

# LAKKASUON MIKROBIYHTEISÖN MÄÄRITTÄMINEN FOSFOLIPIDIRASVAHAPPOMENETELMÄLLÄ

Valentina Koudelia

Opinnäytetyö  
Toukokuu 2011

Laboratorioala  
Tekniikan ja liikenteen ala





|   |                                |  |
|---|--------------------------------|--|
| Tekijä(t)<br>Koudelia, Valentina  | Julkaisun laji<br>Opinnäytetyö | Päivämäärä<br>07.05.2011                 |
|   | Sivumäärä<br>51                | Julkaisun kieli<br>Suomi                 |
|   | Luottamuksellisuus<br>( )      | Verkkojulkaisulupa<br>myönnetty<br>( X ) |
| Työn nimi<br>LAKKASUON MIKROBIYHTEISÖN MÄÄRITTÄMINEN<br>FOSFOLIPIDIRASVAHAPPOMENETELMÄLLÄ   |                                |  |
| Koulutusohjelma<br><br>Laboratorioalan koulutusohjelma  |                                |  |
| Työn ohjaaja(t)<br><br>VÄRTÖ-NIEMI, Merja   |                                |  |
| Toimeksiantaja(t)<br><br>Metsäntutkimuslaitos, Vantaa, Helsinki, FRITZE, Hannu  |                                |  |
| Tiivistelmä<br><br><p>Tämä opinnäytetyö suoritettiin Metsäntutkimuslaitoksen tutkimuskeskuksessa Vantaalla 18.1.-15.5.2010. Työn tarkoituksena oli tutkia luonnontilaisen suon mikrobiyhteisöä. Tutkimuksessa selvitettiin ravinteisuudeltaan erilaisten suotyypin ja turvesyvyuden vaikutusta mikrobiyhteisöön ja sen koostumukseen.</p> <p>Lakkasuon eri suotyypin mikrobiyhteisön rakennetta selvitettiin fosfolipidirasvahappoanalyysin avulla (Phospholipid Fatty Acid, PLFA). PLFA-menetelmä perustuu mikrobien erilaisiin soluseinien rakenneosana olevien fosfolipidirasvahappokoostumukseen. PLFA-analyysissä turvenäytteen sisältämät lipidit kerättiin yksifaasisella uutolla. Fosfolipidit erotettiin neutraaleista lipideistä ja glykolipideistä pihappokolonnilla. Emäksisessä metanalyysissä rasvahapot irrotettiin fosfolipidirungostaja metyloitiin estereiksi. Fosfolipidien vapaat metyyliesterit mitattiin kaasukromatografian (Gas Chromatography, GC) avulla ja tunnistettiin sisäisen standardin ja retentioaikojen perusteella. PLFA-tuloksia analysoitiin pääkomponenttianalyysillä (Principal Component Analysis, PCA).</p> <p>Tutkimuksessa kaikkien turvenäytteiden PLFA-profiilit saatiin selville. Tulokset osoittavat, että suurin vaikutus mikrobiyhteisön rakenteeseen oli turpeen syvyydellä, sillä näytteiden rasvahappokoostumus vaihteli huomattavasti eri kerrosten välillä. Mikrobiyhteisön lipidikoostumus vaihteli myös vesipitoisuudeltaan ja ravinteisuudeltaan erilaisissa suotyypeissä. Suotyypin vaikutus ei kuitenkaan ollut yhteydessä ainoastaan vesipitoisuuteen ja ravinteisuuteen, vaan substraatin laatu (esim. kemialliset ominaisuudet, turpeen maatuneisuusaste) näyttää olevan tärkeä mikrobiyhteisöön vaikuttava tekijä. Tutkimus osoitti myös, että sienet reagoivat voimakkaimmin tutkittujen ympäristötekijöiden vaihteluun.</p> |                                |  |
| Avainsanat (asiasanat)<br><br>PLFA, mikrobiyhteisön rakenne, suo  |                                |  |
| Muut tiedot   |                                |  |



|   |  |  |
|---|--|--|
| Author(s)<br>KOUDELIA, Valentina  | Type of publication<br>Bachelor's Thesis | Date<br>07052011                           |
|   | Pages<br>51                              | Language<br>Finnish                        |
|   | Confidential<br>( ) Until                | Permission for web<br>publication<br>( X ) |
| Title<br>MICROBIAL COMMUNITIES IN PEATLAND LAKKASUO AS DETERMINED BY<br>PHOSPHOLIPID FATTY ACID ANALYSIS  |  |  |
| Degree Programme<br>Laboratory Sciences   |  |  |
| Tutor(s)<br>VÄRTÖ-NIEMI, Merja  |  |  |
| Assigned by<br>Finnish Forest Research Institute, Vantaa, Finland, FRITZE, Hannu  |  |  |
| Abstract<br><p>The aim of this Bachelor's thesis was to study the microbial community in peatland Lakkasuo. This study was carried out at the Vantaa Research Unit of the Finnish Forest Research Institute from January to May in 2010. The purpose of this thesis was to assess the effects of the sampling depth and peatland type on the soil microbial community structure.</p> <p>A phospholipid fatty acid (PLFA) analysis was used to characterize the microbial community structure in the peat soil. The PLFA analysis is based on the extraction of 'signature' lipid biomarkers from the microbial cell membranes. The lipids were then fractionated into different lipid classes on silicic acid columns. The phospholipid fraction was methylated and analyzed by gas chromatography (GC). Fatty acid peaks were then identified by retention times in comparison to the known internal standard. A principal component analysis (PCA) was used to analyze the PLFA data.</p> <p>PLFA-profiles for all peat samples were successfully implemented. The analysis of phospholipids revealed considerable differences in the PLFA patterns with respect to the sampling depth and the peatland types. The PCA analysis showed that the sampling depth had the strongest impact on the composition of the microbial community structure. The wetness and the nutrient status of different peatland types were also major factors affecting the PLFA distribution in Lakkasuo. The results also indicate that differences in the microbial communities follow not only the sampling depth and the wetness and nutritional conditions of peatland types but also the quality of the substrate (e.g., litter decomposition stage and chemical properties). The results also demonstrate that soil fungi are more sensitive to these factors than bacteria.</p> |  |  |
| Keywords<br>PLFA, microbial community structure, peatland   |  |  |
| Miscellaneous   |  |  |

## SISÄLTÖ

|  |    |
|--|----|
| 1 JOHDANTO .....   | 3  |
| 2 SUON OMINAISUUDET .....                                    | 4  |
| 2.1 Soiden määrä .....                                       | 4  |
| 2.2 Suon määritelmä ja käsitteitä .....                      | 5  |
| 2.3 Soiden luokittelu .....                                  | 6  |
| 2.3.1 Suotyypit .....  | 6  |
| 2.3.2 Suoyhdistymätyypit .....                               | 10 |
| 3 TURPEEN OMINAISUUDET .....                                 | 11 |
| 3.1 Turpeen määritelmä .....                                 | 11 |
| 3.2 Koostumus .....  | 11 |
| 3.3 Erityispiirteet .....                                    | 13 |
| 3.4 Maatuneisuus .....                                       | 14 |
| 4 TURPEEN MIKROBIT .....                                     | 15 |
| 4.1 Bakteerit .....  | 15 |
| 4.2 Sienet .....   | 17 |
| 4.3 Arkkieliöt .....   | 19 |
| 4.4 Mikrobien toiminta suoekosysteemissä .....               | 20 |
| 4.4.1 Orgaanisen aineen hajotus .....                        | 20 |
| 4.4.2 Mikrobien vaikutus kasviyhdyskuntaan .....             | 20 |
| 4.5 Mikrobien toimintaan vaikuttavat tekijät .....           | 22 |
| 5 FOSFOLIPIDIRASVAHAPPOANALYYSI .....                        | 24 |
| 5.1 Solukalvon fosfolipidit .....                            | 24 |
| 5.2 Rasvahapot .....   | 27 |
| 5.3 Mikrobiston karakterisointi PLFA-menetelmän avulla ..... | 28 |
| 6 AINEISTO JA MENETELMÄT .....                               | 30 |
| 6.1 Lakkasuo .....   | 30 |
| 6.2 Turvenäytteet .....                                      | 31 |
| 6.3 Menetelmät .....   | 31 |
| 6.3.1 PLFA-menetelmän kuvaus .....                           | 31 |
| 6.3.2 PLFA-menetelmän vaiheet .....                          | 32 |

|   |    |
|---|----|
| 7 TULOKSET .....  | 35 |
| 7.1 Mikrobibiomassat .....  | 35 |
| 7.2 Monimuuttuja-analyysien tulokset .....                            | 36 |
| 7.3 Virhelähteet .....  | 40 |
| 8 PÄÄTELMÄT .....   | 41 |
| LÄHTEET .....   | 43 |
| LIITTEET .....  | 47 |
| Liite 1 Rasvahappojen mooliosuudet näytteissä .....                   | 47 |
| Liite 2 Näytteiden kokonaismikrobi-, bakteri- ja sienibiomassat ..... | 51 |

## 1 JOHDANTO

Turpeen mikrobeilla on tärkeä rooli suoekosysteemin toiminnassa. Suot ovat turvetta muodostavia kosteikkoekosysteemejä, joiden rakenteen ja toiminnan perusta on turpeen muodostuminen. (Reinikainen 1980, 211 – 212.) Sienet ja happihakuiset bakteerit ovat tärkeimmät turpeen hajottajat. Muiden eliöiden merkitys hajottajina on mikrobeja selvästi pienempi. (Laine, Laiho, Tuittila & Vasander 2000, 17.) Mikrobit myös ylläpitävät ravinteiden kiertoa maaperässä. Ne hajottavat eliöihin sitoutuneen orgaanisen aineksen epäorgaaniseen muotoon ja palauttavat sen kasveille käytettäväksi. Mikrobien tiedetään myös suojaavan kasveja kasvitauteja aiheuttavilta patogeeneiltä. (Bardgett 2005, 57, 103.)

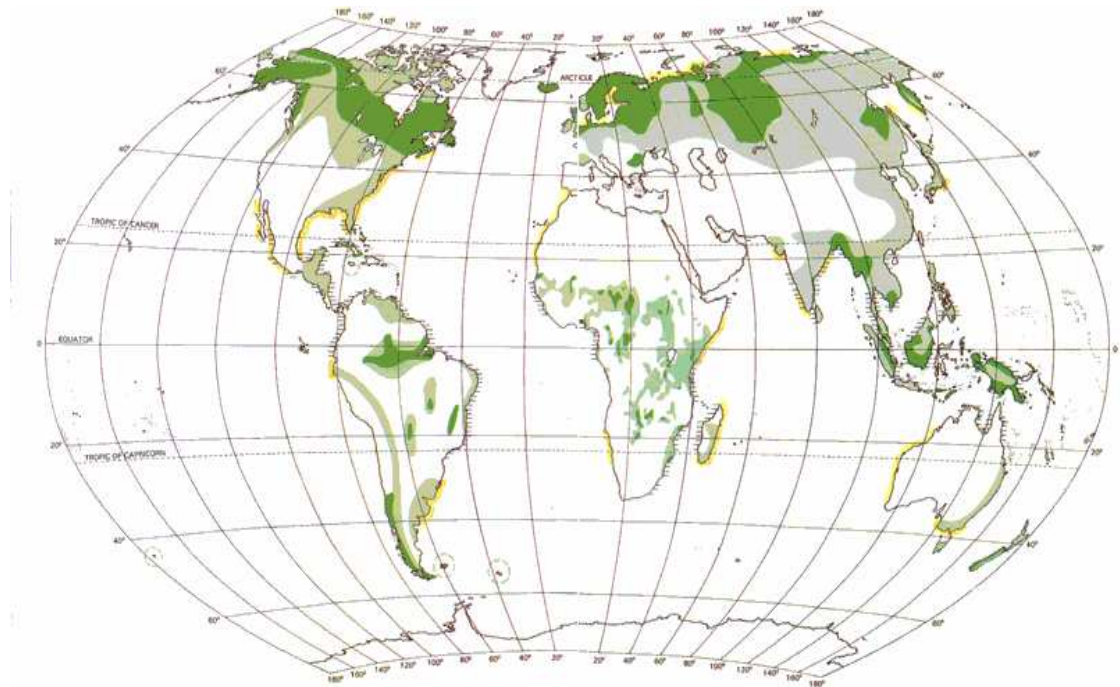
Suon mikrobiyhteisön rakennetta voidaan tutkia fosfolipidirasvahappoanalyysin (Phospholipid Fatty Acid; PLFA) avulla. Fosfolipidirasvahapot ovat moninainen joukko lipidejä, joita löytyy kaikkien elävien solujen solukalvoilta. Fosfolipidit ovat erinomaisia markkerimolekyylejä, sillä eri solutyypin ja mikrobien fosfolipidit eroavat toisistaan niiden rasvahappokoostumuksen suhteen. Erityyppisillä mikrobeilla on useimmiten juuri niille tyypillisiä fosfolipidirasvahappoja. Tutkimalla PLFA-koostumusta voidaan selvittää näytteen sienten ja bakteerien biomassat ja yhteisön rakenne. Fosfolipidit hajoavat heti solukuoleman jälkeen, eikä niitä esiinny varastotuotteina. Siten ne osoittavat ainoastaan eläviä soluja. Myös ympäristön muutokset aiheuttavat muutoksia mikrobien PLFA-koostumukseen ja yhteisön rakenteeseen. Siksi PLFA-analyysi antaa tietoa myös mikrobien reaktioista ympäristöönsä. (Pennanen 1998, 2 – 4.)

Tämän opinnäytetyön tehtävänä oli tutkia Lakkasuon mikrobiyhteisön rakennetta. Tutkimuksessa selvitettiin erityisesti suotyypin ja turvesyvyvyyden vaikutusta mikrobiyhteisöön. Määrittämis menetelmänä käytettiin fosfolipidirasvahappotekniikkaa. Opinnäytetyö toteutettiin Metsäntutkimuslaitoksen (METLA) Vantaan toimintayksikössä. Työn kokeellinen osa on suoritettu keväällä 2010.

## 2 SUON OMINAISUUDET

### 2.1 Soiden määrä

Suot peittävät noin 3 % maapallon maapinta-alasta ja niitä on noin 400 miljoonaa hehtaaria. Suoksi luettavalta alueelta edellytetään, että sillä vallitsee yhä edelleen toiminnallinen, turvetta kerryttävä suoekosysteemi. Maapallolla tavataan runsaasti soita lauhkean vyöhykkeen viileissä osissa ja borealisella havumetsävyöhykkeellä (ks. kuvio 1). Näiden alueiden ilmasto on suotuisa maaperän soistumiselle; kasviaineksen tuotos on suhteellisen runsasta, mutta viileän ilmaston johdosta kaikki tuotettu kasviainekes ei ehdi hajota. Erityisen runsaasti soita esiintyy pohjoisella pallonpuoliskolla Kanadassa Hudsoninlahden ympäristössä ja läntisen Siperian tasaisilla alueilla. Myös tropiikissa on soita; runsassoisia alueita on Amazonjoen valuma-alueella ja Kaakkois-Aasian alavilla alueilla. (Päivänen 2007, 21 – 22, 24.)



**KUVIO 1.** Soiden esiintyminen maapallolla. Tummanvihreä: suota >10 % maa-alasta; harmaa: suota 5–10 maa-ala-%; valkoinen: suota < 5 % maa-alasta; keltainen: kosteikot; vaaleanvihreä: mangrove-metsät; vaaleanvihreä katkoymyrä: saari, jossa huomattava maa-ala kosteikkoja. (Silvan 2008, 14.)

Suoaltaan Suomi on maailman kuudenneksi soisin maa. Suomessa on kaikkiaan noin 100 000 erillistä suoallasta ja soiden kokonaispinta-ala on noin 9,4 miljoonaa hehtaaria (Virtanen 2008, 21, 29). Suomen tutkituista turvevaroista rakkavaltaisia turpeita on 54 % ja saravaltaisia 45 % ja 1 % ruskosammalvaltaisia turpeita. Maatuneimmat turpeet esiintyvät Hämeessä ja Savossa. Turpeen tuhkapitoisuus on keskimäärin 3,4 % kuivapainosta ja rikkipitoisuus 0,20 % kuivapainosta. (GTK julkaisi uusimmat laskelmat Suomen turvevaroista 2010.)

## 2.2 Suon määritelmä ja käsitteitä

Suon määrittelemiseen on useita eri näkökulmia, esim. kasvitieteellinen (biologinen), ekologinen, geologinen sekä maa- ja metsätaloudellinen. Suomessa suot on aina 1900-luvun alusta alkaen määritelty kasvitieteellisesti (biologisesti) kasvupaikkana, jota vallitsee turvetta muodostava ja kerryttävä kasviyhdykskunta. Kasvitieteellisen suon määritelmän mukaisessa suossa rakkasammalet peittävät yli 75 % suon pinta-alasta turvekerroksen paksuudesta riippumatta. Ekologinen suo on määritelty kostean yleisilmaston ja/tai korkean pohjavedenpinnan tason ylläpitämäksi ekosysteemiksi, jonka hajoava orgaaninen aines ainakin osaksi kerrostuu turpeeksi. Geologisesti suo määritellään suokasvien hitaan maatumisen tuloksena syntyväksi turvekerrostumaksi, jonka minimipaksuus on 30 cm. Maataloudellisessa näkökulmassa sovelletaan lähinnä geologista suon määritelmää, sillä viljelystoimenpiteet kohdistuvat turpeesta muodostuneeseen maaperään. Metsätaloudessa suoksi määritellään sellaiset kasvupaikat, joiden kasvillisuudesta suokasveja on yli 75 %. Turvekerrokselta ei edellytetä minimipaksuutta. Turvemaita luokitellaan ojituksenkin jälkeen soiksi suokasvien vähenemisestä huolimatta. (Päivänen 2007, 16 – 18.)

Suolle tulevan veden määrä, laatu, ajoittuminen, liikkuvuus ja veden mukana tulevat ravinteet muodostavat suon ekohydrologisen systeemin, joka määrittää kasviyhdykskuntien lajikoostumuksen ja siten myös kasviaineksen kasautumisen seurauksena koko suon ja sen ekologisten toimintojen kehityksen (Päivänen 2007, 35 – 36). Ekohydrologiansa perusteella suot voidaan jakaa kahteen pääryhmään: ombrotrofisiin ja minerotrofisiin soihin. Ombrotrofiset suot eli sadevesisuot saavat vetensä ja ravinteensa vain sateen ja



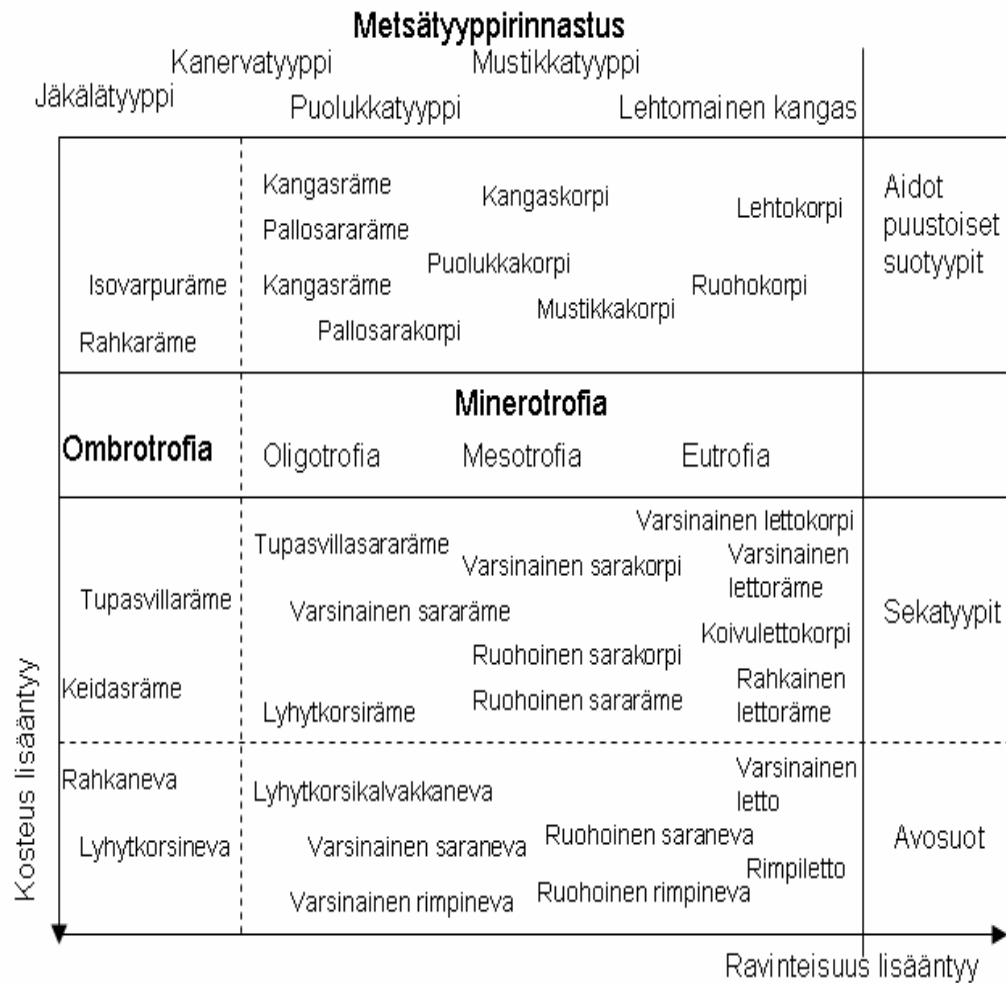
ilmalaskeman mukana. Ombrotrofisia soita luonnehtii runsas rahkasammalkasvusto, alhainen pH, joka on yleensä alle 4, niukkaravinteisuus sekä suoveden alhainen elektrolyytti- ja kalsiumpitoisuus. Ombrotrofiset olosuhteet edustavatkin äärioloja ravinteiden saatavuuden suhteen. Ombrotrofiset suot muodostavat ja tuottavat vettä pohjaveteen, vaikkakin tämän määrällinen merkitys on pieni maatuneen rahkaturpeen heikon vedenläpäisevyyden vuoksi. (Laine & Vasander 1998, 10.)

Minerotrofiset suot eli pohjavesisuot saavat vetensä ja kivennäisravinteensa sateen ja ilmalaskeman lisäksi suolle virtaavan pohjaveden mukana. Ne ovat saraturvevaltaisia. Minerotrofisten soiden pH ja ravinnemäärät ovat korkeampia ja kasvillisuus runsaampaa kuin ombrotrofisilla soilla. Suo on syntyessään yleensä minerotrofinen ja kehittyy paksuturpeiseksi ombrotrofiseksi, kun suon kasvillisuus ”kasvaa” pohjaveden ulottumattomiin, reunaosia lukuunottamatta. Minerotrofiset suot jaetaan edelleen kolmeen luokkaan kasvu-alustan ravinteisuuden eli trofiatason mukaan: oligotrofisiin eli niukkaravinteisiin, mesotrofisiin eli keskiravinteisiin ja eutrofisiin eli runsasravinteisiin soihin. (Laine & Vasander 1998, 10.)

## **2.3 Soiden luokittelu**

### **2.3.1 Suotyypit**

Nykyisin käytetty A. K. Cajanderin suotyypiluokitus on kehitetty 1900-luvun alkupuolella. Luokittelun lähtökohtena on, että ekologisesti samanlaisissa kasvuolosuhteissa (ravinteisuus, kosteus, happamuus, ilmasto jne.) muodostuu kasvien välisen kilpailun seurauksena samanlainen kasviyhdyiskunta, jonka rakenne ja lajikoostumus kuvastavat suon primäärisiä kasvupaikkatekijöitä. (Laine & Vasander 2008, 9.) Kullakin suotyypillä on sille ominainen eliölajistonsa. Näin ollen suokasveja ja niiden muodostamia kasviyhdyiskuntia voidaan käyttää suon ravinteisuuden ja vesitalouden mittareina (ks. kuvio 2). (Reinikainen 1980, 226, 234.)



**KUVIO 2. Suomessa käytetty avosoiden ja sekatyypien luokittelujärjestelmä (Silvan 2008, 10).**

Suomessa luonnontilaiset suot luokitellaan kasvillisuuden perusteella kolmeen pääryhmään: korpiin, rämeisiin ja avosoihin, joista jälkimmäiset jaetaan nevoihin ja lettoihin. Kasvitieteellisessä luokittelussa myös luhdet ja lähteet luetaan omiksi pääyhdistymätyypeikseen. Pääsuotyypit jaetaan edelleen ravinteisuuden ja kosteusolojen perusteella alaryhmiin eli suotyyppeihin. Kasvitieteellisessä luokittelussa suotyyppejä on jopa lähes sata, ja metsätaloudellisessa luokituksessa on vain hieman yli 30 suotyyppeä (ks. taulukko 1.) (Päivänen 2007, 35 – 36.)

TAULUKKO 1. Suotyypien nimet ja lyhenteet Laineen ja Vasanderin (2008) mukaan.

| SUOTYYPPI              | LYHENNE | SUOTYYPPI                | LYHENNE |
|------------------------|---------|--------------------------|---------|
| Varsinainen letto      | VL      | Varsinainen lettoräme    | VLR     |
| Rimpiletto             | RiL     | Rahkainen lettoräme      | RLR     |
| Ruohoinen saraneva     | RhSN    | Ruohoinen sararäme       | RhSR    |
| Varsinainen saraneva   | VSN     | Varsinainen sararäme     | VSR     |
| Lyhytkortinen          | LkKaN   | Tupasvillasararäme       | TSR     |
| kalvakkaneva           | LkN     | Lyhytkorsiräme           | LkR     |
| Lyhytkortinen neva     | RaN     | Tupasvillaräme           | TR      |
| Rahkaneva              | RhRiN   | Kangasaräme              | KgR     |
| Ruohoinen rimpineva    | VRiN    | Pallosararäme            | PsR     |
| Varsinainen rimpineva  | VLK     | Korpiräme                | KR      |
| Varsinainen lettokorpi | KoLK    | Vaivaiskoivuräme         | VkR     |
| Koivulettokorpi        | RhSK    | Varsinainen isovarpuinen | VIR     |
| Ruohoinen sarakorpi    | VSK     | räme                     | KeR     |
| Varsinainen sarakorpi  | LhK     | Keidasräme               | RaR     |
| Lehtokorpi             | KgK     | Rahkaräme                |         |
| Kangaskorpi            | RhK     |                          |         |
| Ruoho- ja heinäkorpi   | MK      |                          |         |
| Mustikkakorpi          | PK      |                          |         |
| Puolukkakorpi          | PsK     |                          |         |
| Pallosarakorpi         |         |                          |         |

Soiden jako luokkiin on joskus hankalaa, sillä suotyypien rajat eivät ole aina selvät.

Monia kasveja voi tavata useissa suotyypeissä samaan aikaan. Hyvänä esimerkkinä tästä on rämerahkasammal, joka viihtyy kaikenlaisilla soilla. Lisäksi monet Suomen soista ovat ns. yhdistelmätyyppejä, kuten nevarämeitä tai lettokorpiä eli suo koostuu sekä neva- että rämeosista. (Päivänen 2007, 35 – 36.)

**Korvet** ovat metsäisiä soita, joissa viihtyvät kuusi, koivu ja leppä. Korpien ja rämeiden kasvillisuus on mätäspintakasvillisuutta, mikä tarkoittaa yleensä kuivempia kasvuoloja. (Laine, Komulainen, Laiho, Minkkinen, Rasinmäki, Sallantaus, Sarkkola, Silvan, Tolonen, Tuittila, Vasander & Päivänen 2002, 48 – 49.) Korvet ovat ravinteikkaita ja ohutturpeisiä, mikä näkyy korpien kasvillisuuden rehevyytenä. Useat tuoreen kankaan kasvit tulevat hyvin toimeen korvessa, sillä kasvien juuret ulottuvat helposti kivennäis- maan ravinnepitoiseen veteen. Esimerkiksi koivut kertovat tavallista ravinteikkaammasta maaperästä. Niiden kenttäkerros muistuttaa metsäkasvillisuutta; varvuista tavataan etenkin mustikka ja puolukka, sanikkaisista puolestaan korpi- ja metsäimarre, metsä- ja

isoalvejuuri sekä metsäkorte. Korvissa esiintyy myös matalat metsäruohot, jotka sietävät varjostusta, esim. oravanmarja, metsätähti, lillukka, talvikit ja metsämitikka. (Suotyypit 2007.)

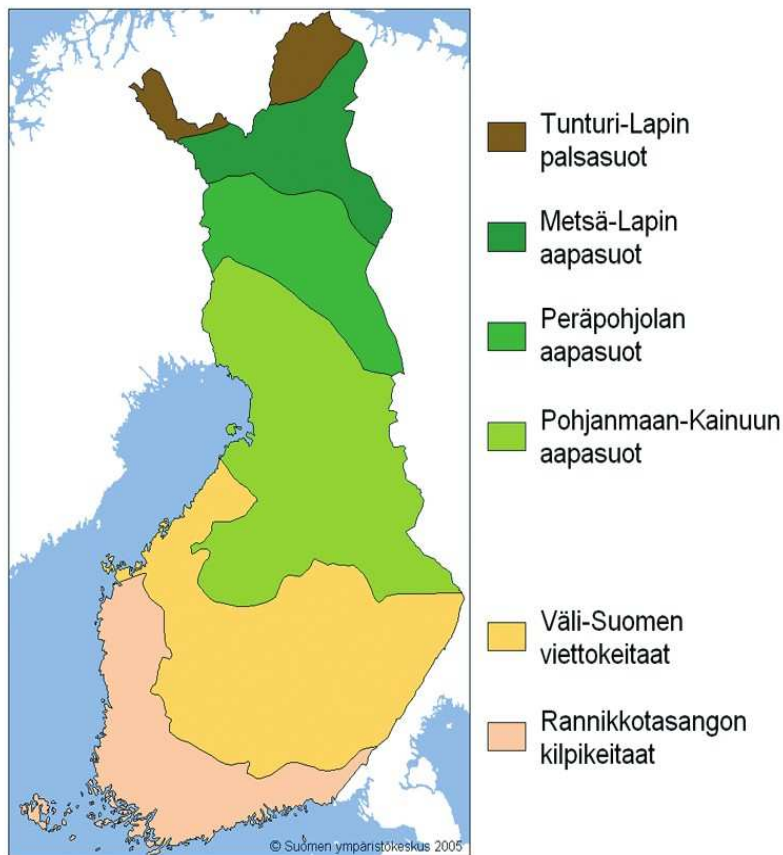
**Räme** on Suomen yleisin suotyyppi. Ne ovat karulle ja kuivalle maalle muodostuneita soita, joilla esiintyy vaihtelevissa määrin mäntyä. Rämeet ovat niukkaravinteisia ja kuivia, mutta ne ovat aina valoisia. Rämeiden karuus johtuu paksuturpeisuudesta: rahkasammal ja sen alla oleva turvekerros ovat niin paksuja, että kasvien juuret eivät ulotu suoveteen. Harvat kasvilajit viihtyvät tällaisilla paikoilla. Rämeiden sammalkerroksen muodostavat pääasiassa rahkasammalet. Luonteenomaista rämekasvillisuutta edustavat rämevarvut: suopursu, juolukka, kanerva ja vaivaiskoivu. Rämeiden karuissa oloissa kasvaminen vaatii kasveilta sopeutumista, mikä näkyy monen varvun lehdistä: lehdet ovat vahapintaiset sekä neulasmaisat ja ilmaraot sijaitsevat lehtien alapinnoilla. Myös puuston kasvu on hyvin hidasta ja puut jäävät yleensä mataliksi. (Salonen & Heinänen 2007.)

**Nevat** ovat karulle pohjalle muodostuneita märkiä avosoita. Usein nevoilla kasvaa harvakseltaan kitukasvuisia korkeintaan parin metrin korkuisia mäntyjä, koivuja ja kuusia. Nevojen turvekerros on kohtalaisen paksu, jopa useiden metrien paksuinen ja ne ovat yleensä niukka- tai keskiravinteisia. Sammalpeite muodostuu yleensä rahkasammalista. Nevakasvillisuus on joko väli- tai rimpipintaista. Märällä kasvualustalla kasvien suurin ongelma on hapen puute. Märkyttä hyvin sietävillä saroilla ja saramaisilla kasveilla on näkyvä asema nevojen kasvillisuudessa. (Salonen & Heinänen 2007.)

**Lettoja** esiintyy pääasiassa Suomen pohjoisosissa. Ne ovat harvinaisia, runsasravinteisia ja puuttomia soita, joilla voi tavata yksittäisiä harvassa kasvavia, lähinnä välipinnoille sijoittuneita, kituliaita puita. Lettojen runsas ravinteikkaus näkyy kasvijaian rehevyytenä. Sammalkerroksen muodostavat ruskosammalet ja vaateliaat rahkasammalet. Letoilta viihtyvät myös monet vaateliaat sara- ja suovillalajit sekä harvinaiset ruohot. Lettojen erottaminen nevoista voi olla etäältä tarkasteltuna vaikeaa, sillä lettojen valtalajeina ovat usein nevoillakin yleisesti kasvavat sarakasvit. Selvin erottava tekijä on eutrofiaa ilmentävät lajit, joita esiintyy osana lettokasvillisuutta. Nevoissa eutrofian kasvit puuttuvat kokonaan. (Salonen & Heinänen 2007.)

### 2.3.2 Suoyhdistymätyypit

Useimmiten suot ovat eri suotyyppien yhdistelmiä. Ekologialtaan ja morfologialtaan samankaltaiset suot luetaan kuuluvaksi samaan yhdistymätyyppiin. Yhdistymän syntyä ja kehitystä säätelee suurilmasto. Lämpö- ja kosteusilmasto on ratkaisevin ilmastotekijä, joka aiheuttaa sekä etelä-pohjoissuuntaisia että merellisyys-mantereisuussuuntaisia eroja suoyhdistymätyyppien esiintymiseen. Tämän seurauksena koko maapallolla on havaittavissa leveysasteita noudatteleva samanlaisten suoyhdistymätyyppien vyöhykkeisyys etelästä pohjoiseen: keidassuot, aapasuot ja palsasuot. Suomessa keidassoita on Etelä-Suomen alueella, maan keski- ja pohjoisosissa vallitsevat aapasuot, pohjoisimmassa Lapissa tavataan palsasoita. (Ks. kuvio 3.) (Korhola & Tolonen 1998, 22.)



**KUVIO 3. Suomen suokasvillisuusvyöhykkeet (Soiden ekologiaa ja hydrologiaa 2005).**

### 3 TURPEEN OMINAISUUDET

#### 3.1 Turpeen määritelmä

Turve on heterogeeninen orgaaninen aines, joka syntyy kasvimateriaalin hajotessa epätäydellisesti kosteissa hapettomissa olosuhteissa. Kansainvälisesti turpeeksi luokiteltavan maalajin tulee sisältää vähintään 75 % orgaanista ainesta. Turpeelle on ominaista, että siinä voidaan havaita kasvinjäännösten muodostamaa kuiturakennetta, mitä pidetään myös erotettavana tekijänä eloperäisiin vesisedimentteihin. Kasviainesta kertyy maahan kenttäkerroksen kasvillisuuden, pensas- ja puukerroksen karikkeen sekä kasvien maanalaisten osien kuollessa, sillä hapen puutteen ja runsaan veden vuoksi kasvit eivät pääse hajoamaan täydellisesti. Kuolleen biomassan lisäksi turpeessa voi olla kasvien eläviä juuria ja maaperän mikro-organismeja. (Päivänen 2007, 15.)

#### 3.2 Koostumus

Turpeen tarkkaa kemiallista rakennetta ei tunneta, mutta se koostuu suurimolekyylisistä orgaanisista yhdisteistä, kuten selluloosasta, hemiselluloosasta, ligniinistä, proteiineista, hartseista, vahoista ja erilaisista humusyhdisteistä (Reinikainen & Picken 2008, 189). Suomessa turpeiden tuhkapitoisuus on hyvin alhainen, yleensä 1 – 10 %. Valtakunnallinen tuhkapitoisuuden keskiarvo on 3,4 %. Tuhkapitoisuus kuvaa turpeessa olevien kivennäisravinteiden, tulvakerrostumien ja kemiallisten saostumien yhteismäärää. Koska turpeen tuhkapitoisuus kasvaa suon ravinnetason ja turpeen maatumisasteen kasvaessa, rahkaturpeen tuhkapitoisuus on yleensä pienempi kuin saraturpeen. Rahkaturpeen keskimääräinen tuhkapitoisuus on Suomessa 2,5 % ja saraturpeen 4 %. (Virtanen, Hänninen, Kallinen, Vartiainen, Herranen & Jokisaari 2003.)

Suomalaisessa turvemaassa eloperäisen aineksen osuus on yleensä yli 90 %, ja tästä noin puolet on hiiltä ja loput happea, vetyä ja typpeä. Lisäksi turve sisältää jonkin verran

rikkiä, joka on peräisin maatuneiden kasvien rakenneosista. Suomessa turpeen rikkipitoisuuden keskiarvo on 0,20 % turpeen kuivapainosta. Suon pohjaturpeiden rikkipitoisuus on yleensä suurempi (maakunnalliset keskiarvot 0,13 – 0,59 % kuivapainosta) kuin pinta-turpeissa (maakunnalliset keskiarvot 0,06 – 0,18 % kuivapainosta). Jos turpeen rikkipitoisuus on normaalia suurempi, se voi olla peräisin suon vaikutuspiirissä olevasta maa- tai kallioperästä tai sitä voi kulkeutua turpeeseen suon alla olevista rikkipitoisista savikerrostumista. (Virtanen ym. 2003.)

Turve sisältää myös hyvin monia eri mineraaliaineita, mutta niiden runsaussuhteet poikkeavat huomattavasti kivennäismaiden vastaavista. Esimerkiksi soiden typen määrä on usein moninkertainen kangasmetsän kivennäismaan pitoisuuteen verrattuna. Suurin osa tpeestä on orgaaniseen ainekseen sitoutuneena. Mikrobit käyttävät osittain samoja typpiyhdisteitä kuin kasvit, joten osa käyttökelpoisesta tpeestä situoutuu eläviin bakteeri- ja sienisoluihin aiheuttaen kasviyhdyskunnalle ajoittaista typenpuutetta. Lyhytikäisten mikrobien kuoltua typpi taas vapautuu kasvien käytettäväksi. (Reinikainen 1980, 221-223.)

Turpeen fosforipitoisuus on vain 0,02 – 0,2 % eli keskimäärin alempi kuin metsämaiden humuksessa, jossa fosforia on keskimäärin alle 10 %. Fosfori on turvemaalla lähes poikkeuksetta niukimmassa pääravinteiden asemassa. Fosforin kokonaismäärä on suurin ravinteikkailla neuvoilla ja korvissa ja pienin karuilla ja märillä soilla. Rehevimmillä suotyypeillä pH nousee kuitenkin liian korkeaksi (yli 5,5), ja fosfori sitoutuu liukenemattomaan muotoon raudan ja alumiinin läsnäollessa. (Reinikainen 1980, 223.)

Kalium, kalsium ja magnesium ovat tärkeimpiä kationiravinteista ja valtaosa niistä on turpeessa helppoliuokoisessa muodossa. Näitäkin on turpeessa vähemmän kuin metsähumuksessa. Erityisesti kaliumin puute on pahin märkien soiden paksuturpeisissa keski-osissa. Kalium voi miltei loppua kiihkeimmän kasvukauden aikana. Täten runsaasti tpeestä sisältävillä rimpisillä ja tyypiltään rehevillä soilla kaliumin ja fosforin niukkuus yhdessä rajoittavat voimakkaasti kasvienkin tuotantoa. Kalsiumin ja magnesiumin pitoisuudet vaihtelevat soiden ravinteisuussarjan mukaan ja niiden määrät riittävät

suokasvien tarpeisiin. (Reinikainen 1980, 224.) Soilla hivenravinteiden saanti ja teho riippuvat enemmän happamuuden ja eri ravinteiden välisistä vuorovaikutuksista turpeessa sekä pohjaveden korkeuteen liittyvistä hapetus- ja pelkistystilanteiden vaihteluista kuin pelkistä pitoisuuksista (Reinikainen 1980, 223).

### 3.3 Erityispiirteet

Turpeella on monia erityispiirteitä, jotka vaikuttavat ratkaisevasti suoekosysteemin toimintaan. Yksi tärkeimmistä on turpeen merkitys suon vesitaloudessa. Turpeella on suuri huokostila, joka on peräisin rahkasammalten rakenteiden pienistä huokosista. Heikosti maatuneella rahkaturpeella on hyvin huokoinen rakenne; kokonaishuokostilavuus on yli 90 % ja ominaispinta-ala voi olla jopa 200 m<sup>2</sup>/g. Erityisesti vaaleassa rahkaturpeessa on ehjänä säilynyt rahkasammalten ohutseinäinen ja laajaonteloinen rakenne, mikä antaa turpeelle erityisen fysikaalisen luonteen. Turpeella on erittäin hyvä vedenpidätyskyky. (Reinikainen 1980, 217 – 220.)

Turpeen huokokset täyttyvät helposti kapillarisella vedellä. Kun vesi täyttää koko huokostilan, eli kun turve on veden kyllästämää, kosteus nuosee jopa 90 – 95 prosenttiin tuorepainosta ja 1600 prosenttiin kuivapainosta. Näin ilmatilaa jää turpeessa kosteissa oloissa vähäiseksi. Turve tarjoaa siten hyvät vesiolosuhteet, mutta niukasti happea, varsinkin suon korkealla seisovassa pohjavedessä. Märillä avosoilla hapensaanti on kaikkein hankalinta; niillä hapekas kerros ulottuu keskikesälläkin vain muutaman senttimetrin syvyyteen. (Reinikainen 1980, 217 – 220.)

Turve muodostuu kasvinjäännöksistä, joten turpeen muodostanut kasvilajisto vaikuttaa olennaisesti turpeen kemiallisiin ominaisuuksiin. Turpeet luokitellaan turvelajeihin niiden kasvinjäännöskoostumuksen perusteella. (Laine & Vasander 2008, 92.) Luokittelu tehdään maastossa silmin nähtävien ja tunnistettavien kasvilajien tai lajiryhmien jäännösten, turpeen värin, liukkauden ja rakenteen perusteella. Geologisissa tutkimuksissa turpeet jaetaan kolmeen pääryhmään: rahkaturpeisiin, saraturpeisiin ja ruskosammalturpeisiin. Pääturvetekijöiden lisäksi turvekerrostumissa on usein nähtävissä muiden



kasvilajien jäännöksiä, joita kutsutaan turpeen lisätekijöiksi. Tavallisia lisätekijöitä ovat puun, varvun, tupasvillan, tupasluikan, kortteen, suoleväkön, järviruo'on ja raatteen jäänteet. (Virtanen ym. 2003.)

Turve on hapanta. Suomessa turvekerrostumien pH-aste on keskimäärin 3,5 – 5,5. Turvemäärällä painotettu valtakunnallinen pH-arvo on keskimäärin 4,3. Rahkaturpeet ovat happamampia (3,5 – 4,5) kuin saraturpeet (4,5 – 6). Turpeen pH on yleensä matalin pintaturpeessa ja kasvaa turvekerrostumassa syvemmälle mentäessä. (Virtanen ym. 2003.) Suuren vapaiden vetyionien määrän ja siten alhaisten pH-arvojen syynä ovat kasviaineksen lahoamisen tuotteina syntyvät mm. humiinihapot ja niiden suolat humaatit sekä fulvohapot. Näiden lisäksi happamuutta lisää vaihtuvien metalli-ionien väheneminen huuhtoutumisen, kasvien ravinteiden oton ja turpeeseen pidättäytymisen seurauksena. (Reinikainen 1980, 221.)

Turpeen happamuus hidastaa kasvimateriaalin hajoamista sekä vaikuttaa merkittävästi ravinteiden liukoisuuteen ja käyttökelpoisuuteen. Vaikka Suomen soiden pH-vaihteluväli on suhteellisen suotuisa mineraalien liukoisuudelle, orgaanisen aineen mineralisoitumista vaativien ravinteiden nopeaan vapautumiseen turve on liian hapanta. Lettoissa, joiden pH-lukemat ovat suuremmat, taas fosforin ja eräiden hivenaineiden saatavuus voi olla niukkaa. (Reinikainen 1980, 221.)

### **3.4 Maatuneisuus**

Turpeen syntyprosessi eli maatumisen (humifikaatio) on kemiallis-fysikaalinen prosessi, jossa kuolleet kasvisolut hajoavat ja niiden sisältämät orgaaniset yhdisteet pilkkoutuvat ja rakentuvat lopuksi osittain ns. humusaineiksi. Prosessiin liittyy yleensä mineraalisaatio, jossa osa orgaanisesta aineesta muuttuu yksinkertaisiksi epäorgaanisiksi yhdisteiksi, kuten vedeksi, hiilidioksidiksi ja anaerobisissa olosuhteissa myös metaaniksi. (Laine & Vasander 2008, 95.) Turpeen maatuessa sen hiilipitoisuus, humushappojen, fulvohappojen ja humiinien pitoisuudet kasvavat ja happipitoisuus, selluloosa-, hemiselluloosa- ja ligniinipitoisuudet pienenevät (Päivänen 2007, 49).

Turpeen maatuneisuudella tarkoitetaan maatumisprosessin tilaa tai vaihetta, joka osoittaa, kuinka suuri osa kasvirakenteesta on muuttunut tunnistamattomaksi amorfiseksi massaksi, jonka solurakenne on hajonnut (Laine & Vasander 2008, 95). Maatuneisuusaste osoittaa niitä kosteus- ja lämpöolosuhteita, jotka ovat vallinneet turpeen kerrostumisajankohtana (Virtanen ym. 2003).

Turpeen maatuneisuus voidaan määrittellä maastossa von Postin kymmenluokituksella maatumattomasta (1) täysin maatuneeseen (10). Määrittämismenetelmässä turvenäyte puristetaan kädessä ja tarkkaillaan turpeesta irtoavan nesteen väriä ja sameutta, sormien välistä puristuvan amorfisen massan määrää, puristejäännöksen kimmoisuutta ja kasvinjäännösten tunnistettavuutta. Menetelmä on laadittu maastokosteudessa oleville rahkaturpeille, eikä se sovellu yhtä hyvin muille turvelajeille. (Laine & Vasander 2008, 95.) Suomen turvekerrostumien keskimaatuneisuus on tasan H5. Maatuneimmat turvekerrostumat (keskimaatuneisuus  $H > 5,5$ ) ovat Järvi-Suomen alueella, ja heikommin maatuneimmat turpeet (keskimaatuneisuus  $H < 4,5$ ) ovat Lapissa, Pohjanmaalla ja Lounais-Suomessa. (Virtanen ym. 2003.)

## 4 TURPEEN MIKROBIT

### 4.1 Bakteerit

Maaperä sisältää huikean määrän mikrobeja. Kourallisessa maata on miljardeja yksittäisiä eliöitä. Bakteereja (*Bacteria*) on jopa  $10^7 - 10^8$  solua yhdessä grammassa maata. Bakteerilajeja tunnetaan 10000 ja suurin osa maaperässä esiintyvistä lajeista on vielä tunnistamatta. (Berkeley 1979, 135.) Bakteerit ovat hyvin pieniä. Niiden koko vaihtelee  $0,2 - 5 \mu\text{m}$ . Bakteerit ovat esitumallisia eliöitä, prokaryootteja, eli niillä ei ole tumakoteloita, vaan niiden DNA on vapaana renkaanmuotoisena molekyylinä solulimassa. Bakteereilta puuttuvat useat soluelimet, esim. mitokondriot, kloroplastit, ER ja Golgin laite. (Niemi, Virtanen & Vuorio 1995, 79.)

Muodoltaan bakteerit voivat olla pyöreitä kokkeja, sylinterimäisiä sauvoja, sauvamaisia ja kierteisiä spirillejä, pitkiä korkkiruuvimaisia spirokeettoja, käyriä vibrioita tai lyhyitä, lähes pallomaisia sauvanmuotoisia kokkobasilleja. Bakteereilla voi olla liikuntaelimiä (flagellat, pilit ja fimbriot), joiden avulla ne pystyvät liikkumaan ympäristössään, kiinnittymään toisiinsa tai isäntäsoluun ja siirtämään geneettistä materiaaliaan. (Berkeley 1979, 135, 168.)

Bakteereja jaotellaan myös niiden kasvutavan tai aineenvaihdunnan avulla. Aerobiset bakteerit elävät hapellisissa olosuhteissa ja anaerobit hapettomissa olosuhteissa. Autotrofit ovat omavaraisia bakteereja eli ne käyttävät hiililähteenä hiilidioksidia ja hankkivat energiaa joko epäorgaanisten aineiden hapettamisesta (kemoautotrofit) tai auringonvalosta (fotoautotrofit). Heterotrofit ovat toisenvaraisia eliöitä. Ne ottavat energian ja hiilen orgaanisista yhdisteistä. (Salkinoja-Salonen 1979, 101.)

Soluseinän rakenteen perusteella bakteerit jaetaan gram-positiivisiin ja gram-negatiivisiin lajeihin. Gram-negatiiveilla bakteereilla solulimaa ympäröi kaksi erillistä kelmaa, solukelmu ja ulkokelmu. Näiden kelmujen välissä on solukuoren jäykkä aines, mureiini. Gram-positiivisilla bakteereilla on vain yksi solukelmu, jota ympäröi paksumpi kuin gram-negatiivisten bakteerien mureiinikerros. Gram-positiivisten bakteerien soluseinästä mureiinia on 40 – 90 %, ja gram-negatiivisten vain 3 – 10 %. (Salkinoja-Salonen 1979, 48, 63.)

Osa maaperän bakteereista muodostaa itiöitä. Esimerkiksi *Bacillus* (aerobit grampositiivit sauvabakteerit) ja *Clostridium* (anaerobit grampositiivit sauvat) bakteerit muodostavat solunsisäisiä itiöitä, endosporeja (Salkinoja-Salonen 1979, 90). Itiöt kestävät hyvin epäedullisia ympäristöoloja, kuten kuivuutta, lämpöä ja säteilyä. Ne eivät lisäännä, eikä niillä ei ole minkäänlaista aineenvaihduntaa, mutta kun olosuhteet muuttuvat sopiviksi, itiö itää ja solu muuttuu kasvulliseksi. (Mikrobit 2006.)

Bakteerit lisääntyvät suvuttomasti jakautumalla kahtia, jolloin isäntäsolusta muodostuu kaksi tytärsolua. Tutkituin bakteeri *E.coli* voi suotuisissa oloissa jakaantua jopa kahdenkymmenen minuutin välein. Nopean lisääntymiskyvyn sekä yksinkertaisen rakenteen

ansiosta bakteerit sopeutuvat nopeasti ympäristön muutoksiin ja voivat käyttää hyväkseen lähes mitä tahansa orgaanista rakennetta. (Gobat, Aragno & Matthey, 2003, 35.)

## 4.2 Sienet

Sienet (*Fungi*) ovat kehityshistorialtaan ja ekologiaaltaan hyvin lajirikas kunta. Tähän mennessä sieniä on tunnistettu ja kuvattu noin 100 000 eri lajia, mutta suuri määrä on vielä löytämättä. (Mikrobit 2006.) Sieniä esiintyy maan kaikissa ekosysteemeissä, joissa niillä on erittäin merkittävä rooli hajottajina sekä kasvien ja eläinten symbiontteina (Rikkinen 1998, 128 – 137).

Sienet ovat aitotumallisia eliöitä. Eukaryoottisolut ovat yleensä 1000 kertaa bakteereja suurempia. Sienten koko on 2 – 10 µm, ja niitä on noin  $10^4 - 10^6$  solua yhdessä grammassa maata. Niiden runsas ja monimuotoinen kalvoista rakentuva sisäinen rakenne ja järjestys on myös kehittyneempi kuin bakteereissa (Maier & Pepper 2000, 80). Sienet ovat toisenvaraisia eliöitä, heterotrofeja, eli ne saavat tarvitsemansa energian hajottamalla kuollutta eloperäistä materiaalia tai loisimalla. Sienten kyky hyödyntää ravintoa riippuu paljolti niistä entsyymeistä, joita ne tuottavat ja erittävät ympäristöönsä. Entsyymiensä avulla sienet pilkkovat suurimolekyylisiä yhdisteitä, kuten selluloosaa, ligniiniä tai tärkkelystä, ja absorboivat vapautuvat ravinteet käyttöönsä. (Rikkinen 1998, 128 – 137.)

Sienet voivat olla rakenteeltaan rihmastollisia tai yksisoluisia, jolloin niitä nimitetään hiivoiksi. Hiivamaisen elomuodon omaavia sieniä on yhtymäsienten, kotelosienten ja kantasienten kaarissa. Rihmastolliset sienet muodostuvat putkimaisista sieniryhmistä, hyyfeistä, jotka haaroittuvat kasvualustaansa. Sienirihma kasvaa pituutta vain kärjestään ja muualta voi vain haarautua. (Rikkinen 1998, 128 – 137.)

Yksittäistä sienisolua ympäröi kitiinistä muodostuva soluseinä. Soluseinän sisällä, solulimakalvon ympäröimässä solulimassa ovat soluelimet, jotka ovat kuin muilla eläimillä ja

kasveilla. Monien sienten hyyfeissä on väliseinä ja solujen solulimat ovat yhteydessä väli-seinissä olevien aukkojen kautta. Siten monien sienten soluelimet voivat siirtyä rihman solusta toiseen ja kehitysvaiheesta riippuen kussakin hyyfin solussa voi olla yksi tai monta tumaa. (Gobat, Aragno & Matthey, 2003, 37.) Monet sienet ovat pleomorfisia eli niillä voi olla sekä rihmastollinen että hiivamainen vaihe. Esim. dimorfiset loissienet muodostavat rihmastoja isäntänsä ulkopuolella ja omaksuvat hiivamaisen elomuodon kun ne tunkeutuvat isännän sisään. (Rikkinen 1998, 128 – 137.)

Sienet lisääntyvät suvullisten ja suvuttomien itiöiden avulla. Sienten, kuten kaikkien muidenkin eliöiden, suvullisten itiöiden syntyminen jakautuu kolmeen päävaiheeseen: plasmogamiaan, karyogamiaan ja meiosisiin. Suvuttomat itiöt syntyvät kuroutumalla itiöpesäkkeistä (mitosporit) tai sienirihmojen kärjistä (konidiot). Siitä itiöt leviävät tuulen tai veden mukana uusiin ympäristöihin ja itävät. Useimmat sienet voivat lisääntyä sekä suvullisesti että suvuttomasti. Pleomorfeilla sienillä on rakenteeltaan erilaisia elomuotoja, joista toinen on suvullisesti lisääntyvä teleomorfi (meiosporinen vaihe) ja toinen suvuttomasti lisääntyvä anamorfi (mitosporinen vaihe). Erilaisten elomuotojen ansiosta pleomorfiset pystyvät vaihtamaan elinympäristöä elinkiertoensa aikana. (Rikkinen 1998, 128 – 137.)

Monet sienet ovat saprotrofeja eli lahottajia. Ne hajottavat kuollutta orgaanista ainesta ja vapauttavat kivennäisiä takaisin vesiliukoiseen muotoon kasvien käytettäväksi, siksi saprotrofit ovat merkittävässä asemassa ekosysteemien ravinteiden kierrossa ja biomassan tuotossa. Toiset sienet loisivat elävillä organismeilla. Nekrotrofiset loiset ovat patogeeneja, jotka tappavat isäntäeliön erittämillään entsyymeillä tai myrkyillä ja käyttävät tämän kuollutta solukkoa ravintonaan. Nekrotrofeja ovat esimerkiksi mesisieni ja useat käävät. Biotrofiset loiset elävät ja ottavat ravintoa elävien organismien soluista. Solun kuollessa sieni levittäytyy naapurisoluihin. Sienet muodostavat myös monenlaisia mutualistisia symbiooseja isäntäkasvin kanssa. (Rikkinen 1998, 128 – 137.)

### 4.3 Arkkieliöt

Arkkieliöt eli arkit (*Archaea*) ovat eliökunnan kolmas domeeni ja mahdollisesti vanhin. Arkkien arvellaan olevan ekologisesti tärkeä ryhmä, jolla on merkittävä rooli maapallon hiili- ja öljyvarojen muodostumisessa. Niitä esiintyy kaikkialla. Aiemmin kuviteltiin, että arkit elävät vain vaativissa elinympäristöissä, kuten hapettomissa, erittäin happamissa, kylmissä, kuumissa tai suolaisissa olosuhteissa. (Arkkieliöt 2006.) Nykyisin niiden tiedetään olevan yleisiä myös vähemmän vaativissa elinympäristöissä, esimerkiksi meressä, meren sedimenteissä, kasvien juurissa, makeissa vesissä, pohjoisten alueiden metsien maaperässä, soissa ja nisäkkäiden ruoansulatuskanavassa (Sund 2008, 8).

Arkieliöt jaotellaan kahteen pääjaksoon: *Crenarchaeota* ja *Euryarchaeota*. Suurin osa *Crenarchaeota*-edustajista on termofiilejä ja hypertermofiilejä, jotka elävät korkeissa lämpötiloissa. Myös *Euryarchaeota*-pääjaksossa on termofiilejä ja hypertermofiilejä, mutta suurin osa tämän pääjakson arkeista on äärimmäisiä halofiilejä, jotka elävät erittäin korkeissa suolapitoisuuksissa, ja metanogeneenejä, joilla on keskeinen merkitys metaanin tuottamisessa hapettomissa olosuhteissa varsinkin suo- ja vesisedimenteissä. Asidofiilit arkit, esimerkiksi *Acidianus*- ja *Sulfolobus*-sukujen edustajat, suosivat hapanta elinympäristöä. (Sund 2008, 8 – 9.)

Arkit ovat bakteerien tapaan prokaryootteja; niillä ei ole kotelon ympäröimää tumaa tai muita kalvollisia soluelimiä. Arkit muistuttavat bakteereja morfologialtaan, solurakenteeltaan ja metaboliaaltaan, mutta niiden geneettinen transkriptio ja translaatio on lähempänä eukaryootteja. Eukaryoottisten solujen tapaan arkkien perimä sisältää introni ja histoniproteiineja, joita ei esiinny bakteereilla. Genomi sijaitsee yhdessä rengasmaisessa kromosomissa ja usein myös plasmideissa. Arkit lisääntyvät suvuttomasti, esimerkiksi jakautumalla kahdeksi tai useammiksi tytärsoluiksi. (Arkkieliöt 2006.)

Solukalvon rakenne erottaa arkit muista soluista. Aitotumaisten ja bakteerien solukalvon lipidit sisältävät esterisidoksia ja suoria rasvahappoketjuja, kun taas arkkien lipideissä on eetterisidoksia ja isoprenoidiketjuja rasvahappojen paikalla. Myös arkkien soluseinässä ei

ole bakteereille tyypillistä mureiinia, vaan pseudomureiinia, metanokondroitiinia, heterosakkaridia tai glutaminyylyglykaania. Erikoiset soluseinä- ja lipidirakenteet mahdollistavat arkkien selviytymisen mitä vaativimmissa olosuhteissa. (Sund 2008, 9.)

#### 4.4 Mikrobien toiminta suoekosysteemissä

##### 4.4.1 Orgaanisen aineen hajotus

Turpeen mikrobeilla on suuri merkitys suon keskeisissä prosesseissa. Suoekosysteemin toiminnan näkyvin lopputulos on turpeen muodostuminen. Tällä ilmiöllä on keskeinen sija, joka erottaa suon muista ekosysteemeistä. (Reinikainen 1980, 211.) Turpeen muodostuminen edellyttää mikrobitoimintaa. Tärkeimmät hajottajaorganismit turpeessa ovat aerobiset bakteerit ja sienet, jotka pystyvät hajottamaan selluloosaa. Solukkojen pilkkomiseen osallistuu myös muita maaperäeläinryhmiä (ns. mesofauna): punkit (*Acari*), hyppyhäntäiset (*Collembola*), änkyrimadot (*Enchytraeidae*). Maaperäeläinten osuus hajotustoiminnassa ei ole kovin merkittävä, koska ne eivät käytä suuremmissa määrin ravinnokseen rakkasammalien selluloosaa. Niiden epäsuora vaikutus ”esihajottajina” on suurempi. Solukkojen puhtaasti kemiallinen hajoaminen on suhteellisen merkityksetöntä. (Laine ym. 2000, 15.)

Mikrobien hajotustoiminnan tehokkuus vaihtelee suuresti kasvimateriaalin laadun, paikan happipitoisuuden, happamuuden ja ravinteisuuden mukaan. Turpeen maatumisen ja ravinteiden vapautuminen on vilkkaimmillaan turpeen hapekkaissa pintaosissa, joissa noin 80 – 95 % tuotetusta kasvimassasta tulee hajotetuksi ja poistuu kaasuna ilmaan. Pääasiällisin hajotuskaasu on hiilidioksidi. (Hanski, Lindström, Niemelä, Pietiäinen & Ranta 1998, 460.) Happamien rakkaturpeiden pintaosissa sienet ovat tärkeimpiä hajottajia, koska bakteerit eivät menesty happamissa oloissa. Neutraalimmassa ja ilmavassa turpeessa (esim. korvet, turvekankaat) bakteerien hajotustoiminta korostuu. (Laine ym. 2000, 15.) Turpeen muodostumisessa ratkaisevaa on, kuinka kauan orgaaninen aines viipyy tehokkaan hajotuksen piirissä eli akrotelmassa ennen kuin päätyy syvemmälle

hapettomiin olosuhteisiin (ns. katotelmaan). Akrotelman alarajan ikä vaihtelee 50 – 200 vuoden välillä. (Hanski ym. 1998, 460.)

Suon vesitalouden erityispiirteiden seurauksena siis noin 5 – 20 % suon kasvitutannosta jää vuosien kuluessa suon happea sisältävän pintakerroksen alapuolelle eli katotelmaan. Hyvin harvat hajottajaeliöt tulevat toimeen hapettomissa olosuhteissa, siksi katotelmaan joutunut kasvimateriaali hajoaa hyvin hitaasti. Katotelman anaerobiset arkit hajottavat turpeen hiiliyhdisteitä hiilidioksidiksi ja metaaniksi. Hajotusprosessissa syntyy myös rikkivetyä, ammoniakkaa ja eräitä muita kaasuja. Kaasujen tuotto vaihtelee ajallisesti ja paikallisesti kosteudesta, lämpötilasta ja kasvillisuuden laadusta riippuen. (Hanski ym. 1998, 460.)

#### **4.4.2 Mikrobin vaikutus kasviyhdykuntaan**

Maaperän mikrobit vaikuttavat kasveihin ja siten koko ekosysteemiin. Suon eliöiden ja ympäristön vuorovaikutus on poikkeuksellisen vastavuoroista, koska eliöyhteisöt muodostavat itse omaa kasvualustansa eli turvetta. Tämä merkitsee sitä, että turpeen ekologiset tekijät ovat voimakkaampien muutosten alaisina kuin maaperän tekijät muissa ekosysteemeissä ja kasvialustan muutokset saavat välittömästi palautteen kasviyhdykunnasta, jos tässä alkaa muodostua rakenteeltaan ja ravinteisuudeltaan erilaista turvetta. (Päivänen 2007, 38.)

Hajottamalla kuollut kasvimateriaali ja vapauttamalla sen sisältämät ravinteet kasveille käyttökelpoiseen muotoon mikrobit vaikuttavat epäsuorasti kasviyhdykunnan tuottavuuteen ja rakenteeseen. Mikrobit vaikuttavat myös suoraan kasviyhdykuntaan kasvien juuria hyödyntävien organismien toiminnan kautta. Juuripatogeenit vaikuttavat suoraan ja negatiivisesti isäntäkasvin kasvuun ja selviytymiseen. Mykorritsa taas on yksi esimerkki positiivisesta suorasta palautteesta. (Bardgett 2005, 103.) Noin 80 % maakasveista on kasvin ja sienirihmaston muodostama sienijuuri eli mykorritsa. Mykorritsasienet kuljettavat maasta kasville vettä ja kivennäisaineita ja saavat vastineeksi kasvin syntetisoimia hiilihydraatteja. Mykorritsa tehostaa kasvin ravinteiden, etenkin fosforin, ja veden saantia.



Lisäksi sienijuuren tiedetään suojaavan isäntäkasvia patogeeneiltä ja kasvinsyöjiltä, mikä parantaa kasvin tuottavuutta. Mykorrhitsan merkitys korostuu varsinkin niukkaravinteisilla kasvupaikoilla. Räreillä, jotka edustavat äärimmäisen karuja olosuhteita, mykorrhitsa on männyn menestymisen edellytys. (Setälä 2005.)

Turpeen mikrobeilla tiedetään olevan myös ns. antiseptisiä ominaisuuksia. Turpeen hajoamisprosessin tuotteina syntyneillä biokemiallisilla yhdisteillä tiedetään olevan kasvien ja eläinten kasvua edistäviä vaikutuksia. (Reinikainen & Picken 2008, 190.)

#### **4.5 Mikrobien toimintaan vaikuttavat tekijät**

Mikrobien toimintaa maaperässä säätelevät varsin monet tekijät: ravinteet, lämpö, kosteus, happi, happamuus ja kasvillisuus. Mikrobien toiminta estyy tai hidastuu, jos jokin tekijöistä puuttuu tai poikkeaa normaaliarvosta. (Campbell, Berkeley, Linton & Madelin 1979, 246.)

Mikrobit tarvitsevat ravintoaineita kasvuunsa. Tärkeimmät ravinteista ovat hiili ja typpi, sillä tyypillisen bakteerisolun kuivapainosta noin 50 % on hiiltä ja 12 % typpeä. Muita tärkeitä makroravinteita ovat P, S, K, Mg, Ca, Na ja Fe. (Mikrobit 2006.)

Maaperän happipitoisuus ja kosteus ovat erittäin tärkeitä mikrobien aktiivisuuteen vaikuttavia tekijöitä. Keskipäivän aikana maa on usein liian kuivaa ja mikrobit eivät saa riittävästi ravinteita ja orgaanisia yhdisteitä, minkä takia ne pysyvät pitkiä aikoja passiivisina itiömuodoissa. Rankat sateet taas heikentävät maan happitilannetta. (Nuutinen & Palojärvi 2002, 25 – 26.) Tavallisimmat maaperän bakteerit ja sienet ovat happea tarvitsevia eli aerobeja. Eräät mikrobit, kuten Methanobacterium-suvun arkit, kasvavat ja elävät vain hapettomissa olosuhteissa. Osa bakteereista taas on fakultatiivisesti anaerobeja eli ne pystyvät lisääntymään sekä happipitoisessa että hapettomassa ympäristössä. (Mikrobit 2006.)

Useimmat mikrobit viihtyvät neutraalissa maaperässä, jonka pH on 6,6 – 7,5 alueella. Sienet kestävät happamia elinoloja paremmin kuin bakteerit, sillä sienet pystyvät tuottamaan ja erittämään entsyymejä, jotka pilkkovat kasvikaarikkeen ravinteet rihmastoon helposti imeytyvään muotoon. (Nuutinen & Palojarvi 2002, 25 – 26.)

Myös lämpötila vaikuttaa mikrobien aktiivisuuteen. Kullakin mikrobilla on oma optimilämpötilansa, jossa kasvu ja lisääntyminen ovat nopeinta. Maaperän mikrobit ovat yleensä aktiivisimmillaan, kun maan lämpötila on kahdenkymmenen asteen tienoilla. Aktiivisuus alenee lämpötilan laskiessa ja lähes pysähtyy nollassa asteessa. (Nuutinen & Palojarvi 2002, 25 – 26.)

Myös kasvillisuuden tiedetään säätelevän maaperäeliöstön rakennetta ja aktiivisuutta. Kasvit määräävät ravintoverkon toimintaa kasvijäännösten ja juurieritteiden kautta. Kasvijäännösten sisältämät ravinteet vaikuttavat maaperän ravintoverkkoon pitkäaikaisesti ja laaja-alaisesti, kun taas juurieritteiden vaikutus on lyhytaikaista ja rajoittuu juurten välittömään läheisyyteen eli ritsosfääriin. Kasvit toimivat myös isäntänä monille maaperän organismeille, esimerkiksi kasvinsyöjille, patogeeneille ja symbiooteille. (Bardgett 2005, 86 – 87.)

Koska kasvilajit eroavat paljon ekologisilta ominaisuuksiltaan, ne tuottavat laadultaan ja määrältään erilaisia resursseja, joita mikrobit käyttävät ravintonaan. Siten eri kasvilajit edistävät tiettyjen mikrobien valikoitumisen paikalle ja muokkaavat mikrobiyhteisön koostumusta sekä säätelevät sen toimintaa. (Bardgett 2005, 86 – 87.) Esimerkiksi kanerva ja variksenmarja tuottavat vaikeasti hajoavaa tanniinipitoista kariketta, joka hidastaa typen mineralisaatiota ja stimuloi hajottajasieniin pohjautuvan ravintoverkon kasvua. Monet heinät ja ruohot taas edistävät bakteerien ja bakteerinsyöjien kasvua, sillä ne tuottavat helposti hajoavaa kariketta. (Setälä 2005.)

Mikrobeja on käytännössä kaikkialla, mutta ne esiintyvät maaperässä runsaimpina siellä, missä elinolosuhteet ovat niille suotuisat. Kasvien juuristovyöhykkeessä (ritsosfäärissä) mikrobien määrä onkin suurin. Pintakerroksissa on hyvä hapen saatavuus ja ravinnoksi sopivaa

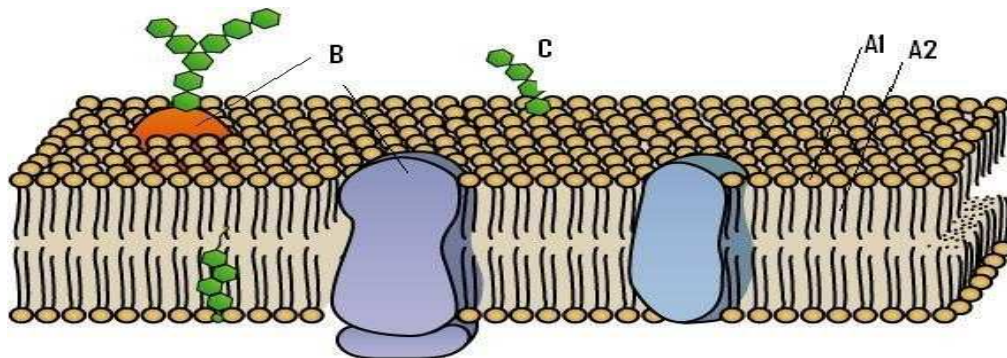
kasviainesta on eniten. Mikrobin määrä laskee syvemmälle mentäessä, turpeen muuttuessa hapettomaksi, anaerobiseksi. (Nuutinen & Palojärvi 2002, 25 – 26.)

## 5 FOSFOLIPIDIRASVAHAPPOANALYYSI

### 5.1 Solukalvon fosfolipidit

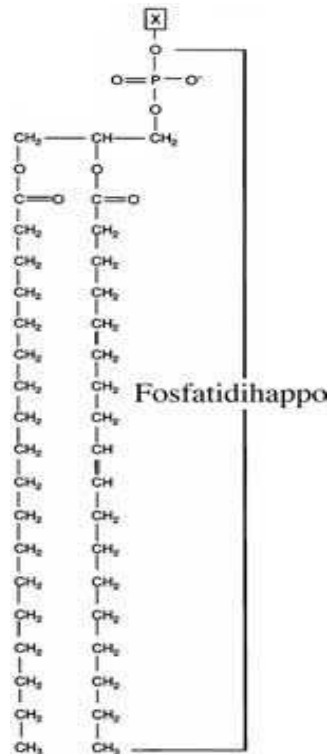
Kaikkilla nykyään tunnetuilla pro- ja eukaryooteilla on solukalvo eli plasmamembraani. Solukalvo ympäröi solua, erottaa solun sisällön ympäristöstä, osallistuu ravintoaineiden ja muiden solulle hyödyllisten aineiden keräämiseen solun sisään sekä kuona-aineiden poistamiseen. Se myös vastaanottaa kemiallisten viestimolekyylien (hormonit, hermoston välittäjäaineet, kasvutekijät) tuomaa informaatiota, mikä saa aikaan muutoksia solun aineenvaihdunnassa. (Heino & Vuento 2010, 36 – 39.)

Solukalvo rakentuu lipidien muodostamasta kaksoiskerroksesta. (Ks. kuvio 4.) Solukalvossa on myös upotettuna kolesterolia ja suuri määrä erilaisia proteiineja, kuten reseptoreja, joiden avulla solu kiinnittyy toisiin soluihin ja tyvikalvoon sekä solun sisäiseen tukirankaan. Monissa solukalvon proteiineista on myös kiinnittyneenä sokeriketjuja. Solukalvo muodostuu 55 – 60 % proteiineista, 35 – 40 % lipideistä ja 5 % hiilihydraateista. Kalvorakenteen pitävät paikallaan ei-kovalentit voimat, joten se on mekaanisesti joustava. (Solukalvo 2006.)



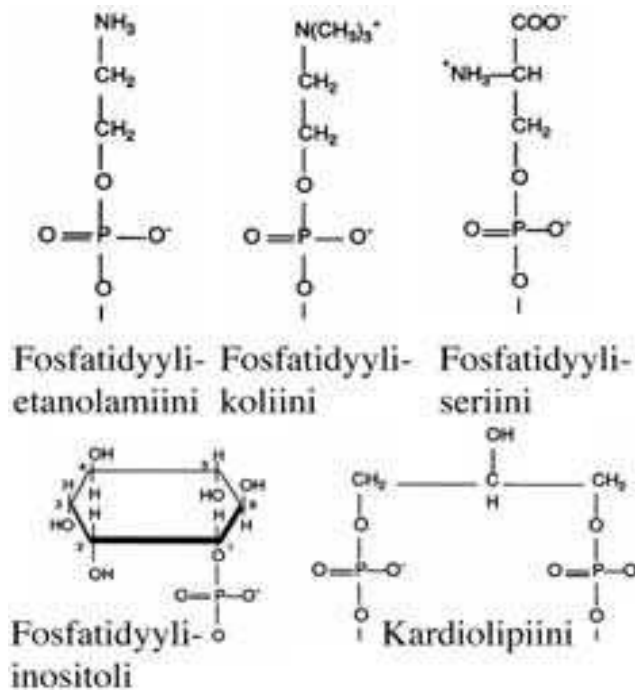
**KUVIO 4.** Solukalvon kaksoislipidikerros. Solukalvo rakentuu fosfolipidien kaksoiskerroksesta. Fosfolipidin hydrofiiliset fosfaattipäät suuntautuvat ulospäin (A1) ja hydrofobiset päät sisäänpäin (A2). Kalvoproteiinit (B) ovat joko uponneina solukalvoon tai ne ulottuvat kalvon läpi (esim. proteiinkanavat). Hiilihydraattimolekyylit (C) kiinnittyvät joko kalvoproteiineihin tai lipidien fosfaattipäähän. (Solukalvo eli plasmamembraani.)

Suurin osa solukalvon lipideistä on fosfolipidirasvahappoja. Fosfolipidit ovat amfipaattisia lipidejä eli niissä on sekä hydrofiilinen että hydrofobinen osa. Fosfolipidien kanta- muodossa fosfatidaatissa glyserolin kolmesta hydroksyyli-ryhmästä kaksi on esteröitynyt pitkäketjuisen rasvahapon kanssa ja kolmas fosforihapon kanssa. (Ks. kuvio 5.) (Heino & Vuento 2010, 36 – 39.)



**KUVIO 5. Fosfolipidit ovat lipidejä, joissa glyserolin yhteen hydroksyyli-ryhmään on sitoutunut fosfaattiryhmä. Pelkkä fosfaatin sisältävä perusrakenne on nimeltään fosfatidihappo. Fosfatidihapon toiseen päähän X-kohtaan voi liittyä monenlaisia sivuketjuja. (Fosfolipidit 2006.)**

Fosfaattiryhmään on liittynyt vielä polaarinen ryhmä, joka voi olla esim. koliini (fosfatidyylikoliinissa eli lesitiinissä), etanoliamiini (fosfatidyylietanoliamiinissa) tai inositoli-niminen sokerialkoholi (fosfatidyyli-inositolissa). Fosfolipidien sivuketjujen rakenne on esitetty kuviossa 6. Toinen rasvahapoista, joka on kauimpana polaarisesta päästä, on yleensä tyydyttynyt, toinen sisältää kaksoissidoksen. (Heino & Vuento 2010, 36 – 39.) Solukalvon fosfolipidit pyörivät jatkuvasti rasvahappoketjujen muodostaman akselin suunnassa ja yksittäiset fosfolipidit voivat helposti liikkua solukalvon suunnassa sekä vaihtaa paikkaa naapureiden kanssa (Solukalvon lipidit 2006).



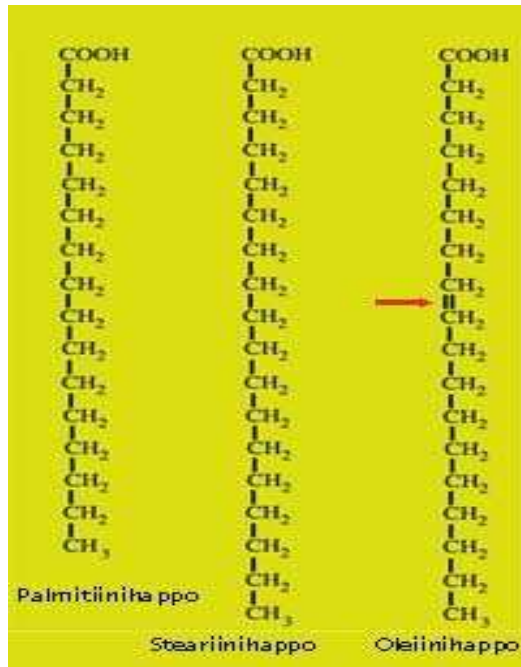
**KUVIO 6. Sivuketjun rakenne ja muodostuvan fosfolipidin nimi (Fosfolipidit 2006).**

Fosfolipidit muodostavat vesiliuoksissa kaksoiskerroksia ja misellejä. Lipidimolekyylien hydrofiiliset, polaariset päät muodostavat sidoksia vesimolekyylien kanssa, kun taas hydrofobiset päät pyrkivät vedeltä pakoon ja lyöttäytyvät yhteen. Misellit ovat rasvapalloja, joissa lipidien hydrofobiset päät ovat sisällä ja hydrofiiliset päät pinnalla. Kaksoiskerroksessa on kaksi amfipaattista lipidikerrosta, joissa rasvamolekyylien hydrofobiset pää on vastakkain kaksoiskalvon keskustassa ja hydrofiiliset päät kaksoiskalvon pinnalla molemmiin puolin. (Heino & Vuento 2010, 36 – 39.)

Fosfolipidimolekyylien rooli solukalvoissa ei rajoitu toimimiseen rakennetekijänä. Arakidonihappoa sisältävät fosfolipidit toimivat solukalvon sisemmällä osalla varastona ja arakidonihappo toimii eikosanoidilipidien synteessin raaka-aineena sytoplasmassa. Fosfatidyyli-inositolin fosforyloidut johdannaiset osallistuvat viestintävälitysjärjestelmiin. (Heino & Vuento 2010, 161.)

## 5.2 Rasvahapot

Rasvahapot ovat pitkäketjuisia monokarboxylyhappoja. Häntäosan hiiliatomien määrä on tavallisimmin parillinen luku 14:n ja 22:n välillä. Rasvahapot voivat olla tyydyttyneitä tai sisältää yhden tai useampia kaksoissidoksia. (Ks. kuvio 7.) Luonnon rasvahapot ovat heikkoja happoja. Vain pieni osa niistä esiintyy vapaina soluissa ja kudoksissa. Ne muodostavat rasvoja esteröityessä glyserolin kanssa ja vahoja alkoholin kanssa. Eläimistä, kasveista ja mikrobeista on eristetty yli 100 erilaista rasvahappoa. (Rasvahapot 2006.)

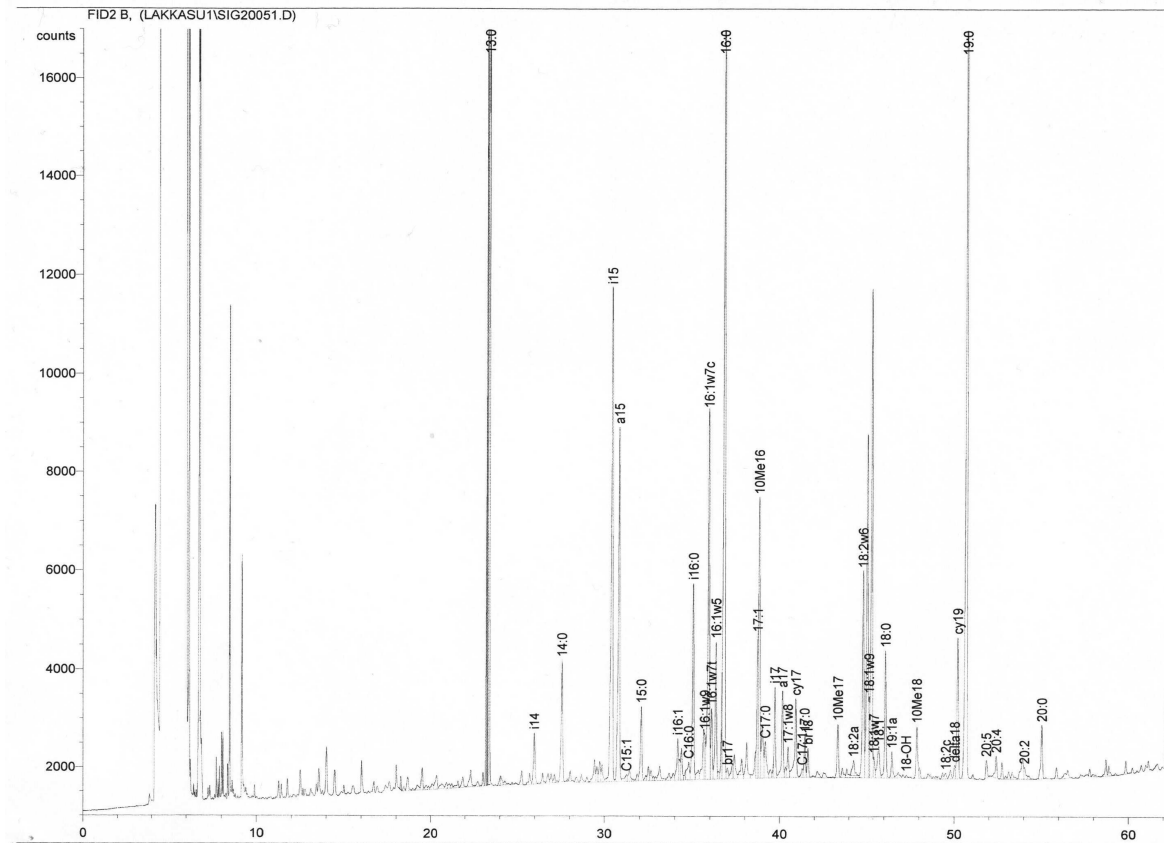


**KUVIO 7.** Esimerkkejä muutamista yleisimmistä rasvahapoista. Oleiinihappo C18:1 on kertytydyttymätön rasvahappo kaksoissidoksensa johdosta. Se on elollisen luonnon yleisin rasvahappo. (Rasvahapot 2006.)

Rasvahapot merkitään seuraavan kaavan mukaan: A:B $\omega$ C, jossa A on hiilien lukumäärä ketjussa, B on kaksoisidosten lukumäärä,  $\omega$  viittaa rasvahapon tyydyttymättömyyteen, C on kaksoisidoksen paikka hiiliketjussa metyyliipäästä lukien. Etuliite “cy” osoittaa syklopropanirasvahappoa. Etuliitteet “i” ja “a” tarkoittavat isometrylihaaraa (haaroittuu metyyliipään toisesta hiilestä) ja anteiso-haarautuneita (haaroittuu metyyliipään kolmannesta hiilestä) rasvahappoja. Etuliitteellä “br” ilmoitetaan että, metyylihaara on tuntemattomalla paikalla, kun taas “Me” osoittaa metyylihaaran paikan karboxyylipäästä lukien. Loppuliitteellä “c” merkitään molekyylin *cis*-muoto (kaksoissidoksiin kiinnittyneiden hiiliatomien vedyt ovat samalla puolella) ja “t”:llä *trans*-muoto (hiiliatomien kaksoisidosten vetyatomit ovat eri puolella). (Paul & Clark 1996, 48.)

### 5.3 Mikrobiston karakterisointi PLFA-analyysin avulla

Fosfolipidirasvahapot (Phospholipid Fatty Acid; PLFA) ovat erinomaisia markkerimolekyylejä. Niitä esiintyy kaikkien elävien solujen membraaneilla. Eri solutyypeillä (aitotumalliset ja alkeistumalliset) on useimmiten juuri niille ominaisia fosfolipidirasvahappoja. PLFA-määritys antaa tietoa esim. maan sienten ja bakteerien biomassojen suhteesta. Menetelmä ei sovellu arkkien PLFA-koostumuksen määrittämiseen, sillä niiden solukalvon lipidit sisältävät polaarisia eetterisidoksia esterisidosten sijasta. Myös erityyppisillä mikrobeilla on yleensä erilainen PLFA-koostumus, joten analysoimalla PLFA-profiilia (kuvio 8) voidaan selvittää näytteen mikrobiyhteisön rakennetta. (Pennanen 1998, 2–3.) Esimerkiksi aktinomykeeteillä on usein metyylihaara kymmenessä hiilessä hiiliketjun karboksyyli päästä lukien. Sienispesifinen rasvahappo 18:2 $\omega$ 6 löytyy 47 maaperän sienilajista ja sen osuus sienten kokonaisrasvahappomäärästä on 43 %. (Paul & Clark 1996, 48.) Paritonhiiliset, iso- ja anteisohaarautuneet rasvahapot (esim. a15:0, i16:0, a17:0) viittaavat gram-positiivisiin bakteereihin, kun taas parillisen määrän hiiliatomeja omaavat, suoraketjuiset ja syklopropyyli rasvahapot viittaavat gram-negatiivisiin bakteereihin. Tyydyttymättömät rasvahapot indikoivat yleensä anaerobeja bakteereja. (Peltoniemi 2010, 21.)



**KUVIO 8. Turvenäytteen PLFA-profiili.**

Mikrobibiomassojen ja yhteisörakenteen lisäksi fosfolipidit kertovat myös solujen fysiologisesta tilasta. Fosfolipidit hajoavat heti solun kuoleman jälkeen, eikä niitä esiinny varastotuotteina. Tämän johdosta ne osoittavat ainoastaan eläviä soluja. Solun kuollessa fosfolipidit hajoavat diglyserideiksi. Näytteen sisältämien diglyseridi- ja fosfolipidi-rasvahappojen suhteen perusteella saadaan arvio elävien ja kuolleiden solujen suhteesta. (Pennanen 1998, 3 – 4.)

Myös ympäristön muutokset vaikuttavat solujen lipidikoostumukseen ja yhteisön rakenteeseen. Tutkimalla rasvahappokoostumuksessa tapahtuvia muutoksia voidaan mikrobien reaktiota ympäristön muutoksiin. Esim. syklopropyyli- ja kertatydyttymättömien rasvahappojen suhteen kasvu, trans- ja cis-isomeerimuotojen suhde kertatydyttymättömissä rasvahapoissa tai tyydyttyneiden ja tyydyttymättömien rasvahappojen suhde indikoivat bakteerien nälkiintymistä tai stressireaktioita. (Pennanen 1998, 3 – 4.)



## 6 TUTKIMUKSEN AINEISTO JA MENETELMÄT

### 6.1 Lakkasuo

Lakkasuo sijaitsee Oriveden kunnassa, Oriveden – Ruoveden kantatien nro 66 itäpuolella, noin 18 km Orivedeltä pohjoiseen. Lakkasuo on suoyhdistymänä tyypillinen viettokeidas. Suon keskiosa on ombrotrofinen, eli se saa vettä vain sateesta ja kuivalaskeumasta. Suon ojittamattomasta osasta 56 % on ombrotrofista. Loput suoalasta on minerotrofista ja saa ravinteita ja vettä ulkopuoliselta valuma-alueelta. Koko suoalasta ojitusalueet mukaan lukien yli puolet on minerotrofista suota. Minerotrofisen suoalan vesilähteenä on Vahti-harjun/ Konilammenkankaan pohjavesi, joka valuttaa vesiä tihkuina ja lähteinä tasaisesti yli koko vuoden suon pohjoisosille. Lakkasuon keskimääräinen vuotuinen lämpösumma ( $\geq +5\text{C}$ ) on 1160 d.d. ja sademäärä 709 mm. Noin kolmannes sademäärästä tulee lumena. Tammikuun ja heinäkuun keskilämpötilat ovat  $-8,9\text{ }^{\circ}\text{C}$  ja  $+15,3\text{ }^{\circ}\text{C}$ . (Laine ym. 2002, 7, 17.)

Alueelle perustettiin retkeilyreitti opetus- ja tutkimustarkoituksia varten vuosina 1961-1963 Helsingin yliopiston silloisen suomensätieteen laitoksen toimesta. Retkeilyreitin varrella on 24 suotyyppinäytealaa, jotka edustavat jokseenkin kaikkia eteläisessä Suomessa yleisinä esiintyviä suotyypppejä. (Laine ym. 2002, 7.)

Retkeilyreitin suoalueet rauhoitettiin v. 1963 luonnonsuojelulain nojalla tutkimus- ja opetustarkoituksia varten. Lakkasuon näytealaverkostoa ja siitä kertynyttä tietoa onkin käytetty jo vuosikymmenien ajan suokasvillisuuden luokittelun opetukseen ja suosta on julkaistu jo neljä maasto-opasta. Lakkasuo on säilynyt eteläsuomalaiseksi suoksi poikkeuksellisen luonnontilaisena. Suon luontaista kehitystä ja turpeen kerääntymistä ovat kuitenkin häirinneet mm. metsäpalot ja ihmistoiminta. Lakkasuon länsiosa ojitettiin vuonna 1961. Reunaoja kulkee eteläpohjoissuunnassa suon keskellä. Siten Lakkasuolla ja sen ympäristössä voi tutkia sekä luonnontilaisen suon kasvillisuutta sekä metsäojituksen vaikutuksia suoekosysteemiin. (Laine ym. 2002, 7, 9, 22, 83.)

## 6.2 Turvenäytteet

Opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää suotyyppien ja turvesyvyiden vaikutuksia mikrobiyhteisöön fosfolipidirasvahappomenetelmän avulla. Tutkimuksen aineisto kerättiin Lakkasuon luonnontilaiselta alueelta syyskuussa 2009. Koejärjestelyssä näytepisteitä oli 40 erilaista, 10:tä suotyyppiä kohden 4 koealaa. Aineistossa esiintyvät seuraavat suotyyppit: varsinainen saraneva VSN, ruoho- ja heinäkorpi RhK, mustikkakorpi MK, varsinainen sararäme VSR, korpiräme KR, rahkaräme RaR, isovarpuinen räme IR, ruohoinen saraneva RhSN, ruohoinen sarakorpi RhSK, lyhytkortinen neva LkN. Jokaisella näytepisteellä pinnasta otettiin turvenäyte 20 cm:n syvyyteen asti kahtena osanäytteenä: 0 – 10 cm ja 10 – 20 cm. Turvenäytteet otettiin laatikkokairalla, jonka mitat olivat 60x60 mm. Yhteensä turvenäytteitä oli 80 kappaletta. Näytteet säilytettiin pienissä pakas- tepusseissa pakastimessa – 20 °C:n lämpötilassa.

## 6.3 Menetelmät

### 6.3.1 PLFA-menetelmän kuvaus

PLFA-analyysi perustuu Frostegårdin (1993) menetelmään, jossa ensimmäisessä vaiheessa kaikki turvenäytteen sisältämät lipidit kerätään yksifaasisella uutolla. Mikrobisolujen soluseinän lipidit erotellaan kiinteäfaasikromatografian avulla polaarisuuden mukaan eri fraktioihin: neutraalit lipidit (vapaat rasvahapot, sterolit), glykolipidit (ja PHA) sekä polaariset lipidit (fosfolipidit). Emäksisessä metanolyysissä rasvahapot irrotetaan fosfolipidirungosta ja metyloidaan estereiksi. Rakenteeltaan erilaiset fosfolipidien metyyliesterit erotetaan toisistaan ja rasvahappojen suhteelliset määrät määritetään kaasukromatografian avulla.

PLFA-työssä kiinnitettiin erityistä huomiota kemikaalien ja astioiden puhtauteen. Kaikki työssä tarvittavat reagenssit, astiat, punnituslusikat ym. oli varattu ja merkitty erikseen tätä työtä varten. Kontaminaatiota, astioiden puhtautta ja reagenssien mahdollisia virhelähteitä mitattiin nollakontrollien avulla. Nollakontrollit sisälsivät samat reagenssit kuin näytteetkin, mutta ei turvenäytettä, ja niille tehtiin sama käsittely. Kaasukromatografian

toimintaa testattiin ajamalla heksaania ennen jokaista ajoa sekä kerran kaupallista kontrollinäytettä SIGMA-ALDRICH, 47080-U: [Bacterial Acid Methyl Ester (BAME) Mix; 10 mg/ml metyylikaproaattissa], käyttöläimennöksena oli 200 µl/ml heksaanissa.

### 6.3.2 PLFA-menetelmän vaiheet

#### Lipidien eristäminen

Tuoretta turvenäytettä punnittiin 1,5 – 2,0 g 30 ml:n koeputkiin. Putkiin lisättiin vastatehtyä sitraattipuskuria (0,15 M; pH 4,0) niin, että maassa olevan veden ja puskurin määrä oli yhteensä 1,5 ml. Tämän jälkeen putkiin lisättiin 1,9 ml kloroformia, 3,75 ml metanolia ja 2 ml Bligh & Dyer -liuosta (kloroformi:metanoli:sitraattipuskuri 1:2:0,8 v/v/v). Näytteet sekoitettiin tasoravistelijalla ja niiden annettiin uuttua yön yli +5 °C:ssa.

Näytteet sekoitettiin Vortexilla ja sentrifugoitiin 10 minuuttia 2500 rpm. Supernatantti siirrettiin uuteen 30 ml:n koeputkeen. Maapelletti pestiin 2,5 ml:lla Bligh & Dyeriä, vorteksoitiin ja sentrifugoitiin uudelleen, minkä jälkeen supernatantit yhdistettiin. Uutoksiin lisättiin 3,1 ml kloroformia ja 3,1 ml sitraattipuskuria. Uutoksia sekoitettiin ensin tasoravistelijalla 30 minuuttia 300 rpm, sitten vorteksoitiin. Putket jätettiin seisomaan yön yli +5 °C, jotta faasit erottuisivat.

Seuraavana päivänä alempana oleva lipidifaasi (2,0 – 2,5 ml) siirrettiin uuteen 10 ml:n kierrekorkilliseen koeputkeen. Tämän jälkeen lipidifaasin liuotin haihdutettiin tyhällä lämmittäen putkia +50 °C:seen. Näytteet säilytettiin -20 °C:ssa. Jos näytteitä säilytettiin pidempään kuin muutaman päivän ajan, niitä ei haihdutettu heti vaan jätettiin nestemäisenä -20 °C:een.

#### Lipidien fraktiointi

Näyte liuotettiin 100 µl:aan kloroformia ja siirrettiin fraktiointikolonnein lasikapillaarin avulla, jossa oli 0,5 g piihappoa. Piihappo (Unisil 100 – 200 mesh) oli aktivoitu 120°C:n lämpötilassa 2 h, ja pesty kahdesti kloromormimetanolilla (1:1) ja kerran kloroformilla.

Pylväästä eluoiitiin ensin neutraalit lipidit 5 ml:n kloroformilla, sen jälkeen glykolipidit 20 ml:lla asetonia. Fosfolipidit eluoiitiin 5 ml:lla metanolia 10 ml:n koeputkeen. Näytteet haihdutettiin tyypellä lämmittäen koeputkia 40°C:seen. Näytteet säilytettiin -20 °C:ssa.

### **Fosfolipidien mieto emäksinen metanolyysi (transesterifikaatio) rasvahapoiksi**

Koeputkiin lisättiin 100 µl sisäisiä standardeja 19:0 ja 13:0, joiden konsentraatio oli 20 µg/ml. Näytteet liuotettiin 1 ml:lla metanolitolueenia (1:1 v/v) ja vorteksoitiin. Putkiin lisättiin 1 ml vastatehtyä 0,2 M kaliumhydroksidia metanolissa. Näytteitä inkuboitiin 37 °C:n vesihauteessa 15 min. Putkiin lisättiin 2 ml heksaanikloroformia (4:1 v/v), 0,3 ml 1 M etikkahappoa ja 2 ml kloroformilla pestyä vettä.

Putkia sekoitettiin ensin Vortexilla ja sitten tasoravistelijalla 30 min, 300 rpm. Näytteitä sentrifugoitiin 3 min 2500 rpm, minkä jälkeen tarkistettiin, että vesifaasin (alafaasi) pH oli 5:n ja 7:n välillä. Orgaaninen faasi (yläfaasi) siirrettiin uuteen 10 ml:n koeputkeen. Näyte pestiin lisäämällä alkuperäiseen putkeen uudelleen 2 ml heksaanikloroformia (4:1 v/v), sekoitettiin 1 min Vortexilla ja tasoravistelijalla 30 min, 300 rpm. Näytteet sentrifugoitiin 3 min 2500 rpm ja yläfaasi siirrettiin edellä otetun faasin joukkoon.

Näytteitä haihdutettiin tyypellä ilman lämmitystä, sillä rasvahapot ovat helposti haihtuvia. Haihduttaminen lopetettiin heti kun liuotin oli juuri ja juuri haihtunut. Näytteitä säilytettiin -70 °C:ssa ja GC-mittaus suoritettiin viimeistään viikon sisällä.

### **Kaasukromatografinen analyysi**

Näyte liuotettiin lisäämällä koeputkiin 75 µl:aan heksaania. GC-pulloon laitettiin 100 µl heksaania ja pullon sisään asetettiin "inserttipullo", johon pipetoitiin 27 µl näytettä. Pullo suljettiin korkilla.

Näytteet analysoitiin kaasukromatografilla Hewlett Packard 5890, joka oli varustettu liekki-ionisaatiodetektorilla (FID) ja HP-5 kapillaarikolonnilla (Agilent 19091J-105). Kolonnin stationäärifaasina oli 5 % fenyyli-metyylisiloksaani. Kolonnin pituus oli 50 m, halkaisija 20 mm ja filmin paksuus 0,33 µm. Kantajakaasuna toimi helium, ja sen ohi-

virtaus oli 30 ml minuutissa. Analyysissä käytettiin jakoinjektiota (split injection). Injektorin lämpötila oli 230 °C ja detektorin 270 °C. Uunin lämpötilaohjelma oli seuraava: aloituslämpötila oli 50 °C yhden minuutin ajan, lämpötila nostettiin ensin nopeudella 30 °C/min 160 °C:seen, sitten 2 °C/min 260 °C:seen ja 5 °C/min 290 °C:seen, jossa lämpötilaa pidettiin viimeisten kymmenen minuutin ajan. Injektiotilavuus oli 1,0 µl.

### **Kaasukromatografianäytteiden tulosten laskeminen**

Rasvahappojen mooliosuudet laskettiin sisäisen standardin (internal standard) menetelmällä. Menetelmässä näytteeseen lisätään tunnettu määrä tunnettua yhdistettä. Tutkittavien yhdisteiden pitoisuudet määritetään vertaamalla standardin tuottaman piikkien intensiteetti tutkittavien yhdisteiden piikkien intensiteetteihin. Sisäisen standardin menetelmän avulla näytteen käsittelyssä syntyneet hävikit tulevat huomioiduiksi. (Jaarinen & Niiranen 2005, 20.)

Tässä työssä sisäisinä standardeina käytettiin rasvahappoja 19:0 ja 13:0 (20 µg/ml). Standardit metyloitiin ja analysoitiin kaasukromatografilla kuten näytteetkin. Rasvahappojen piikit tunnistettiin kaasukromatogrammeista ja näytteiden rasvahappopitoisuus laskettiin sisäisen standardin 19:0 ja retentioaikojen avulla.

### **Kuivapainon määrittäminen**

Kuivapaino määritettiin punnitsemalla 5 ml tuoreita näytteitä lämpökaapissa kuivattuihin (+105 °C:ssa, 2 h) ja esipunnittuihin upokkaisiin. Tämän jälkeen näytteistä haihdutettiin kaikki kosteus pois lämpökaapissa (+105 °C:ssa, yön yli), ne jäähdytettiin eksikaattorissa 2h:n ajan ja suoritettiin taas punnituksen. Kaikki tiedot tallennettiin Excel-tiedostoon jatkolaskentaa varten.

## 7 TULOKSET

### 7.1 Mikrobibiomassat

Turvenäytteistä löydettiin 45 kpl fosfolipidien mikrobiperäistä rasvahappoa. Tutkitut mikrobiryhmät olivat sienet ja bakteerit. Rasvahapot i15, a15, 15:0, i16, 16:1 $\omega$ 9, 16:1 $\omega$ 7t, i17, a17, cy 17, 17:0, 18:1 $\omega$ 7, cy19 ovat ominaisia bakteereille, ja niitä käytettiin bakteerien biomassan osoittamisessa. Rasvahappoa 18:2 $\omega$ 6 käytettiin sienibiomassan indikaattorina. Liitteessä 1 on esitetty rasvahappojen mooliosuudet näytteissä.

Turvenäytteistä uutetuista mikrobirasvahapoista laskettiin sieni- ja bakteeribiomassat seuraavan kaavan avulla:

$$Biomassa = \frac{A_{tot} n_{19:0} V_{if} V_i}{A_{19:0} m}, \text{ missä}$$

$A_{tot}$  on kaikkien rasvahappojen summa (mol-%), sisäisiä standardeja 13:0 ja 19:0 lukuunottamatta

$n_{19:0}$  on sisäisen standardin määrä, 64 pmol

$V_{if}$  on näytteiden liuotukseen käytetty heksaanin määrä, 100  $\mu$ l

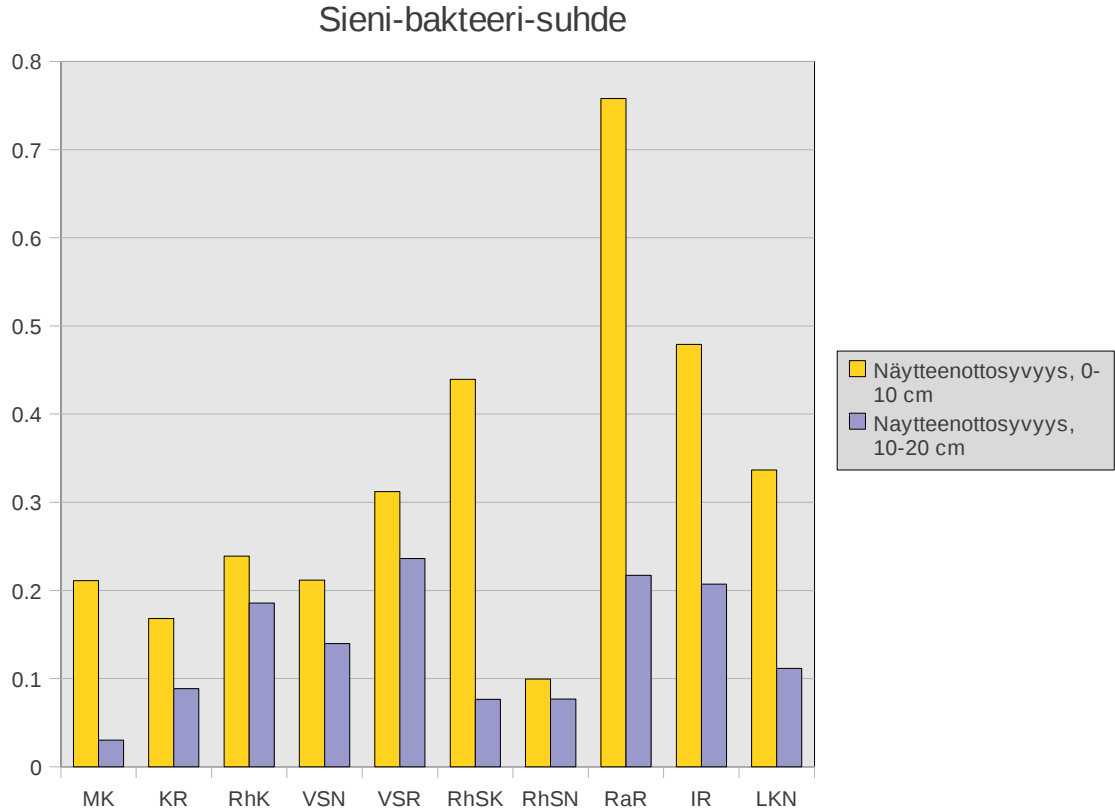
$V_i$  6,2 ml lipidifaasin teorettinen määrä / fraktiointiin otettu määrä (ml)

$A_{19:0}$  on sisäisen standardin määrä (mol-%)

m on näytteen tuorepaino (g)

Näytteiden kokonaismikrobi-, bakteeri- ja sienibiomassat on esitetty liitteessä 2. Sieni- ja bakteeribiomassojen avulla laskettiin sieni-bakteerisuhteet.

Kuviosta 9 voidaan nähdä, että sieni- ja bakteeribiomassojen suhde on korkeampi ylemmässä kerroksessa kaikilla suotyypeillä. Tulokset osoittavat, että sieniä esiintyy selvästi runsaammin maaperän pintakerroksissa, ja sienibiomassan määrä laskee syvemmälle mentäessä.

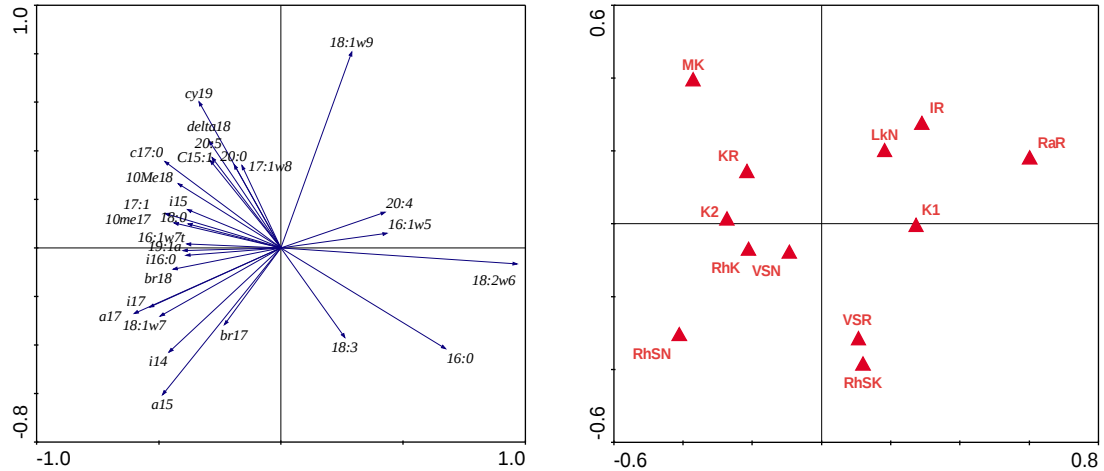


**KUVIO 9.** Sieni- ja bakteerispesifisten rasvahappojen perusteella lasketut biomassojen suhteet kahdella eri turvesyvyydellä suotyypeittäin esitettynä. Tulokset ovat neljän koelana-  
näytteen keskiarvoja. Sieni-bakteeri-suhde ilmaisee  $PLFA_{sieni}$  ja  $PLFA_{bakteeri}$  välisen suhteen.

## 7.2 Monimuuttuja-analyysien tulokset

PLFA-aineiston analysointiin käytettiin pääkomponenttianalyysiä (Principal Component Analysis, PCA) ja redundanssianalyysiä (Redundancy Analysis, RDA). Tilastollinen tarkastelu tehtiin Canoco for Windows 4,5 –ohjelmalla. (Laiho 2010.) PCA-analyysi on tilastollinen monimuuttujamenetelmä, jossa suuri joukko satunnaisilmiötä kuvaavia muuttujia tai tekijöitä pyritään korvaamaan pienellä määrällä uusia, keinotekoisia muuttujia, jotka ovat helposti tulkittavissa ja säilyttävät mahdollisimman tarkkaan alkuperäisten muuttujien olennaiset piirteet. (Mellin 2004.)

Tämän tutkimuksen pääkomponenttianalyysi perustuu puhtaasti rasvahappokoostumuksen vaihteluun eri näytteissä. PCA-analyysillä haettiin muuttujia (pääkomponentteja), jotka selittäisivät mahdollisimman hyvin rasvahappokoostumuksen vaihtelua. Voimakkain vaihtelusuunta selitettiin 1. pääkomponentilla, toiseksi voimakkain 2. pääkomponentilla, jne. Redundanssianalyysillä taas testattiin sitä, kuinka hyvin mitatut ympäristömuuttujat selittävät rasvahappokoostumuksen vaihtelua. (Laiho 2010.)



**KUVIO 10. Pääkomponenttianalyysin tulokset koko aineistolle. Vasemmalla on eri rasvahappojen keskinäiset korrelaatiot: kuvioon on valittu vain ne rasvahapot, joiden esiintymisestä pääkomponentit selittävät vähintään 10 %. Oikealla on tutkittujen turvekerrosten ja suotyypin suhde rasvahappokoostumukseen. K1 tarkoittaa turvekerrosta 0 – 10 cm, ja K2 on 10 – 20 cm kerros. IR on iso-varpuräme, KR on korpiräme, LkN on lyhytkorsineva, MK on mustikkakorpi, RaR on rahkaräme, RhK on ruohokorpi, RhSK on ruohoinen sarakorpi, RhSN on ruohoinen saraneva, VSN on varsinainen saraneva, VSR on varsinainen sararäme. Suotyypit ovat Laineen ja Vasanderin (2008) mukaan.**

Kuviossa 10 on esitetty pääkomponenttianalyysin tulokset koko aineistolle. PCA-analyysissä 1. pääkomponentti selitti 42 % rasvahappokoostumuksen vaihtelusta, ja 2. pääkomponentti 15 %. Redundanssianalyysin mukaan suotyyppi selitti yhteensä 27 % vaihtelusta ja kerros 12 % (toisistaan puhdistetut vaikutukset).

PCA-analyysin mukaan mikrobiyhteisön rasvahappokoostumus oli keskimäärin erilainen kerroksissa 0–10 ja 10–20 cm. 1. pääkomponentti erottelee vastaavat centroidit kuvassa 1. Muuttujat K1 ja K2 ovat 1-akselin eri puolilla, K1 positiivisella ja K2 negatiivisella, +/- merkki ei sinänsä ole tulkittavissa. Suotyypillä näyttäisi kuitenkin olevan suurempi

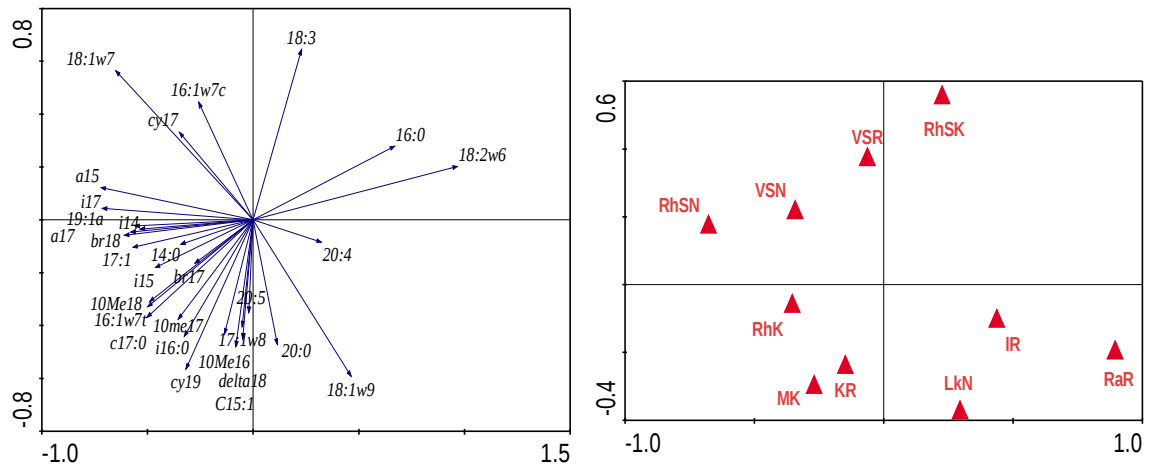


vaikutus mikrobiyhteisön koostumukseen, koska suotyypimuuttujien hajonta on suurempi kuviossa 10. Suotyypeillä, jotka sijoituivat kauas toisistaan 1- ja 2-akseleiden suhteen, on erilainen rasvahappokoostumus. Suotyypit, jotka muistuttavat toisiaan rasvahappokoostumukseltaan, ovat lähekkäin graafisessa esityksessä.

Rasvahapolla 18:2 $\omega$ 6 on kaikista pisin ja lähes 1-akselin suuntainen vektori. Vektorin pituus kuvaa korrelaation voimakkuutta, ja vektorin samansuuntaisuus 1-akselin kanssa on merkki positiivisesta korrelaatiosta. Siten monille sienilajeille tyypillinen linoliinihappo 18:2 $\omega$ 6 näytti reagoivan voimakkaimmin ympäristötekijöiden vaihteluun. Tulosten mukaan sitä esiintyy eniten karulla ja kuivalla rahkarämeellä (RaR) sekä toisaalta kerroksessa 0–10 cm (K1). Mainitut muuttujat ovat suotyypeistä ja kerroksista kauimpana oikealla 1-akseliin nähden.

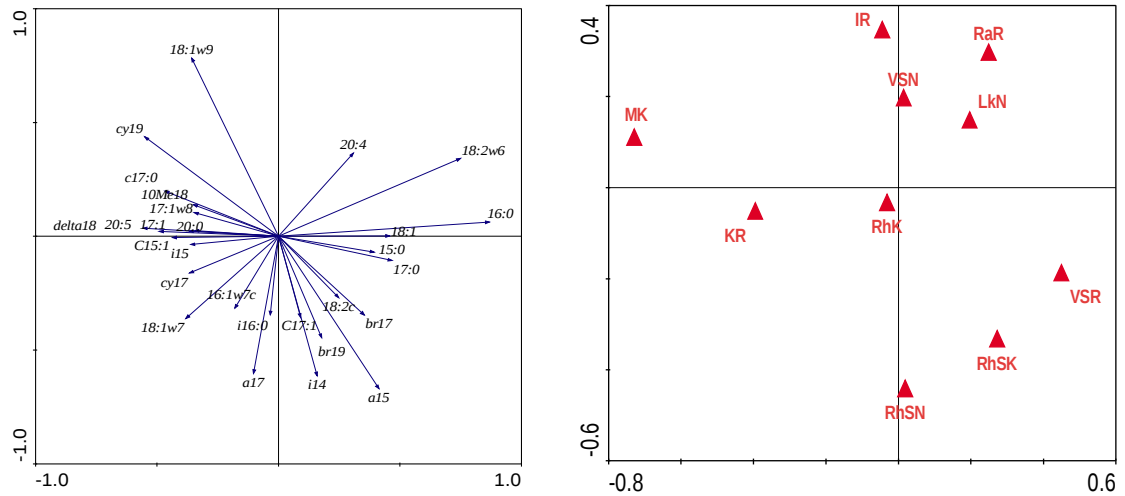
Koska kerrosten välillä näytti olevan eroja, pääkomponenttianalyysit tehtiin myös kummallekin kerrokselle erikseen (kuviot 11 ja 12). Siten saadaan selvempi käsitys eri suotyyppien välisistä eroista.

Myös kerrosta 0–10 cm erikseen tarkasteltaessa (kuvio 11) rasvahappo 18:2 $\omega$ 6 näytti reagoivan voimakkaimmin ympäristötekijöiden vaihteluun. Suotyypeistä karulla ja kuivalla RaR:llä ja märällä ja ravinteikkaalla RhSN:lla oli eniten toisistaan poikkeava mikrobiyhteisö. Kumpaakaan pääkomponenttia ei kuitenkaan voi tulkita suoraan ravinteisuus- tai märkyysvaihtelua kuvaavaksi, mikä selittyy selvimmin märkien ja ravinteisten avosuo- tai ns. sekatyypin (RhSN, VSN, VSR, RhSK) esiintymisellä kuvan yläreunassa. 2. pääkomponentti erottaa ne kuivista ja karuista suotyypeistä (RaR, IR, LkN, KR, MK, RhK), jotka sijoituivat kuvan alareunassa.



**KUVIO 11. Pääkomponenttianalyysin tulokset kerrokselle 0 – 10 cm. Muuttujien selitykset kuten kuviossa 10.**

Kerroksessa 10 – 20 cm (kuvio 12) rasvahapot 16:0 ja 18:2 $\omega$ 6 reagoivat voimakkaimmin ympäristötekijöiden vaihteluun. Tässä kerroksessa 1. pääkomponentti, siis se, joka selittää eniten rasvahappokoostumuksen vaihtelua, näyttäisi kuvaavan selvemmin suotyyppien märkyysvaihtelua. Kuivat suotyyppit MK ja KR ovat vasemmalla analyysikuvassa, ja oikealla ovat melko märät VSR ja RhSK. Aivan selvää se ei ole tässä tapauksessa, vaan kumpikin kahdesta voimakkaimmasta pääkomponentista näyttää korreloivan sekä märkyden että ravinteisuuden kanssa – eli ehkäpä vaikka substraatin laadun. Kosteuden ja ravinteiden lisäksi substraatin laatuun muita liittyviä tekijöitä ovat pH, turpeen ja karikkeen kemialliset ominaisuudet ja maatuneisuusaste.



KUVIO 12. Pääkomponenttianalyysin tulokset kerrokselle 10 – 20 cm.

### 7.3 Virhelähteet

Fosfolipidirasvahappoanalyysi on monivaiheinen menetelmä, joten näytteen käsittelyyn ja tulosten analysointiin liittyy monia virhemahdollisuuksia. Todennäköisin virhelähde tässä työssä on näytteen kontaminaatio näytteen käsittelyn yhteydessä. Kontaminaation lähteitä voivat olla kädet, astiat ja pöly. Pienikin kontaminaatio näkyy PLFA-profiilissa ja vääristää tuloksia. Näytteen kontaminaation välttämiseksi välineiden puhtautta ja reagenssien mahdollisia virhelähteitä seurattiin nollakontrollien avulla, joita ajettiin kunkin näytesarjan kanssa.

Epätarkkuutta tuloksissa voi aiheutua myös inhimillisistä syistä, varsinkin kun kyse on suuresta näytesarjasta. Virheitä saattoi tapahtua myös PLFA-tulosten analysoinnissa. Rasvahappojen tunnistaminen suoritettiin retentioaikojen ja sisäisen standardin avulla. Osa turvenäytteistä sisälsi hyvin pieniä rasvahappopitoisuuksia, ja niille ei pystytty saamaan hyviä kromatogrammeja konsentroinnista huolimatta. Näiden näytteiden rasvahappojen tunnistaminen oli hyvin hankalaa, mikä voi aiheuttaa epävarmuutta tuloksiin.

## 8 PÄÄTELMÄT

Opinnäytetyön tarkoituksena oli määrittää luonnontilaisen suon mikrobiyhteisön rakenne. Tarkastelun kohteena olivat bakteerit ja sienet. Turvenäytteille tehdään myöhemmin myös mikrobiologiset analyysit, jolloin saadaan tarkemman kuvan mikrobilajeista. Opinnäytetyön tehtävänä oli myös selvittää mikrobistoon vaikuttavat tekijät. Aineistossa oli kymmenen ravinteisuudeltaan erilaista suotyyppiä ja näytteitä oli yhteensä 80 kappaletta. Määritysmenetelmänä käytettiin fosfolipidirasvahappotekniikkaa.

Opinnäytetyön tehtävissä on onnistuttu. PLFA-analyysillä kaikkien turvenäytteiden rasvahappoprofiilit saatiin selville. Näytteiden rasvahappoaineistosta tunnistettiin 45 mikrobiperäistä rasvahappoa. PLFA-profiileista löytyy sekä gram-positiivisille bakteereille ominaiset iso- ja anteisohaaroittuneet tyydyttyneet rasvahapot a15:0, i16:0, a17:0 ja haaralliset rasvahapot br17:0, br18:0 että gram-negatiivisille bakteereille tyypilliset yhden kaksoisidoksen omaavat rasvahapot 18:1 $\omega$ 7, a19:1, 16:1 $\omega$ 7t ja syklopropanirasvahappo cy17:0. Tutkittut näytteet sisälsivät sienille tyypilliset rasvahapot 18:2 $\omega$ 6, 20:4 ja 16:0. Näytteissä esiintyy myös metyylyiryhmän kymmenessä hiilessä sisältävät rasvahapot 10Me16, 10Me17 ja 10Me18, jotka osoittavat aktinobakteerien läsnäolon.

Tässä opinnäytetyössä on saatu hyvin samankaltaisia tuloksia kuin monissa muissa tutkimuksissa, joissa selvitettiin suon mikrobiyhteisön rakennetta ja siihen vaikuttavia tekijöitä. Fosfolipidianalyysi osoitti turvekerroksen ja suotyypin olevan merkittäviä mikrobiyhteisön koostumuksen muokkaajia. Tulosten perusteella sieniä esiintyy runsaimmin pintakerroksissa, jossa on hyvä hapen saatavuus ja tuore karike. Bakteerien suhteellinen määrä nousee alimmassa kerroksessa, jossa turve on maatuneempaa ja bakteereille sopivia ravinteita on enemmän saatavilla. Vähähappisissa oloissa anaerobisten bakteerien määrä todennäköisesti myös kasvaa.

Tulokset osoittavat, että näytteiden mikrobiyhteisön koostumus vaihteli suuresti märkyydeltään ja ravinteisuudeltaan erilaisissa suotyypeissä. Sienet näyttivät menestyvän

karuilla ja kuivilla suotyypeillä, kun taas runsasravinteisilla ja märillä suotyypeillä bakteerivaltainen mikrobisto korostui. Monimuuttuja-analyysien tulosten perusteella sienet ovat alttiimpia ympäristötekijöiden vaihteluun kuin bakteerit.

Fosfolipidianalyysi on vakiintunut menetelmä mikrobiyhteisön koostumuksen tutkimisessa monimutkaisista ympäristönäytteistä. PLFA-menetelmän etuna on, ettei se edellytä suuria näytemääriä tai ennakkotietoja näytteen mikrobistosta, ja analyysillä saadaan tietoa ainoastaan elävistä, myös ei-viljeltävistä, mikrobeista. Analyysi osoittautui varsin toimivaksi ja käyttökelpoiseksi menetelmäksi mikrobiyhteisön tärkeimpien edustajien, bakteerien ja sienien, määrittämisessä.

## LÄHTEET

Arkkieliöt. 2006. Artikkele. Solunetti. Suomen virtuaaliyliopiston sivusto. Viitattu 28.4.2011. <http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/arkkieliot/2/>

Bardgett, R. D., 2005. The biology of soil. New York: Oxford University Press Inc.

Berkeley, R. C. W., 1979. Structure and classification of procaryotic micro-organisms. Teoksessa L.E. Hawker & A.H. Linton (editors). Micro-organisms: function, form and environment. 2<sup>nd</sup> edition. London: Edward Arnold Ltd, 135 – 175.

Campbell, R., Berkeley, R.C.W., Linton, A.H. & Madelin, M.F., 1979. Microbiology of soils, air and water. L.E. Hawker & A.H. Linton (editors). Micro-organisms: function, form and environment. 2<sup>nd</sup> edition. London: Edward Arnold Ltd, 243 – 274.

Fosfolipidit. 2006. Artikkele. Solunetti. Suomen virtuaaliyliopiston sivusto. Viitattu 17.2.2011 <http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/fosfolipidit/2/>

Frostegård, Å., Tunlid, A. & Bååth, E., 1993. Phospholipid fatty acid composition, biomass, and activity of microbial communities from two soil types experimentally exposed to different heavy metals. Appl. Environ. Microbiol. 59: 3605 – 3617.

Gobat, J.-M., Aragno, M. & Matthey, W., 2003. The living soil: fundamentals of soil science and soil biology. Enfield: Science Publishers.

GTK julkaisi uusimmat laskelmat Suomen turvevaroista. 2010. Tiedote. Geologian tutkimuskeskus. Viitattu 11.11.2010. [http://www.gtk.fi/system/print.htmlfrom=/system/PressReleases/news\\_0206.html](http://www.gtk.fi/system/print.htmlfrom=/system/PressReleases/news_0206.html)

Hanski, I., Lindström, J., Niemelä, J., Pietiäinen, H. & Ranta, E., 1998. Ekologia. Juva: WSOY.

Heino, J. & Vuento, M., 2010. Biokemian ja solubiologian perusteet. 2. uudistettu painos. Helsinki. WSOY pro Oy.

Jaarinen, S. & Niiranen, J. 2005. Laboratorion analyysitekniikka. 5.uudistettu painos. Helsinki: Edita Publishing Oy.

Kaakinen, E., Aapala, K. & Kokko, A., 2008. Suoluonnon monimuotoisuus. Teoksessa Korhonen, R., Korpela, L. & Sarkkola, S. (toim.). Suomi - Suoma. Suoseura ry, Maahenki Oy, 34 – 53.

Korhola, A. & Tolonen, K., 1998. Suomen soiden kehityshistoria ja turpeen pitkäaikaiskertymät. Teoksessa Vasander, H. (toim.). Suomen suot. Helsinki: Suoseura ry, 20 – 26.

Laiho, R., 2010. Lakkasuo. Sähköpostiviesti 6.10.2010. Vastaanottaja V. Koudelia. Helsingin Metsätieteiden laitoksen yliopistonlehtorin PCA-analyysin tuloksia opinnäytetyön tekijälle.

Laine, J., Komulainen, V.-T., Laiho, R., Minkkinen, K., Rasinmäki, A., Sallantausta, T., Sarkkola, S., Silvan, N., Tolonen, K., Tuittila, E.-S., Vasander, H. & Päivänen, J., 2002. Lakkasuo – opas suon ekosysteemiin. Helsingin yliopiston metsäekologian laitoksen julkaisuja 26.

Laine, J., Minkkinen, K., Laiho, R., Tuittila, E.-S. & Vasander, H., 2000. Suokasvit - turpeen tekijät. Helsingin yliopiston metsäekologian laitoksen julkaisuja 24.

Laine, J. & Vasander, H., 1998. Suo ekosysteeminä. Teoksessa Vasander, H. (toim.). Suomen suot. Helsinki: Suoseura ry, 10 – 19.

Laine, J. & Vasander, H., 2008. Suotyypit ja niiden tunnistaminen. 2.p. Hämeenlinna: Metsäkustannus Oy.

Maier, R.M. & Pepper, I.L., 2000. Terrestrial environments. R.M. Maier, I.L. Pepper, and C.P. Gerba (editors). Environmental Microbiology. San Diego: Academic Press, 61 – 89.

Mellin, I., 2004. Pääkomponenttianalyysi. Systemianalyysin laboratorion oppimateriaali. Viitattu 24.3.2011.

[http://www.sal.tkk.fi/vanhat\\_sivut/Opinnot/Mat-2.112/pdf/PCOMP10.pdf](http://www.sal.tkk.fi/vanhat_sivut/Opinnot/Mat-2.112/pdf/PCOMP10.pdf)

Mikrobit. 2006. Artikkelit. Solunetti. Suomen virtuaaliyliopiston sivusto. Viitattu 28.2.2011. <http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/mikrobit/>

Niemi, M., Virtanen, I. & Vuorio, E., 1995. Solu- ja molekyylibiologia. Porvoo: WSOY.

Nuutinen, V. & Palojarvi, A., 2002. Maaperäeliöstö ja maan rakenne. Teoksessa Alakukku L. & Teräväinen, H. (toim.). Maan rakenteen hoito. ProAgria Maaseutukeskusten Liiton julkaisuja 982, 24 – 32.

Paul, E. A. & Clark, F. E., 1996. Soil Microbiology and Biochemistry. 2<sup>nd</sup> edition. San Diego: Academic press.

Peltoniemi, K., 2010. Aerobic carbon-cycle related microbial communities in boreal peatlands: responses to water-level drawdown. University of Helsinki, Department of Biological and Environmental Sciences. Dissertations Forestales 101.

Pennanen, T., 1998. Structure of the microbial communities in boreal coniferous forest humus exposed to heavy metals and changes in soil pH. Helsingin yliopisto, biotieteiden laitos. Väitöskirja.

Päivänen, J. 2007. Suot ja suometsät – järkevän käytön perusteet. Hämeenlinna: Tekijä ja Metsäkustannus Oy.

Rasvahapot. 2006. Artikkele. Solunetti. Suomen virtuaaliyliopiston sivusto. Viitattu 17.2.2011. <http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/rasvahapot/2/>

Reinikainen, O. & Picken, P., 2008. Kasvua ja ympäristönhoitoa. Teoksessa Korhonen, R., Korpela, L. & Sarkkola, S. (toim.). Suomi - Suoma. Suoseura ry, Maahenki Oy, 189 – 195.

Reinikainen, A. 1980 Suoekosysteemi toimii. Teoksessa Haavas, P. (toim.) Suomen luonto 3: Suot. Helsinki: Kirjayhtymä, 211 – 262.

Rikkinen, J. 1998. Leviä, sieniä ja leväsieniä. Helsinki: Yliopistopaino.

Saari, V. & Salonen, V., 2005. Suot. Sienten ekologiaa. Valtion ympäristöhallinnon Suomen Ympäristö-julkaisusarja. Viitattu 3.2.2011. <http://www.ymparisto.fi/download.asp?contentid=43405>

Salkinoja-Salonen, M., 1976. Mikrobiologian perusteet. Helsinki: Oy Gaudeamus Ab.

Salonen, V. & Heinonen, P., 2007. Suotyypit. Artikkele. Valokki-nettisu. Jyväskylän yliopiston avoin yliopisto. Viitattu 14.12.2010. <http://kasvio.avoin.jyu.fi/suotyypit/suotyypit.php>

Seppä, H., 1998. Suomen soiden pinnanmuodot. Teoksessa Vasander, H. (toim.). Suomen suot. Helsinki: Suoseura ry, 27 – 33.

Setälä, H., 2005. Artikkele. Maanalaisten ja -päällisten ravintoverkkojen väliset vuorovai-  
kutussuhteet – mutualismia ekosysteemitasolla? Maaperän vuorovaikutukset No.22.  
Viitattu 9.1.2011. <http://www.maaperä.fi/files/ProTerra22.pdf>

Silvan, K. 2008. Uuden turvetuotantomenetelmän biomassakuivurin vesistövaikutukset. Opinnäytetyö. Tampereen ammattikorkeakoulu. Kemiantekniikka . Viitattu 10.11.2010. <http://publications.theseus.fi/bitstream/handle/10024/8583/Silvan.Kaisa.pdf?sequence=2>

Soiden ekologiaa ja hydrologiaa. 2005. Artikkele. Metsähallitus. Viitattu 13.11.2010. <http://www.metsa.fi/sivustot/metsa/SiteAttachments/Soidenekologiaajahydrologiaas2130.pdf>

Solukalvo. 2006. Artikkele. Solunetti. Suomen virtuaaliyliopiston sivusto. Viitattu 17.2.2011. <http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/solukalvo/>

Solukalvo eli plasmamembraani. Artikkele. Internetix opinnot. Viitattu 17.2.2011. [http://opinnot.internetix.fi/fi/muikku2materiaalit/lukio/bi/bi2/04\\_solun\\_rakenne/07\\_solukalvo?C:D=hRyz.hQ10&m:selres=hRyz.hQ10](http://opinnot.internetix.fi/fi/muikku2materiaalit/lukio/bi/bi2/04_solun_rakenne/07_solukalvo?C:D=hRyz.hQ10&m:selres=hRyz.hQ10)



Solukalvon lipidit. 2006. Artikkel. Solunetti. Suomen virtuaaliyliopiston sivusto. Viitattu 17.2.2011. [http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/solukalvon\\_lipidit/2/](http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/solukalvon_lipidit/2/)

Sund, J. 2008. Halofiilisen HNV1-arkkiviruksen virionirakenteen selvittäminen hajotuskokeiden avulla. Pro Gradu-tutkielma. Bio- ja ympäristötieteiden laitos . Jyväskylän yliopisto. Viitattu 28.4.2011.

[https://jyx.jyu.fi/dspace/bitstream/handle/123456789/18371/URN\\_NBN\\_fi\\_jyu-200805131461.pdf;jsessionid=13A77E73456F75A1F71292AB892987AF?sequence=1](https://jyx.jyu.fi/dspace/bitstream/handle/123456789/18371/URN_NBN_fi_jyu-200805131461.pdf;jsessionid=13A77E73456F75A1F71292AB892987AF?sequence=1)

Tolonen, K. 1980. Suo-Suomen synty. Teoksessa Haavas, P. (toim.) Suomen luonto 3: Suot. Helsinki: Kirjayhtymä, 7 – 24.

Virtanen, K. 2008. Soiden geologinen tutkimus, Suomen turvevarat. Teoksessa Korhonen, R., Korpela, L. & Sarkkola, S. (toim.). Suomi - Suomaa. Suoseura ry, Maahenki Oy, 21 – 31.

Virtanen, K., Hänninen, P., Kallinen, R.-L., Vartiainen, S., Herranen, T. & Jokisaari, R. 2003. Suomen turvevarat 2000. Geologian tutkimuskeskuksen tutkimusraportti 156. Viitattu 20.11.2011. <http://arkisto.gsf.fi/tr/tr156/tr156.pdf>









## Liite 2. Näytteiden kokonaismikrobi-, bakteri- ja sienibiomassat (nmol/g kuivapainoa).

| Näyte  | totnmol/gdw | Bnmo/gdw | Fnmol/gdw | Näyte  | totnmol/gdw | Bnmo/gdw | Fnmol/gdw |
|--------|-------------|----------|-----------|--------|-------------|----------|-----------|
| 10-10  | 1226.326    | 517.744  | 13.848    | 21-10  | 685.943     | 177.589  | 93.985    |
| 10-20  | 2203.797    | 743.501  | 242.853   | 21-20  | 175.164     | 67.613   | 4.528     |
| 119-10 | 2918.157    | 943.508  | 301.395   | 226-10 | 981.113     | 252.581  | 131.491   |
| 119-20 | 898.438     | 315.094  | 127.411   | 226-20 | 380.435     | 113.649  | 41.806    |
| 124-10 | 563.926     | 249.022  | 39.008    | 244-10 | 699.856     | 138.535  | 196.532   |
| 124-20 | 294.838     | 121.160  | 14.936    | 244-20 | 371.698     | 138.451  | 5.279     |
| 125-10 | 590.135     | 255.586  | 18.843    | 250-10 | 38.777      | 10.335   | 4.293     |
| 125-20 | 439.604     | 182.999  | 15.925    | 250-20 | 233.122     | 79.994   | 17.161    |
| 134-10 | 387.039     | 138.696  | 18.472    | 263-10 | 760.656     | 184.787  | 87.613    |
| 134-20 | 81.754      | 24.878   | 3.951     | 263-20 | 400.232     | 148.122  | 9.688     |
| 139-10 | 500.534     | 94.919   | 93.583    | 268-10 | 651.298     | 237.737  | 34.675    |
| 139-20 | 302.245     | 75.500   | 50.233    | 268-20 | 426.747     | 173.427  | 14.571    |
| 142-10 | 1446.246    | 599.576  | 149.044   | 29-10  | 1344.322    | 503.265  | 41.541    |
| 142-20 | 728.784     | 301.980  | 69.719    | 29-20  | 154.608     | 59.638   | 1.065     |
| 145-10 | 1129.493    | 296.182  | 81.038    | 303-10 | 264.115     | 73.146   | 34.296    |
| 145-20 | 518.125     | 184.412  | 4.575     | 303-20 | 352.565     | 117.608  | 22.421    |
| 147-10 | 424.001     | 111.249  | 75.145    | 315-10 | 487.909     | 147.678  | 30.249    |
| 147-20 | 395.029     | 175.322  | 20.965    | 315-20 | 277.585     | 96.227   | 8.092     |
| 15-10  | 682.064     | 260.489  | 41.914    | 320-10 | 667.734     | 178.259  | 70.275    |
| 15-20  | 1316.971    | 474.349  | 12.551    | 320-20 | 299.400     | 110.107  | 14.639    |
| 154-10 | 529.239     | 185.143  | 33.404    | 4-10   | 986.784     | 352.971  | 14.046    |
| 154-20 | 539.795     | 203.196  | 23.894    | 4-20   | 468.511     | 160.772  | 4.663     |
| 159-10 | 452.263     | 153.686  | 53.055    | 54-10  | 83.531      | 34.836   | 2.567     |
| 159-20 | 96.145      | 42.834   | 1.638     | 54-20  | 240.695     | 69.105   | 9.780     |
| 162-10 | 1425.717    | 316.536  | 334.861   | 56-10  | 254.589     | 81.125   | 23.575    |
| 162-20 | 737.979     | 287.447  | 15.924    | 56-20  | 404.088     | 166.805  | 2.162     |
| 171-10 | 302.664     | 111.708  | 6.080     | 6-10   | 943.251     | 370.517  | 45.122    |
| 171-20 | 393.250     | 163.175  | 7.402     | 6-20   | 523.572     | 209.750  | 27.026    |
| 174-10 | 1072.917    | 294.091  | 126.184   | 70-10  | 738.900     | 292.477  | 29.445    |
| 174-20 | 130.631     | 51.766   | 3.873     | 70-20  | 261.362     | 104.847  | 9.569     |
| 178-10 | 33.230      | 9.186    | 4.163     | 73-10  | 89.205      | 34.764   | 3.522     |
| 178-20 | 55.605      | 22.052   | 2.722     | 73-20  | 572.859     | 235.160  | 15.528    |
| 179-10 | 441.928     | 108.685  | 81.159    | 76-10  | 1247.915    | 421.013  | 137.517   |
| 179-20 | 244.362     | 106.699  | 8.874     | 76-20  | 243.445     | 105.043  | 2.874     |
| 193-10 | 362.986     | 152.419  | 34.151    | 89-10  | 991.439     | 398.815  | 30.859    |
| 193-20 | 121.089     | 36.953   | 2.034     | 89-20  | 1213.031    | 499.535  | 26.737    |
| 20-10  | 388.464     | 178.292  | 13.173    | 95-10  | 542.624     | 231.620  | 26.595    |
| 20-20  | 980.619     | 369.056  | 9.039     | 95-20  | 698.342     | 227.243  | 5.622     |
| 203-10 | 265.292     | 75.742   | 25.934    | 99-10  | 516.417     | 156.775  | 64.864    |
| 203-20 | 197.332     | 61.769   | 17.160    | 99-20  | 840.298     | 313.777  | 99.436    |