksessa lienee tarkoituksenmukaista huomioida maahengityksen kehittyminen kasvukauden ulkopuolella alueilla, joissa lumipeitteinen aika on muuttumassa lyhyemmäksi.

## **Kiitokset**

Kiitos ohjaajalleni dosentti Liisa Kulmalalle mielenkiintoisesta ja moniulotteisesta tutkimusaiheesta sekä tinkimättömästä ja kärsivällisestä ohjauksesta.

Kiitos ohjaajalleni tohtoriopiskelija Kira Ryhdille huolellisesta ja vastaavan kärsivällisestä ohjauksesta.

Kiitos perheelleni ja erityisesti pienelle Taika-koiralle yleisesti kaikesta.

Thank you to doctor & diplom engineer Gernot Erber for the insight.

Kiitos Tuomas Yrttimäälle horisontista -et tiedäkään, kuinka paljon sinun gradusi auttoi tämän työn koostamisessa. Kiitos myös kaikille muille ystäväilleni yliopistolla -läsnäolonne tässä prosessissa on ollut korvaamatonta.

Lisäksi haluan vielä kiittää tekniikan miehiä ATK-laitteiston lainaamisesta ja the Mechanisms -yhtyettä filosofiasta.

Helsingissä maaliskuussa 2020

Sini-Selina Salko

## Lähteet

- Aaltonen, H., Lindén, A., Heinonsalo, J., Biasi, C., & Pumpanen, J. 2017. Effects of prolonged drought stress on Scots pine seedling carbon allocation. *Tree physiology*, 37(4), 418–427.
- Allen, M. 1992. *Mycorrhizal functioning: an integrative plant–fungal process*. Springer Science & Business Media.
- Andrews, J. A., Harrison, K. G., Matamala, R., & Schlesinger, W. H. 1999. Separation of root respiration from total soil respiration using carbon-13 labeling during free-air carbon dioxide enrichment (FACE). *Soil Science Society of America Journal*, 63(5), 1429–1435.
- Atkin, O. K., Edwards, E. J., & Loveys, B. R. 2000. Response of root respiration to changes in temperature and its relevance to global warming. *The New Phytologist*, 147(1), 141–154.
- AVAA. 2017 [www-sivusto]. SMEAR-asemien jatkuvatoimisten mittauksen tietokantatyökalu. <http://avaa.tdata.fi/web/smart/smear/download>. [Viitattu 9.12.2019].
- Baetz, U., & Martinoia, E. 2014. Root exudates: the hidden part of plant defense. *Trends in Plant Science*, 19(2), 90–98.
- Baldrian, P., Kolařík, M., Štursová, M., Kopecký, J., Valášková, V., Větrovský, T., Zifcakova, L., Snajdr, J., Ridl, J., Vlcek, C., & Voříšková, J. 2012. Active and total microbial communities in forest soil are largely different and highly stratified during decomposition. *The ISME journal*, 6(2), 248–258.
- Batjes, N. H. 1996. Total carbon and nitrogen in the soils of the world. *European journal of soil science*, 47(2), 151–163.
- Bergh, J., Freeman, M., Sigurdsson, B., Kellomäki, S., Laitinen, K., Niinistö, S., Peltola, H., & Linder, S. 2003. Modelling the short-term effects of climate change on the productivity of selected tree species in Nordic countries. *Forest Ecology and Management*, 183(1–3), 327–340.
- Borken, W., Xu, Y. J., Davidson, E. A., & Beese, F. 2002. Site and temporal variation of soil respiration in European beech, Norway spruce, and Scots pine forests. *Global Change Biology*, 8(12), 1205–1216.

- Buchmann, N. 2000. Biotic and abiotic factors controlling soil respiration rates in *Picea abies* stands. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(11–12), 1625–1635.
- Coplen, T. B., Böhle, J. K., De Bievre, P., Ding, T., Holden, N. E., Hopple, J. A., Krouse, H. R., Lamberty, A., Peiser, H. S., Revesz, K., Rieder, S. E., Rosman, K. J. R., Roth, E., Taylor, P. D. P., Vocke, R. D. JR. Xioa, Y. K. 2002. Isotope Abundance Variations of Selected Elements. *International Union of pure and Applied Chemistry* 74(10), 1987–2017.
- Davidson, E. A., Belk, E., & Boone, R. D. 1998. Soil water content and temperature as independent or confounded factors controlling soil respiration in a temperate mixed hardwood forest. *Global change biology*, 4(2), 217–227.
- Davis, J., Schober, A., Bahn, M., & Sveinbjörnsson, B. 1991. Soil carbon and nitrogen turnover at and below the elevational treeline in northern Fennoscandia. *Arctic and alpine research*, 23(3), 279–286.
- Dixon, R. K., Solomon, A. M., Brown, S., Houghton, R. A., Trexler, M. C., & Wisniewski, J. 1994. Carbon pools and flux of global forest ecosystems. *Science*, 263(5144), 185–190.
- Ekblad, A., Nyberg, G., & Höglberg, P. 2002. <sup>13</sup>C-discrimination during microbial respiration of added C3-, C4-and <sup>13</sup>C-labelled sugars to a C3-forest soil. *Oecologia*, 131(2), 245–249.
- Epron, D. 2009. Separating autotrophic and heterotrophic components of soil respiration: lessons learned from trenching and related root-exclusion experiments. *Julkaisussa: Kutsch, W. L., Bahn, M., Heinemeyer, A. (toim). Soil Carbon Dynamics. Cambridge University press. s.157–168.*
- FAO. 2016. *The Global Forest Resources Assessment. Food and Agriculture Organization of the United Nations.*
- Farquhar, G. D., Ehleringer, J. R., & Hubick, K. T. 1989. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual review of plant biology*, 40(1), 503–537.
- Galiano, L., Timofeeva, G., Saurer, M., Siegwolf, R., Martínez-Vilalta, J., Hommel, R., & Gessler, A. 2017. The fate of recently fixed carbon after drought release: towards unravelling C storage regulation in *Tilia platyphyllos* and *Pinus sylvestris*. *Plant, Cell & Environment*, 40(9), 1711–1724.

- Ghashghaie, J., Badeck, F. W., Lanigan, G., Nogués, S., Tcherkez, G., Deléens, E., Cornic, G., & Griffiths, H. 2003. Carbon isotope fractionation during dark respiration and photorespiration in C<sub>3</sub> plants. *Phytochemistry reviews*, 2(1–2), 145–161.
- Gregory, P. J., & Hinsinger, P. 1999. New approaches to studying chemical and physical changes in the rhizosphere: an overview. *Plant and Soil*, 211(1), 1–9.
- Hanson, P. J., Edwards, N. T., Garten, C. T., & Andrews, J. A. 2000. Separating root and soil microbial contributions to soil respiration: a review of methods and observations. *Biogeochemistry*, 48(1), 115–146.
- Hari, P., & Kulmala, M. 2005. Station for Measuring Ecosystem-Atmosphere Relations (SMEAR II). *Boreal Environment Research* 10, 315–322.
- Hiilipuu. 2019. [www-sivusto]. Mittausasema SMEAR II. Saatavissa: <http://www.hiilipuu.fi/fi/artikkelit/mittausasema-smear-ii>. [Viitattu 20.11.2019].
- Högberg, P., Nordgren, A., Buchmann, N., Taylor, A. F., Ekblad, A., Högberg, M. N., Ottosson-Löfvenius M., & Read, D. J. 2001. Large-scale forest girdling shows that current photosynthesis drives soil respiration. *Nature*, 411(6839), 789–792.
- Högberg, P., Nordgren, A., Högberg M. N., Ottosson-Löfvenius, M., Bhupinderpal-Singh, Olsson, P., Linder, S. 2005a. Fractional contributions by autotrophic and heterotrophic respiration to soil surface CO<sub>2</sub> efflux in boreal forests. Julkaisussa: Griffiths H. ja Jarvis, P. (toim.) *The carbon balance of forest biomes*, Taylor & Francis Group, 251–267.
- Högberg, P., Ekblad, A., Nordgren, A., Plamboek, A. H., Ohlsson, A., Bhupinderpal-Singh, Högberg, M. N. 2005b. Factors Determining the <sup>13</sup>C Abundance of Soil-Respired CO<sub>2</sub> in Boreal Forests. *Stable Isotopes and Biosphere - Atmosphere Interactions*, 47–68.
- Ilmatieteen laitos. 2019. [www-sivusto]. Talvien lumista ja lumisuudesta. <https://www.ilmatieteenlaitos.fi/lumitilastot>. [Viitattu 8.3.2020]
- Ilmatieteen laitos. 2020. [www-sivusto]. Vuoden keskilämpötila ja vuosisade 1981–2020. <https://www.ilmatieteenlaitos.fi/vuositilastot>. [Viitattu 6.3.2020]
- IPCC. 2014. *Future Climate Changes, Risk and Impacts*. Cambridge University Press.
- Janssens, I. A., & Pilegaard, K. I. M. 2003. Large seasonal changes in Q<sub>10</sub> of soil respiration in a beech forest. *Global Change Biology*, 9(6), 911–918.

- IUPAC. 1975. Atomic Weights of the Elements. Report of the IUPAC Commission on Atomic Weights. *Pure Applied Chemistry* 21(95).
- Jiao, Z., & Wang, X. 2019. Contrasting Rhizospheric and Heterotrophic Components of Soil Respiration during Growing and Non-Growing Seasons in a Temperate Deciduous Forest. *Forests*, 10(1), 8.
- Jones, A., Montanarella, L., & Jones, R. 2005. Soil atlas of Europe. European Commission.
- Karhu, K., Hiltunen, E., Fritze, H., Biasi, C., Nykänen, H., Liski, J., Vanhala, P., & Pumpanen, J. 2016. Priming effect increases with depth in a boreal forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 99, 104–107.
- Keeling, C. D. 1958. The concentration and isotopic abundances of atmospheric carbon dioxide in rural areas. *Geochimica et cosmochimica acta*, 13(4), 322–334.
- Kirkham, M. B. 2005. Principles of soil and plant water relations. *Annals of Botany*, 96(3), 499–500.
- Kulmala, L., Aalto, J., Helmisaari, H. S., Kouppari, K. K., Kolari, P., Korhonen, J., ... & Hari, P. 2013. Tree growth measurements at SMEAR II. In *FCoE in Physics, Chemistry, Biology and Meteorology of Atmospheric Composition and Climate Change Annual Meeting 2013*, 310–315.
- Lambers, H., Chapin, F. S., & Pons, T. L. 1998. *Plant Physiological Ecology*. Springer-Verlag, 11–99.
- Lloyd, J., & Taylor, J. A. 1994. On the temperature dependence of soil respiration. *Functional ecology*, 315–323.
- Majdi, H., & Öhrvik, J. 2004. Interactive effects of soil warming and fertilization on root production, mortality, and longevity in a Norway spruce stand in Northern Sweden. *Global Change Biology*, 10(2), 182–188.
- Makita, N., Yaku, R., Ohashi, M., Fukuda, K., Ikeno, H., & Hirano, Y. 2013. Effects of excising and washing treatments on the root respiration rates of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) seedlings. *Journal of forest research*, 18(4), 379–383.
- Mäkipää, R., Tomppo, E. 1998. Suomen metsät ovat hiilinielu – vaikka Kioton ilmastopimuksen mukaan muulta näyttää. *Metsätieteen aikakauskirja* 2(1998), 268–274.

- Mälkönen (toim). 2003. Metsämaa ja sen hoito. Metsäntutkimuslaitos, Metsälehti Kustannus, 83–85.
- O'Leary, M. H. 1988. Carbon isotopes in photosynthesis. *Bioscience*, 38(5), 328–336.
- Pan, Y., Birdsey, R. A., Fang, J., Houghton, R., Kauppi, P. E., Kurz, W. A., Ciais, P., Jackson, R. B., Pacala, S., McGuire, A. D., Piao, S., Rautiainen, A., Sitch, S. & Hayes, D. 2011. A large and persistent carbon sink in the world's forests. *Science*, 333(6045), 988–993.
- Pearcy, R. W., & Ehleringer, J. 1984. Comparative ecophysiology of C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> plants. *Plant, Cell & Environment*, 7(1), 1-13.
- Pihlatie, M., Pumpanen, J., Rinne, J., Ilvesniemi, H., Simojoki, A., Hari, P., & Vesala, T. 2007. Gas concentration driven fluxes of nitrous oxide and carbon dioxide in boreal forest soil. *Tellus B: Chemical and Physical Meteorology*, 59(3), 458-469.
- Post, W. M., Peng, T. H., Emanuel, W. R., King, A. W., Dale, V. H., & DeAngelis, D. L. 1990. The global carbon cycle. *American scientist*, 78(4), 310–326.
- Raich, J. W., & Schlesinger, W. H. 1992. The global carbon dioxide flux in soil respiration and its relationship to vegetation and climate. *Tellus B*, 44(2), 81–99.
- Rasilo, T. 2008. Maahengitys metsänrajaseudulla Itä-Lapissa. Helsingin yliopisto. Pro gradu.
- Read, D. J. 1991. Mycorrhizas in ecosystems. *Experientia*, 47(4), 376–391.
- Rodeghiero, M., Heinemeyer, A., Schrumpf, M., Bellamy, P. Determination of soil carbon stocks and changes. 2009. Julkaisussa: Kutsch, W. L., Bahn, M., Heinemeyer, A. (toim). *Soil Carbon Dynamics*. Cambridge University press, 49–75.
- Rouhier, H., Billès, G., Billès, L., & Bottner, P. 1996. Carbon fluxes in the rhizosphere of sweet chestnut seedlings (*Castanea sativa*) grown under two atmospheric CO<sub>2</sub> concentrations: <sup>14</sup>C partitioning after pulse labelling. *Plant and soil*, 180(1), 101–111.
- Sakata, T., Ishizuka, S., & Takahashi, M. 2007. Separation of soil respiration into CO<sub>2</sub> emission sources using <sup>13</sup>C natural abundance in a deciduous broad-leaved forest in Japan. *Soil science and plant nutrition*, 53(3), 328–336.



- Schindlbacher, A., Zechmeister-Boltenstern, S. & Jandl, R. 2009. Carbon losses due to soil warming: do autotrophic and heterotrophic soil respiration respond equally? *Global Change Biology*, 15(4), 901–913.
- Schindlbacher, A., Zechmeister-Boltenstern, S., Kitzler, B., & Jandl, R. 2008. Experimental forest soil warming: response of autotrophic and heterotrophic soil respiration to a short-term 10 °C temperature rise. *Plant and Soil*, 303(1–2), 323–330.
- Schlesinger, W.H. 1997. *Biogeochemistry: An analysis of global change*. Academic Press.
- Schnitzer, M., & Khan, S. U. (toim.). 1975. *Soil organic matter*. Elsevier.
- Taiz, L., Zeigler, E. 2002. *Plant Physiology*, 3<sup>rd</sup> edition. Sinauer Associates.
- Tu, K., & Dawson, T. 2005. Partitioning ecosystem respiration using stable carbon isotope analyses of CO<sub>2</sub>. *Stable Isotopes and Biosphere–Atmosphere Interactions: Processes and Biological Controls*, 125–148.
- Trumbore, S. E. 1995. Use of isotopes and tracers in the study of emission and consumption of trace gases in terrestrial environments. *Julkaisussa: Matson, P. A., Harris, R. C. 1995. Biogenic Trace Gases: Measuring Emissions from Soil and Water*, 291–396.
- Wang, W., Zeng, W., Chen, W., Yang, Y., & Zeng, H. 2013. Effects of forest age on soil autotrophic and heterotrophic respiration differ between evergreen and deciduous forests. *PloS one*, 8(11).
- Wei, W., Weile, C., & Shaopeng, W. 2010. Forest soil respiration and its heterotrophic and autotrophic components: Global patterns and responses to temperature and precipitation. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(8), 1236–1244.
- Witkamp, M. 1966. Rates of carbon dioxide evolution from the forest floor. *Ecology*, 47(3), 492–494.
- Yakir, D., & da SL Sternberg, L. 2000. The use of stable isotopes to study ecosystem gas exchange. *Oecologia*, 123(3), 297–311.
- Yin, H., Li, Y., Xiao, J., Xu, Z., Cheng, X., & Liu, Q. 2013. Enhanced root exudation stimulates soil nitrogen transformations in a subalpine coniferous forest under experimental warming. *Global Change Biology*, 19(7), 2158–2167.