

**Metsätehon raportti 160**  
**20.11.2003**

# **Tuhka- ja typpilannoitus varttuneessa OMT-kuusikossa**

**Sienijuuret ja typen mobilisaatio**

*Rauni Strömmer*  
*Hanna Jokinen*  
*Anne Holma*

# **Tuhka- ja typpilannoitus varttuneessa OMT-kuusikossa**

**Sienijuuret ja typen mobilisaatio**

**Rauni Strömmer  
Hanna Jokinen  
Anne Holma**

Metsätehon raportti 160  
20.11.2003

Konsortiohanke: Energia-alan Keskusliitto FINERGY, Metsäliitto  
Osuuskunta, Metsäteollisuus ry, Stora Enso Oyj,  
UPM-Kymmene Oyj ja Vapo Timber Oy

Kirjoittajien  
yhteystiedot: Helsingin yliopisto  
Ympäristöekologian laitos  
Niemenkatu 73  
15140 Lahti. Puhelin: (03) 8922 0313 (Strömmer)

Asiasanat: ergosteroli, mykorritsa, tuhka, sienijuuri, lannoitus

© Metsäteho Oy

Helsinki 2003

## SISÄLLYS

<b>TIIVISTELMÄ</b> .....	<b>4</b>
<b>1 JOHDANTO</b> .....	<b>5</b>
1.1 Lannoitus ja puiden kasvu .....	5
1.2 Lannoitus ja metsämaa.....	5
1.3 Lannoitus ja sienijuuret.....	6
<b>2 TUTKIMUKSEN TAVOITTEET</b> .....	<b>7</b>
<b>3 AINEISTO JA MENETELMÄT</b> .....	<b>7</b>
3.1 Tutkimusalue ja käytetyt lannoitteet.....	7
3.2 Koeasetelmat ja näytteenotto .....	8
3.3 Analyysit ja tilastollinen testaus .....	10
<b>4 TULOKSET</b> .....	<b>11</b>
4.1 Kenttäkoe .....	11
4.2 Mikrokosmoskoe.....	13
<b>5 JOHTOPÄÄTÖKSET</b> .....	<b>16</b>
<b>6 KIRJALLISUUS</b> .....	<b>19</b>
<b>LIITE</b>	

## TIIVISTELMÄ

Tutkimus tuhkalannoituksen vaikutuksista kuusen sienijuurisymbioosiin toteutettiin kenttäkokeena Evolla ja kontrolloiduissa kasvatusolosuhteissa mikrokosmoskokeena Helsingin yliopiston ympäristöekologian laitoksella. Tuhkalannoituksen ohella tutkittiin typpilannoituksen vaikutuksia yhdessä tuhkan kanssa ja erikseen.

Sekä kenttä- että mikrokosmoskokeessa tuhka nosti humuksen pH:ta. Kenttäkokeessa 3 kk lannoituksen jälkeen humuksen pH oli kohonnut 0,5 ja vuoden kuluttua 1,5 pH-yksikköä. Mikrokosmoskokeessa pH kohosi noin 3 pH-yksikköä.

Kuusen hienojuurten sienibiomassa vaihteli n. 140–340 µg ergosterolia g<sup>-1</sup> kp. Kenttäkokeessa juurten sienibiomassa oli mineraalimaassa pienempi kuin humuksessa, mikrokosmoskokeessa sen määrä oli samaa suuruusluokkaa kuin mineraalimaassa. Mineraalimaassa typpi vähensi juurten sienibiomassaa suurimmalla typpilannoitustasolla n. 40 %. Mikrokosmoskokeessa tuhka tai typpi eivät vaikuttaneet kuusen taimien hienojuurten sienibiomassaan. Vaikka ektomykorritsan ulkoista rihmastoja ei silmämääräisesti arvioiden mikrokosmoskokeessa kehittynyt, ergosterolimittaus osoitti, että tuhka vähensi maan sienibiomassaa n. 55 %. Tuhka vähensi taimien pituuskasvua ensimmäisten kuuden kuukauden aikana n. 25 %, mutta ei enää typpilisäyksen jälkeen. Tuhkan vaikutus neulasten typpipitoisuuteen oli kuitenkin selkeä. Tuhka vähensi neulasten typpipitoisuutta, joka oli tuhkatommassa käsittelyissä keskimäärin 21 mg g<sup>-1</sup> kp, mutta tuhkakäsittelyissä vain 10 mg g<sup>-1</sup> kp. Typpi vaikutti päinvastoin eli lisäsi neulasten typpipitoisuutta 16 mg:sta jopa 24 mg:aan g<sup>-1</sup> kp.

Maan NH<sub>4</sub><sup>+</sup>- ja NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-typpikonsentraatioissa oli huomattavaa vaihtelua. Mineraalimaassa vuosien väliset erot olivat selvästi suuremmat kuin humuksessa. Suuret pitoisuudet kolmen kuukauden kuluttua lannoituksesta olivat huomattavasti pienentyneet seuraavana vuonna. Kenttäkokeessa typpi nosti NH<sub>4</sub><sup>+</sup>- ja NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-typpikonsentraatioita molemmissa maakerroksissa, tuhalla ei ollut vaikutusta. Mikrokosmoskokeessa pitoisuudet olivat n. 10 kertaa suurempia kuin kenttäkokeessa. Tuhka vähensi maan NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-typpikonsentraatiota kaikilla typpilannoitustasoilla. Typpi lisäsi sitä ainoastaan tuhkatommassa käsittelyissä. Tuhalla yksinään ei ollut vaikutusta maan NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-typpikonsentraatioon. Sen sijaan yhdessä typen kanssa tuhka lisäsi sitä huomattavasti. Typpi lisäsi NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-typpikonsentraatiota.

Tutkimuksemme loppupäätelmänä on, että tuhkalannoituksen yhteydessä on huomioitava kaksi merkittävää riskitekijää: rakenteelliset ja toiminnalliset muutokset kuusen mykorritsasienillä ja nitrifikaation voimistuminen ja sen seurauksena nitraattitypen huuhtoutuminen vesistöihin ja pohjavesiin.

# 1 JOHDANTO

## 1.1 Lannoitus ja puiden kasvu

Metsäteollisuusyritysten aloitteesta vuonna 1997 käynnistettiin Metsäteho Oy:n koordinoimana tutkimuskokonaisuus, jonka tavoitteena oli luoda edellytyksiä suurten voimaloiden pääosin puuperäisen tuhkan laajamittaiselle metsäkäytölle. Tässä raportissa esitetään Helsingin yliopiston ympäristöekologian laitoksella vuosina 2000–2002 tehdyt tutkimukset kuusen sienijuuren ja metsämaan reaktioista tuhka- ja sen ohella typpilannoitukseen.

Tuhkat sisältävät runsaasti kasviraavinteita ja ovat siten potentiaalista metsälannoitetta ja maanparannusainetta (Moilanen & Issakainen 2000). Tuhkalannoituksen vaikutuksia metsäekosysteemin toimintaan, kuten puiden kasvuun ja aineiden kiertoon on tutkittu Suomessa jo useamman vuosikymmenen ajan sekä lyhyen että pitkän aikavälin turve- ja kivennäismaakokeilla. Parhaimmat tulokset puuston kasvunlisäyksestä on saatu turvemaiden kokeista. Sen sijaan kivennäismaiden tuhkalannoituskokeiden tulokset ovat ristiriitaisia. Tuhkalannoituksen on todettu jopa hidastavan puiden kasvua karuissa kivennäismaiden männiköissä (Moilanen & Issakainen 2000). Parhaimmat tulokset puuston kasvunlisääjänä kivennäismailla on saatu yleensä NPK-lannoituksella (Viro 1972, Gustavsen & Lipas 1975, Mälkönen 1982, Laakkonen ym. 1983).

## 1.2 Lannoitus ja metsämaa

Suuri tuhkamäärä aiheuttaa välittömän pH:n nousun metsämaassa, jopa 1–2 pH-yksikköä (Ohtonen & Tuohenmaa 1999). Humuskerroksessa pH:n nousu ilmenee selvästi nopeammin kuin mineraalimaassa, jossa pH:n nousu on pitkänkin ajan kuluessa vähäisempää kuin humuskerroksessa. Vaikutuksen kestoa ei tiedetä, kyse on kuitenkin vuosista. Typpilannoituksen vaikutus metsämaan happamuuteen on pienempi kuin tuhkalannoituksen ja vaikutus ja sen kesto riippuvat käytettävästä typpilannoitteesta ja siitä, mihin kemiallisiin ja mikrobiologisiin toimintoihin lisätty typpi metsämaassa vaikuttaa.

Tuhkalannoituksen myötä orgaanisen aineksen hajotus vilkastuu (Persson ym. 1989, Priha & Smolander 1994, Fritze ym. 1994) ja ravinteiden mineralisaatio ja kierto metsämaassa nopeutuvat (Fritze & Perkiömäki 1999, Ohtonen & Tuohenmaa 1999). Tällöin kasveille käyttökelpoisessa muodossa olevien ravinteiden määrä ja liikkuminen metsämaassa muuttuvat. Tuhkalannoituksen myötä metsämaan mikrobien (bakteerit, sienet) aktiivisuus kasvaa (Fritze ym. 1994; Fritze & Perkiömäki 1999, Perkiömäki & Fritze 2002) ja bakteerien yhteisörakenne muuttuu (Perkiömäki & Fritze 2002). Tuhkalannoitus lisää myös liunneen orgaanisen hiilen (DOC) määrää metsämaassa (Ludwig ym. 2000), mikä saattaa osaltaan selittää mikrobien kasvanutta aktiivisuutta. Mikrobiaktiivisuuden kohoaminen voi johtua kuitenkin yksinomaan metsämaan pH:n noususta.

Karuilla kasvupaikoilla tuhkalannoitus ei välttämättä johda nitrifikaation kiihtymiseen, sillä oletetaan, että karuilla kasvupaikoilla ammoniumtyypen muodostuminen on vähäisempää kuin ravinteisilla ja kaikki muodostuva ammoniumtyyppi siirtyy välittömästi maaperästä kasveihin tai immobilisoi-tuu mikrobistoon. Ammoniumtyyppiä ei siten riitä nitrifikaatioon, jolloin myös nitraattityypen huuhtoutumisriski kyseisiltä kasvupaikoilta on pieni. Useasti tehtävä typpilisäys saattaa lisätä nitrifikaatiota ja nitraattityypen muodostumista metsämaassa (Aarnio & Martikainen 1992, Smolander ym. 1995) ja siten myös nitraattityypen huuhtoutumista sekä ravinneköyhiltä että ravinne-rikkailta kasvupaikoilta. Typpilannoitus lisää typen nettominerali-saatiota ravinnerikailla kasvupaikoilla (Priha & Smolander 1995, Smolander ym. 1995) eli lisää kasvien käytettävissä olevan typen määrää vähentämällä typen sitoutumista mikrobibiomassaan (Smolander ym. 1994).

### 1.3 Lannoitus ja sienijuuret

Sienijuuri (mykorritsa) on sienen ja kasvin juuren muodostama rakenteelli-nen ja toiminnallinen kokonaisuus, jolla on todistettu olevan monia edullisia vaikutuksia kasveihin (Smith & Read 1997). Yleisimmät metsäpuumme; mänty, kuusi ja koivu, muodostavat metsämaan sienten kanssa ektomykor-ritsoja, jotka ovat ominaisia *Pinaceae*-, *Betulaceae*- ja *Fagaceae*-heimojen lajeille. Sienijuurisymbioosissa on kyse molemminpuolisesta hyötysuhtees-ta, mutualismista. Mykorritsasienet saavat puilta yksinkertaisia sokereita, joita ne käyttävät energialähteinään. Vastavuoroisesti mykorritsasienet edesauttavat puiden veden ja ravinteiden, erityisesti typen ja fosforin ottoa (Vogt ym. 1982) ja voivat toimia veden ja ravinteiden varastoina.

Boreaalisen havumetsävyöhykkeen metsämaalle on ominaista, että typen määrä maassa on suuri, mutta suurin osa tyyppistä on kasveille käyttökeltotomassa, orgaanisessa muodossa. Sienijuurisymbioosi antaa puille edun mykorritsattomiin kasveihin verrattuna, sillä useimmat mykorritsasienet pysty-vät sekä hajottamaan orgaanista ainesta että ottamaan ja kuljettamaan epäorgaanisessa muodossa olevia ravinteita maaperästä puuhun. Mykorritsoilla on suuri merkitys kasvien vesi- ja ravinnetaloudelle myös ravinneköyhillä ja usein myös kuivilla kasvupaikoilla, joilla kasvien kasvua ei rajoita ainoas-taan käyttökelpoisessa muodossa olevien ravinteiden vähyys, vaan myös ravinteiden kokonaismäärän vähyys ja metsämaan ravinnetalouden epätasa-paino.

Ektomykorritsojen tehokas ravinteiden otto ja kuljetus perustuu metsämaa-han laajalle levittäytyvään sienirihmastoon, jonka kasvutapa vaihtelee ympäristöolosuhteiden mukaan (Lindahl 2001). Ravinteiden varastoitumis-paikkana ektomykorritsassa toimii juurenkärjen peittävä mykorritsasienen muodostama vaippa, joka eristää juurenkärjen suorasta maakosketuksesta. Ravinteiden vaihto puun ja ektomykorritsasienen välillä tapahtuu juurenkär-jen sisärakenteisiin muodostuvassa Hartigin verkossa. Ulkoinen rihmasto, vaippa ja Hartigin verkko ovat ektomykorritsalle ominaisia rakenteita ja niiden biomassoissa tapahtuvat muutokset ovat merkittäviä puun veden ja ra-vinteiden otolle.

Sienten kokonaisbiomassan ei ole todettu vähenevän metsämaassa tuhkalannoituksen myötä (Fritze ym. 1994). Sen sijaan sitä, vaikuttaako tuhkalannoitus ektomykorritsojen sienibiomassaan ei vielä tiedetä. Paitsi että lannoitus voi vaikuttaa mykorritsojen muodostumiseen, se voi vaikuttaa myös niiden toimintaan ja siten sekä mykorritsasienen että mykorritsallisen kasvin veden ja ravinteiden oton tehokkuuteen. Häiriötä sienien ja kasvin vuorovaikutuksessa on epäilty usein syyksi kivennäismaiden tuhkalannoituskokeiden huonoihin puunkasvutuloksiin.

## 2 TUTKIMUKSEN TAVOITTEET

Tutkimuksen tavoitteena oli selvittää tuhkalannoituksen vaikutuksia kuusen mykorritsojen sienibiomassaan sekä metsämaan kemiallisiin ominaisuuksiin. Koska tyypellä tiedetään olevan merkitystä mykorritsojen toiminnalle, tutkimuksen toiseksi näkökulmaksi otettiin typpilannoituksen vaikutukset yhdessä tuhkan kanssa ja erikseen. Tutkimus toteutettiin sekä kenttäkokeena Evolla että kontrolloiduissa kasvatusolosuhteissa mikrokosmoskokeena Helsingin yliopiston ympäristöekologian laitoksella.

## 3 AINEISTO JA MENETELMÄT

### 3.1 Tutkimusalue ja käytetyt lannoitteet

Tutkimusalue oli OMT-kuusikko Evolla (liite 1; UPM Kymmene Oyj, kuviot 503 ja 561, kaista 24055). Lannoitushetkellä puuston rinnankorkeusikä kuviolla 503 oli 61 ja kuviolla 561 57 vuotta, kuusen osuus puustosta vastaavasti 81 ja 87 %. Muina puulajeina olivat mänty ja rauduskoivu (UPM-Kymmene Oyj, kirj. ilm.).

Tuhka hankittiin UPM-Kymmene Oyj:n Voikkaan paperitehtaalta (kuusen kuorituhka). Mikrokosmoskokeessa käytetyn tuhkan koostumus oli analysoitu Metsäntutkimuslaitoksen laboratoriossa (taulukko 1). Kenttäkokeessa käytetyn tuhkan (eri hankintaerä) koostumusta ei analysoitu, vaan sen oletettiin olevan suunnilleen sama kuin mikrokosmoskokeessa käytetyn tuhkan. Typpilannoitteena käytettiin kenttäkokeessa Suomen salpietaria (Kemira Ltd.) ja mikrokosmoskokeessa ammoniumnitraattia (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>).

TAULUKKO 1 Voikkaan paperitehtaan kuusenuorituhkan koostumus (Metsäntutkimuslaitos, J. Issakainen, kirj. ilm.). Pitoisuudet mg g<sup>-1</sup>. 9 mittausta.

Alkuaine	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu	B	Al	Cr	Ni	Cd
Mediaani	9,4	28	351	18	11	9,6	2,4	0,08	0,2	0,01	0,06	0,07	0,02
Min	8,6	22	320	16	10	8,7	1,9	0,07	0,17	0,01	0,06	0,04	0,01
Max	9,9	33	369	19	14	10,4	3,0	0,10	0,22	0,01	0,08	0,10	0,02

### 3.2 Koeasetelmat ja näytteenotto

Kenttäkoetta varten maastoon merkittiin puupaluilla neljään blokkiin 24 kpl 30 m x 30 m ruutuja (kuva 1). Ruutujen väliin jätettiin vähintään 10 m:n ja blokkien väliin 30 m:n suojakaistat. Blokkien sisällä käsittelyt (taulukko 2) arvottiin kukin yhdelle kuudesta ruudusta.

Kuva H. Jokinen



**Kuva 1.** Evon tutkimusalue.

Lisättävä tuhkan määrä laskettiin siten, että fosforin määrä oli 30 kg/ha. Typpilannoitustasot olivat 100 ja 200 kg N ha<sup>-1</sup>. Tuhkan ja typen levitys tehtiin viikolla 21 vuonna 2000.

Ennen lannoitteiden levittämistä kenttäkokeen kaikilta ruuduilta kerättiin maanäytteet perustilanteen kartoittamiseksi. Kokeiden vaikutuksia tutkittiin näytteistä, jotka kerättiin 3.10.2000 ja 18.9.2001. Maanäytteet otettiin teräsputkella (läpimitta 3 cm) n. 30 cm:n syvyyteen 10 pisteestä systemaattisesti ruudun poikki kulkevalta linjalta ja kunkin ruudun näytteet homogenisoitiin kokoomanäytteeksi. Maaperän kivisyys esti näytteenoton vakiosyvyyteen. Humuskerros ja mineraalimaa eroteltiin omiksi näytteikseen. Näytteet säilytettiin pakastettuina.



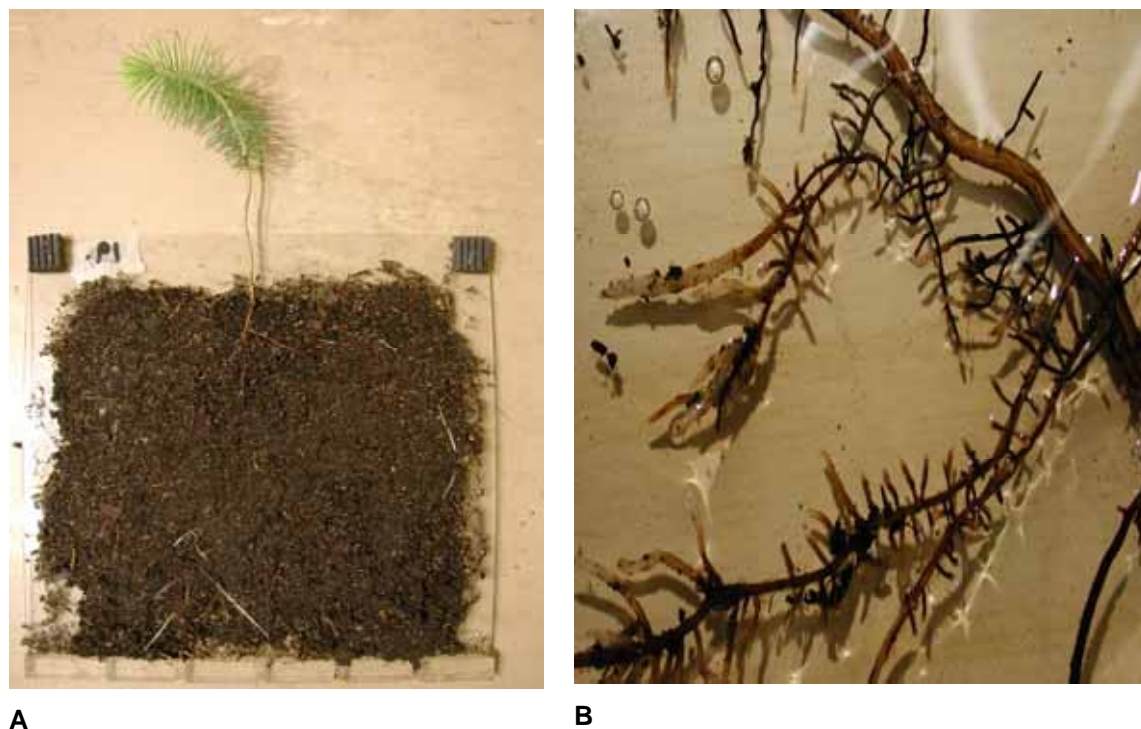
TAULUKKO 2 Käsittelyt kenttäkokeessa ja mikrokosmoskokeessa, käsittelyistä käytettävät lyhenteet ja toistojen määrä.

Käsittely	Lyhenne	Toistojen määrä	
		Kenttäkoe	Mikrokosmoskoe
Kontrolli	T0N0	4	7
Tuhka	T1N0	4	9
Typpi 100 kg N ha <sup>-1</sup>	T0N1	4	7
Typpi 200 kg N ha <sup>-1</sup>	T0N2	4	7
Tuhka + Typpi 100 kg N ha <sup>-1</sup>	T1N1	4	8
Tuhka + Typpi 200 kg N ha <sup>-1</sup>	T1N2	4	8

Mikrokosmoskoetta varten kasvatettiin kuusen taimia eteläsuomalaisista kylvösiemenistä (Forelia Oy, Saarijärven siemenkeskus, SV 235, Sillanpää, siemenerä M29000024). Siemenet kylvettiin kasvualustalle, johon oli sekoitettu Evon OMT-kuusikosta kerättyä humusta ja puhallushiekkää (raekoko 0,1–0,6 mm) suhteessa 3:1 (vv). Kasvualusta oli levitetty n. 0,5 cm:n kerrokseksi kahden läpinäkyvän muovilevyn (20 cm x 20 cm) väliin (kuva 2). Tuhka sekoitettiin kasvualustaan siten, että siementen alla oli n. 1 cm:n kerros tuhkatonta maata. Typpi lisättiin ammoniumnitraattina 7 kk:n kuluttua kylvöstä. Kasvualustan orgaanisen aineksen pitoisuus oli 0,35 g g<sup>-1</sup> ja pH (CaCl<sub>2</sub>) 4,2. Kasvualustan, johon oli lisätty tuhkaa, orgaanisen aineksen pitoisuus oli 0,32 g g<sup>-1</sup> ja pH 7,3.

Tuhkan määrä vastasi käytännön tuhkalannoituskokeissa käytettyjä määriä (4 500 kg tuhkaa ha<sup>-1</sup>), mikä vastaa fosforilannoitustasoa 40 kg ha<sup>-1</sup>. Typen määrät olivat samat kuin kenttäkokeessa.

Viiden toiston takaamiseksi siemeniä kylvettiin ylimäärin ja hyvän itämisen ja taimien alkukehityksen vuoksi toistoja oli 7–9 käsittelyä kohti (taulukko 2). Taimia kasvatettiin kasvatushuoneessa n. 20 °C:n lämpötilassa. Lämpötila valolta suojatussa juuristossa oli 16 °C pimeänä ja 19–24 °C valoisana aikana. Valaistusvoimakkuus oli ensimmäisen 1,5 kk:n ajan keskimäärin 159 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (vaihteluväli 132–193 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) ja loppuajan 250 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (180–325 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>). Vuorokausirytmä oli 16 tuntia valoisaa ja 8 tuntia pimeää. Kasvatusviikolla 16 kasvualustalle juurten läheisyyteen sijoitettiin nuoren kuusen juuria, humusta ja siinä kasvavaa sienirihmastoja mykorritsojen muodostumisen nopeuttamiseksi. Taimien ja juurten kasvua sekä mykorritsan muodostumista seurattiin silmämääräisesti viikoittain.



**Kuva 2.** A) Mikrokosmos ja B) kuusen juuristoa mikrokosmoskokeen loputtua.

### 3.3 Analyysit ja tilastollinen testaus

Maanäytteiden pH mitattiin 0,01 M  $\text{CaCl}_2$  -liuoksesta sekoitussuhteella 1:5 (vv). Ravinteiden ( $\text{NH}_4^+$ -N,  $\text{NO}_3^-$ -N) määrittämiseksi maa uutettiin 1 M KCl -liuoksella uutussuhteella 1:5 (vv). Ravinteet määritettiin spektrofotometrisesti Lachat -autoanalysaattorilla. Kosteuden määrittämiseksi maanäytteet kuivatettiin yön yli lämpökaapissa ( $105\text{ }^\circ\text{C}$ ). Organisen aineksen määrittämiseksi maanäytteet poltettiin kuivattamisen jälkeen  $485\text{ }^\circ\text{C}$ :ssa (4 h). Sienten biomassa määritettiin kuusen hienojuurista ja maasta mittaamalla sienispesifisen ergosterolin määrä HPLC:llä (Salmanowicz & Nylund 1988; Nylund & Wallander 1992). Mikrokosmoskokeessa juurenkärjet (satunnaisesti 100 juurenkärkeä / mikrokosmos) jaettiin neljään luokkaan stereomikroskoopin avulla. Mikrobibiomassa ja sen N-pitoisuus määritettiin fumigaatio-ekstraktio-menetelmällä (Brookes ym. 1985a; b; Sparling & Williams 1986; Vance ym. 1987; Williams ym. 1995). Neulasten kokonaisuustyyppipitoisuus määritettiin Leco C/N -analysaattorilla. Mikrokosmoskokeessa taimien pituus mitattiin tyvestä taimen kärkikasvupisteeseen ennen typpilisäystä ja uudelleen kokeen purkuvaiheessa. Taimien kunto arvioitiin kokeen lopussa neulasten värin perusteella.

Kenttäkokeen aineisto testattiin toistettujen mittauksien kolmisuuntaisella varianssianalyysillä (repeated MANOVA, faktoreina tuhka, typpi ja blokki). Jos yhdysvaikutus oli merkitsevä, hylättiin päävaikutuksen MANOVA-tulokset ja tutkittiin erikseen tuhkan, typen ja blokin yksinkertaiset vaikutukset (simple effects). Mikrokosmoskokeen taimien kasvuaineisto testattiin kaksisuuntaisella varianssianalyysillä (MANOVA, faktoreina tuhka ja typpi). Jos yhdysvaikutus oli merkitsevä, hylättiin päävaikutuksen MANOVA-tulokset ja tutkittiin erikseen tuhkan ja typen yksinkertaiset vaikutukset (simple effects). Muut muuttujat testattiin yksitellen samoin kaksisuuntaisella varianssianalyysillä (ANOVA).

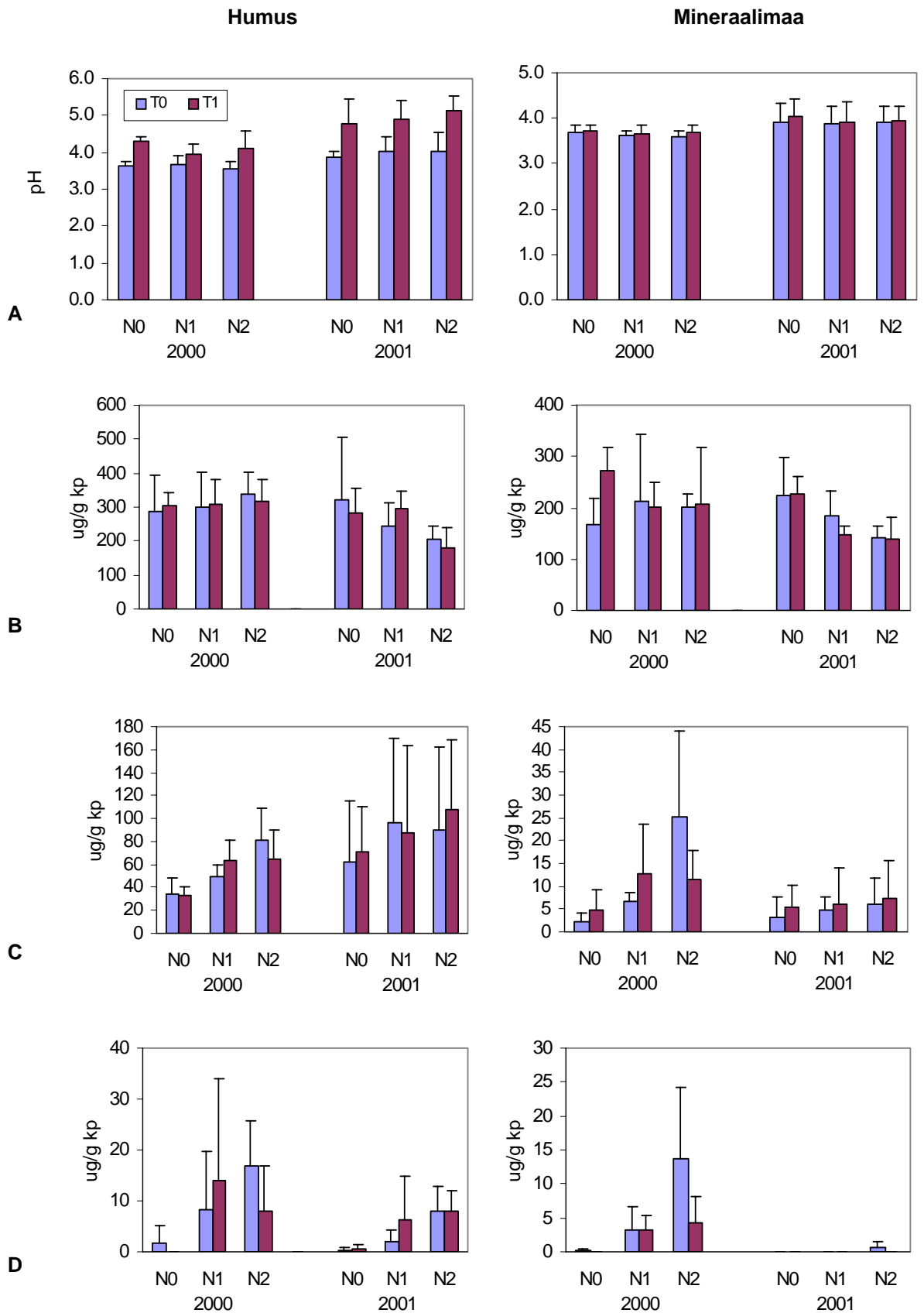
## 4 TULOKSET

### 4.1 Kenttäkoe

Humuksen pH vaihteli välillä 3,56–5,13 ja mineraalimaan 3,58–4,04 (kuva 3). Tuhka nosti humuksen pH:ta (taulukko 3). Kolme kuukautta tuhkalannoituksen jälkeen humuksen pH oli kohonnut n. 0,5 pH-yksikköä ja vuosi tuhkalannoituksen jälkeen n. 1,5 pH-yksikköä tuhkattomiin käsittelyihin verrattuna. Typellä ei ollut vaikutusta humuksen happamuuteen. Mineraalimaan happamuuteen tuhalla tai typellä ei ollut vaikutusta. Tutkimusvuosien välillä oli vaihtelua, jota ei voida selittää käsittelyillä tai koejärjestelyillä (taulukko 4).

Kuusen hienojuurten sienibiomassa vaihteli humuksessa 182–337  $\mu\text{g}$  ergosterolia  $\text{g}^{-1}$  kp ja mineraalimaassa 140–274  $\mu\text{g}$  ergosterolia  $\text{g}^{-1}$  kp (kuva 3). Humuksessa tuhka tai typpi eivät siihen vaikuttaneet, mutta mineraalimaassa typpi vähensi juurten sienibiomassaa, esim. v. 2001 suurimman typpilannoituksen saaneissa käsittelyissä juurten sienibiomassa oli 40 % pienempi typpettömiin käsittelyihin verrattuna.

Humuksen  $\text{NH}_4^+$ -typpikonsentraatiot vaihtelivat 33–108  $\mu\text{g}$   $\text{g}^{-1}$  kp ja  $\text{NO}_3^-$ -typpikonsentraatiot 0–17  $\mu\text{g}$   $\text{g}^{-1}$  kp (kuva 3). Käsittelyiden vaikutus molempiin oli samansuuntainen sekä humuksessa että mineraalimaassa. Tuhka ei vaikuttanut, mutta typpi nosti  $\text{NH}_4^+$ - ja  $\text{NO}_3^-$ -typpikonsentraatioita (taulukko 3). Näytteenottovuosien välillä oli eroja typpikonsentraatioissa (taulukko 4). Mineraalimaassa vuosien väliset erot typen määrissä olivat selvästi suuremmat kuin humuksessa. Suuret pitoisuudet kolmen kuukauden kuluttua lannoituksesta olivat huomattavasti pienentyneet seuraavana vuonna.



**Kuva 3.** A) Metsämaan pH, B) kuusen hienojuurten sienibiomassa (ergosterolikonsentraatio), C)  $\text{NH}_4^+$  - ja D)  $\text{NO}_3^-$  -typpikonsentraatio. Keskiarvo ja SD, n=4, paitsi kuvassa B n=3. Käsittelyjen lyhenteet selitetty taulukossa 2.

TAULUKKO 3 Tuhkan, typen sekä blokin vaikutus metsämaan happamuteen, kuusen hienojuurten sienibiomassaan (ergosterolikonsentraatio) ja maan ammonium- ja nitraattityppikonsentraatioihin kenttäkokeessa Evolla (repeated MANOVA).

	Tuhka		Typpi		Tuhka*Typpi		Blokki	
	F	p	F	p	F	p	F	p
Humus								
pH	26,537	0,000	0,057	0,945	0,274	0,764	0,074	0,973
Ergosteroli	0,004	0,951	0,790	0,480	0,357	0,708	2,457	0,136
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	0,110	0,745	11,978	0,001	0,019	0,981	26,066	0,000
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	0,003	0,961	6,033	0,012	1,308	0,299	3,203	0,054
Mineraalimaa								
pH	1,567	0,231	1,0775	0,367	0,066	0,937	15,413	0,000
Ergosteroli	0,543	0,478	4,145	0,049	2,371	0,144	2,839	0,106
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	0,002	0,961	6,457	0,009	2,501	0,116	6,923	0,004
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	3,527	0,080	8,586	0,003	3,315	0,064	1,984	0,160

TAULUKKO 4 Näytteenottokerran vaikutus maan happamuteen, kuusen hienojuurten sienibiomassaan (ergosterolikonsentraatio) ja maan ammonium- ja nitraattityppikonsentraatioihin kenttäkokeessa Evolla (repeated MANOVA).

	Vuosi		Vuosi*Tuhka		Vuosi*Typpi		Vuosi*Blokki		Vuosi*Tuhka*Typpi	
	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p
pH	52,684	0,000	4,492	0,033	1,135	0,360	8,518	0,000	1,435	0,249
Ergosteroli	2,801	0,113	0,370	0,701	1,231	0,330	0,616	0,656	0,310	0,868
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> - ja NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	27,809	0,000	0,667	0,627	2,076	0,076	2,963	0,005	1,109	0,389

## 4.2 Mikrokosmoskoe

Tuhka vähensi taimien pituuskasvua ensimmäisten kuuden kuukauden aikana n. 25 % (F=9,723, p=0,003). Kokeen lopussa neulaset olivat vihreitä tai vain vähän keltaisia, paitsi tuhkan ja suurimman typpilisäyksen käsittelyssä (T1N2), missä suurin osa neulasista (62 %) oli keltaisia tai jopa kuivuneita (taulukko 5). Usein myös juuristo oli tällöin huonokuntoinen. Typpilisäyksen jälkeen (7 kk kylvöstä) tuhkalla ei enää ollut vaikutusta taimien kasvuun (taulukko 6). Myöskään typpellä ei ollut vaikutusta. Tuhka vähensi neulasten typpipitoisuutta, joka oli tuhkatommassa käsittelyssä (T0) keskimäärin 21 mg g<sup>-1</sup> kp, mutta tuhkakäsittelyissä (T1) vain 10 mg g<sup>-1</sup> kp. Typpi vaikutti päinvastoin eli lisäsi neulasten typpipitoisuutta 16 mg:sta (N0) 19 (N1) ja 24 (N2) mg:aan g<sup>-1</sup> kp (taulukko 6).

TAULUKKO 5 Kuusen taimien kunto mikrokosmoskokeen lopussa neulasten värin perusteella (prosentteina kaikista taimista). Käsittelyjen lyhenteet selitetty taulukossa 2.

	T0N0	T0N1	T0N2	T1N0	T1N1	T1N2
Vihreä	43	71	43	100	63	38
Keltaista / ruskeaa	57	29	43		37	
Paljon keltaista / ruskeaa			14			24
Kuivunut						38

TAULUKKO 6 Tuhkan ja typen vaikutus kuusen taimien kasvuun (neulasten, rungon, paksujen juurten ja hienojuurten biomassat) ja neulasten typpipitoisuuden mikrokosmoskokeessa (ANOVA).

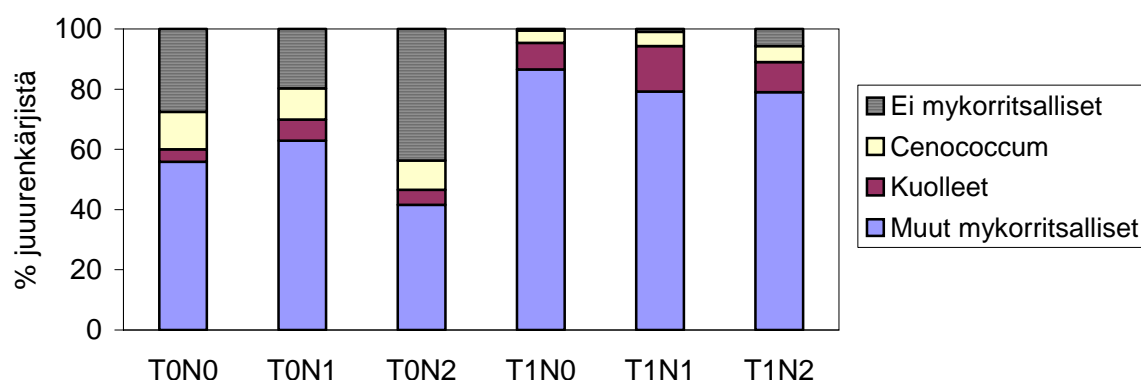
	Tuhka		Typpi		Tuhka*Typpi	
	F	p	F	p	F	p
Kasvu	0,514	0,478	3,117	0,055	0,712	0,497
Neulasten N-pitoisuus	7,867	0,000	19,356	0,000	0,005	0,995

Mykorritsan muodostuminen taimien juurenkärkiin oli hidasta. Vasta viimeisten kahden kuukauden aikana juurenkärkien morfologiassa alkoi tapahtua mykorritsainfektioon viittaavia muutoksia (kuva 2). Kokeen lopussa mykorritsallisiksi arvioitiin pulleat juurenkärjet. Selvästi erottuvan mustan mykorritsan (*Cenococcum geophilum*, Fr) lukumäärä arvioitiin erikseen, muut luokiteltiin yhdeksi ryhmäksi. Vaaleat ja hennot juurikarvojen peittämät hienojuuret luokiteltiin mykorritsattomiksi ja kuivan ja huonokuntoisen näköiset kuolleiksi. Tuhkakäsittelyissä mykorritsallisia juuria oli suhteellisesti enemmän kuin tuhkatommista käsittelyissä (kuva 4). Hienojuurten sienibiomassassa (ergosterolikonsentraatio) ei kuitenkaan ollut mitään eroja käsittelyjen välillä (taulukko 7). Vaihtelu oli 153–244 µg ergosterolia g<sup>-1</sup> kp (kuva 5).

Ektomykorritsan ulkoista rihmastoja ei silmämääräisesti arvioiden kehittynyt tutkimusjakson aikana. Tämän vuoksi ergosterolin määrää maassa on käsiteltävä maan kokonaissienibiomassana (ektomykorritsasienet ja lahottajasienet yhdessä). Se vaihteli 46–127 µg ergosterolia g<sup>-1</sup> kp (kuva 5). Tuhka vähensi maan sienibiomassaa kaikilla typpilannoitustasoilla keskimäärin 55 % (simple effects). Typpellä ei ollut vaikutusta. Tuhka lisäsi mikrobien kokonaisbiomassan (sienet ja bakteerit) typpimäärää silloin, kun typpeä ei lisätty, mutta vähensi sitä suurimmalla typpitasolla. Typpi lisäsi mikrobien kokonaisbiomassan typpimäärää, jos tuhkaa ei lisätty, mutta vähensi sitä tuhkakäsittelyissä (simple effects).

Tuhka vähensi maan ammoniumtyppikonsentraatiota kaikilla typpilannoitustasoilla (simple effects). Typpi lisäsi maan ammoniumtyppikonsentraatiota ainoastaan tuhkattomissa käsittelyissä (kuva 5). Tuhkalla yksinään ei ollut vaikutusta maan nitraattityppikonsentraatioon. Sen sijaan yhdessä tyypin kanssa tuhka lisäsi sitä huomattavasti (simple effects). Typpi lisäsi nitraattityppikonsentraatiota.

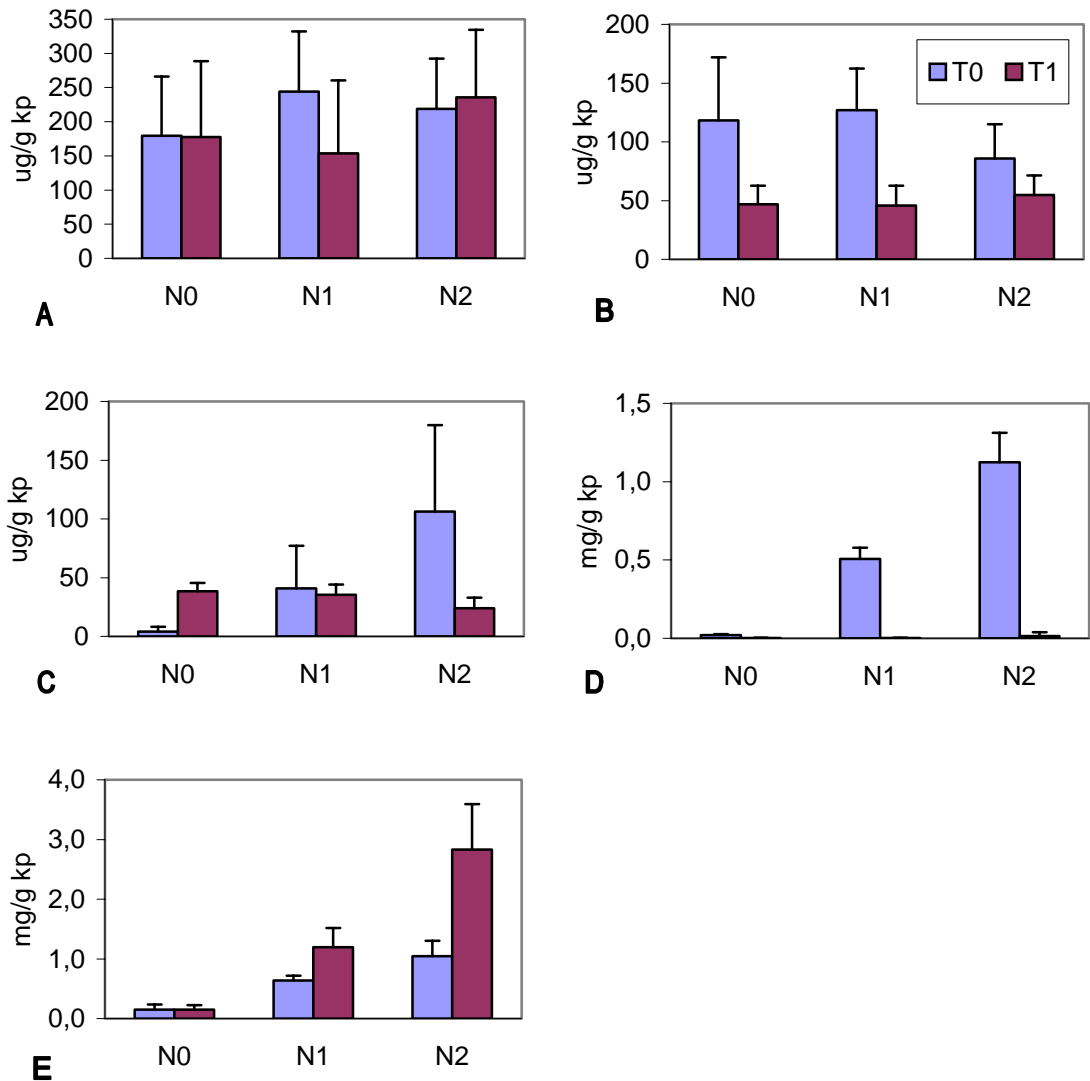
Tuhkattomassa maassa pH laski kokeen kuluessa 4,2:sta 3,8:aan. Tuhka nosti maan pH:ta 7,3:een ja se pysyi kokeen kuluessa samana. Typellä ei ollut vaikutusta maan happamuuteen.



**Kuva 4.** Mykorritsaalisten ja erikseen mustien (*Cenococcum geophilus*) mykorritsaalisten sekä kuolleiden ja ei-mykorritsaalisten juurenkärkien suhteelliset osuudet kuusen taimien juurissa kokeen päätyttyä. Käsitelyjen lyhenteet selitetty taulukossa 2.

**TAULUKKO 7** Tuhkan ja tyypin vaikutus kuusen hienojuurten sienibiomassaan, maan sienibiomassaan, mikrobien N-pitoisuuteen sekä maan ammonium- ja nitraattityppikonsentraatioihin ja happamuuteen (ANOVA).

	Tuhka		Typpi		Tuhka * Typpi	
	F	p	F	p	F	p
Juurten sienibiomassa	2,420	0,130	2,559	0,094	1,150	0,330
Maan sienibiomassa	38,058	0,000	1,073	0,354	3,704	0,036
Mikrobien typpipitoisuus	6,867	0,013	14,020	0,000	21,349	0,000
Maan NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	135,841	0,000	14,404	0,000	5,543	0,009
Maan NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	12,700	0,001	130,996	0,000	8,043	0,002
pH	46,937	0,000	0,773	0,470	0,922	0,408



**Kuva 5.** A) Kuusen hienojuurten sienibiomassa, B) maan sienibiomassa, C) maan mikrobibiomassan tyypipitoisuus, D) maan NH<sub>4</sub><sup>+</sup> - ja E) NO<sub>3</sub><sup>-</sup> -typpi-konsentraatio keskiarvo ja SD, n=7-9. Käsittelyjen lyhenteet selitetty taulukossa 2.

## 5 JOHTOPÄÄTÖKSET

Tuhkalannoituksella voidaan vähentää metsämaan pintaosan happamuutta, ja jo aiemmissa tutkimuksissa (Saarsalmi & Mälkönen 2001) todettu pH:n nousu oli tässäkin tutkimuksessa selvä, jopa 1,5 pH-yksikköä vuoden kuluttua lannoituksesta maastokokeessa ja 3 pH-yksikköä mikrokosmoskokeessa. Karike- ja humuskerroksessa elävät maaperäeliöt ovat kuitenkin sopeutuneet happamaan elinympäristöön ja äkillinen muutos elinympäristön fysikaalisissa tai kemiallisissa ominaisuuksissa voi vaikuttaa haitallisesti niiden esiintymiseen, elintoihintoihin ja diversiteettiin (Liiri 2001). Metsämaan eliöyhteisöjen muutoksista ei kuitenkaan tiedetä tarpeeksi, jotta voitaisiin arvioida lajistomuutosten merkitystä ekosysteemin perustoimintojen (ravinteiden kierto, orgaanisen aineksen hajotus) kannalta.



Tutkimuksessamme tuhka- ja typpilannoituksen vaikutuksista metsämaan ektomykorrittsasieniin havaittiin kuusen hienojuurten sienibiomassan vähentyneen mineraalimaassa typpilannoituksen vaikutuksesta jopa 40 %, kun taas tuhkalla ei ollut vaikutusta. Tutkimustuloksemme puoltaa aiempia tutkimustuloksia, joiden mukaan ravinnerikkailla kasvupaikoilla typpilannoitus saattaa heikentää mykorritsojen rakennetta (Laiho ym. 1987) ja siten myös vähentää mykorritsojen sienibiomassaa ja niiden veden ja ravinteiden oton tehokkuutta. Mikrokosmoskokeessa tuhka tai typpi eivät vaikuttaneet hienojuurten sienibiomassaan, mutta maassa elävän sienirihmaston määrä väheni tuhkan vaikutuksesta n. 55 %. Mykorrittsasienten ulkoisen rihmaston merkitys puiden ravinteiden saannin kannalta on osoitettu useissa tutkimuksissa (Dighton 1991, Read 1984), mutta sen tutkimisessa on vielä monia metodologisia ongelmia. Tutkimustuloksemme perusteella ei voida vielä todistaa, että tuhkalannoitus vähentää nimenomaan mykorrittsasienten ulkoista rihmastoa, sillä analyysissä mitattiin sekä lahottaja- että mykorrittsasienten biomassa. Kuitenkin se havainto, että tuhka vähensi myös taimien neulasten typpipitoisuutta n. 50 %, antaa viitteitä siitä, että mykorritsan toiminta on saattanut tässä tilanteessa häiriintyä ja vähentynyt sienibiomassa olisi nimenomaan mykorrittsasienten ulkoista rihmastoa. Kalkituksella on samanlaisia vaikutuksia metsämaan happamuuteen ja maanesteen ionivahvuuteen kuin tuhkalla. Kalkituskokeissa on myös todettu kuolleiden mykorritsojen osuuden kasvavan kuusen juuristossa (Lehto 1994). Tämä viittaa siihen, että pH:n nousulla voi olla suoria haittavaikutuksia mykorrittsasieniin. Kaikenkaikkiaan mykorritsojen vaste muuttuneisiin olosuhteisiin voi tapahtua viiveellä siten, että häiriö ilmenee niiden toiminnassa nopeammin kuin rakenteelliset vauriot kehittyvät. Häiriö voi kehittyä kenttäoloissa hitaammin kuin mikrokosmoskokeessa, jossa käytettiin siementaimia.

Tuhkan on joissain kokeissa todettu kiihdyttävän nitrifikaatiota. Tähän viittaa myös mikrokosmoskokeemme tulos, jossa ammoniumtyppi hävisi tuhkalannoitetuissa käsittelyissä ja nitraattitypen määrä vastaavasti kasvoi. Kenttäkokeessa vastaavaa ei havaittu, mutta siellä mahdollisesti muodostunut nitraattityppi on voinut huuhtoutua syvempiin maakerrokseen tai joutua runsaan kasvillisuuden käyttöön. Kenttäkokeessa ammonium- ja nitraattitypen konsentraatiot olivat muutoinkin vain noin kymmenesosa mikrokosmoskokeen konsentraatioista, joten tulosten vertaaminen ei ole yksiselitteistä. Mikrokosmoskokeen tulos lisääntyneestä nitraattitypen määrästä tuhkalannoituksen seurauksena todistaa kuitenkin, että nitrifikaatiomekanismi on olemassa ja on potentiaalinen riskitekijä myös luonnonoloissa tuhkalannoituksen yhteydessä. Vaikka ravinteiden huuhtoutuminen on yleensä koettu ongelmaksi turvemaidella, myös ravinteisissa kivennäismaiden metsäkoissa huuhtoutumisriski on huomioitava metsätaloustoimenpiteitä suunniteltaessa. Tuhka- ja typpilannoitukseen liittyvä huuhtoutumisriski koskee erityisesti nitraattityppeä, joka ei juurikaan pidäty maahan.

Lannoitus voi vaikuttaa sienijuurisymbioosiin suoraan, jolloin on kyse metsämaan kemiallisissa ja fysikaalisissa ominaisuuksissa tapahtuvien muutoksien vaikutuksista symbioosiin. Lannoituksen vaikutukset voivat olla myös

epäsuoria, jolloin kyse on eliöiden toiminnan, kuten ravinteiden oton ja käytön kautta välittyvistä vaikutuksista tai mykorritsasienten kilpailuaseman muuttumisesta maaperän eliöyhteisössä. Tässä tutkimuksessa ei voida erottaa kyseisiä vaikutuksia toisistaan, sillä tuhalla ja typpellä on sekä suoria että epäsuoria vaikutuksia. Esim. mikrokosmoskokeessa havaittu neulasten typpipitoisuuden pieneneminen tuhkan vaikutuksesta voi olla sekä syy että seuraus mykorritsan toiminnan muutoksista.

Tutkimuksemme antoi vastauksia työn taustalla oleviin avoimiin kysymyksiin siitä, mitä muutoksia metsämaan toiminnassa tuhka ja typpi voivat aiheuttaa. Loppupäätelmänä on, että tuhkalannoituksen yhteydessä on huomioitava kaksi merkittävää riskitekijää: rakenteelliset ja toiminnalliset muutokset kuusen mykorritsasienillä ja nitrifikaation voimistuminen ja sen seurauksena nitraattitypen huuhtoutuminen vesistöihin ja pohjavesiin.

Jos tuhkalannoituksen tavoitteena on korvata huuhtoutumisen ja hakkuutähteiden korjuun myötä aiheutuvaa metsämaan ravinnehävikkiä, voidaan puutuhkaa käyttää tähän tarkoitukseen. Puutuhkan käyttämisestä kasvunlisäajänä kivennäismaiden metsiköissä ei sen sijaan ole riittävästi pitkäaikaisiin tutkimuksiin perustuvia tuloksia. Koska tuhkalannoitukseen liittyy myös koko valuma-aluetta koskevia riskitekijöitä, voidaan puutuhkan käyttämistä nykytiedon perusteella suositella ainoastaan keskiravinteisille metsätyypeille, jotka eivät sijaitse pohja-vesialueilla. Typen, erityisesti nitraattitypen, huuhtoutumista on tällöin kuitenkin syytä seurata ennen kuin laajamittainen tuhkalannoitus otetaan käytännön metsänkäsittelytoimenpiteeksi.

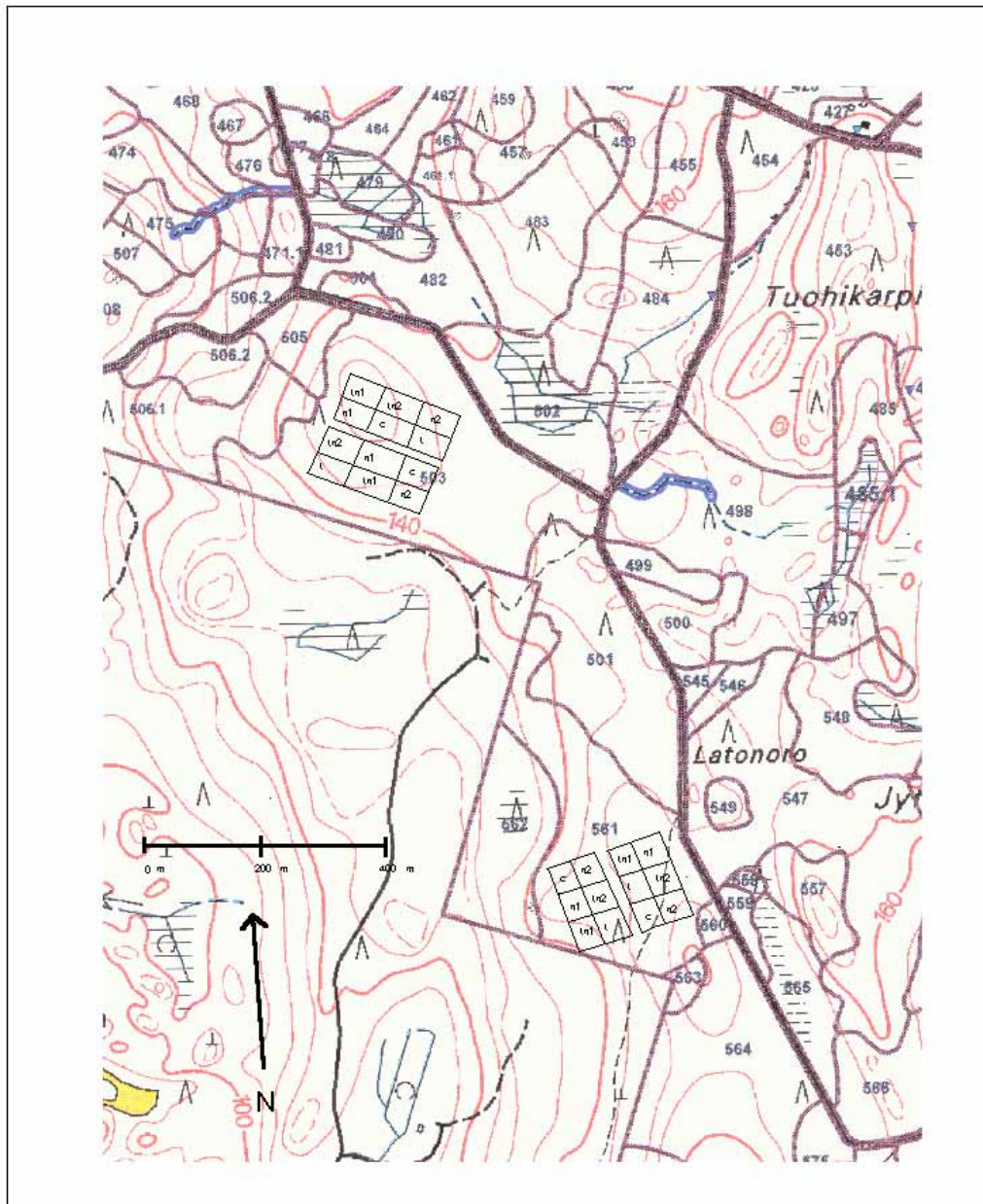
## 6 KIRJALLISUUS

- Aarnio, T. & Martikainen, P.** 1992. Nitrification in forest soil after re-fertilization with urea or urea and dicyandiamide. *Soil. Biol. Biochem.* 24:951-954.
- Brookes, P.C., Kragt, J.F., Powelson, D.S. & Jenkinson, D.S.** 1985a. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen. *Soil Biol. Biochem.* 17:831-835.
- Brookes, P.C., Landman, A., Pruden, G. & Jenkinson, D.S.** 1985b. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biol. Biochem.* 17:837-842.
- Dighton, J.** 1991. Acquisition of nutrients from organic resources by mycorrhizal autotrophic plants. *Expertia* 47:362-369.
- Fritze, H. & Perkiömäki, J.** 1999. Puuntuuhkan vaikutus humuskerroksen mikrobistoon kangasmaalla. Metsätehon raportti 82. Metsäteho Oy. Helsinki. 17 s.
- Fritze, H., Smolander, A., Levula, T., Kitunen, V. & Mälkönen, E.** 1994. Wood ash fertilization and fire treatments in a Scots pine forest stand: effects on the organic layer, microbial biomass and microbial activity. *Biology and Fertility of Soils* 17:57-63.
- Gustavsen, H. G. & Lipas, E.** 1975. Effect of nitrogen dosage on fertilizer response. *Folia For.* 246. 20 s.
- Laakkonen, O., Keipi, K. & Lipas, E.** 1983. Profitability of nitrogen fertilization in mature forests on mineral soils. *Folia For.* 577. 20 s.
- Laiho, O., Sarjala, T., Hyvärinen, R. & Rautiainen, L.** 1987. Effects of fertilization on mycorrhizae in pine stands. *Folia For.* 699. 22 s.
- Lehto, T.** 1994. Effects of soil pH and calcium on mycorrhizas of *Picea abies*. *Plant Soil* 163:69-75.
- Liiri, M.** 2001. Complexity of soil faunal communities in relation to ecosystem functioning in coniferous forest soil – a disturbance oriented study. *Jyväskylä Studies in Biological and Environmental Science* 104. 36 s.
- Lindahl, B.** 2001. Nutrien Cycling in Boreal Forests – a Mycological Perspective. *Silvestria* 214. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala.

- Ludwig, B., Heil, B., Flessa, H. & Beese, F.** 2000. Use of  $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$  mass spectrometry to study the decomposition of *Calamagrostis epigeios* in soil column experiments with and without ash additions. *Isotopes Environ Health Study* 36:49-61.
- Moilanen, M. & Issakainen, J.** 2000. Tuhkalannoituksen metsävaikutukset. Metsätehon raportti 93. Metsäteho Oy. Helsinki. 38 s. 15 liitettä.
- Mälkönen, E.** 1982. Kangasmetsien lannoitus (Forest fertilization on mineral soils). *In* Operaatio metsälannoitus 20 vuotta – Entä tästä eteenpäin. s. 7-13.
- Nylund, J.-E. & Wallander, H.** 1992. Ergosterol analysis as a means of quantifying mycorrhizal biomass. *Methods in Microbiol.* 24:77-88.
- Ohtonen, R. & Tuohenmaa, H.** 1999. Tuhkalannoituksen vaikutus männyn ektomykorritsasymbioosiin kangasmailla. Metsätehon raportti 84. Metsäteho Oy. Helsinki. 18 s.
- Perkiömäki, J. & Fritze, H.** 2002. Short and long-term effects of wood ash on the boreal forest humus microbial community. *Soil Biology & Biochemistry* 34:1343-1353.
- Persson, T., Lundkvist, H., Wiren, A., Hyvönen, R. & Wessen, B.** 1989. Effects of acidification and liming on carbon and nitrogen mineralization and soil organisms in mor humus. *Water, Air and Soil Pollution* 54:351-364.
- Priha, O. & Smolander, A.** 1994. Fumigation-extraction and substrate-induced respiration derived microbial biomass C and respiration rate in limed soil of Scots pine sapling stand. *Biology and Fertility of Soils* 17:301-308.
- Priha, O. & Smolander, A.** 1995. Nitrification, denitrification and microbial biomass N in soil from two N-fertilized and limed Norway spruce forests. *Soil. Biol. Biochem.* 27:305-310.
- Read, D. J.** 1984. The structure and function of the vegetative mycelium of the mycorrhizal roots. Kirjassa D. H. Jennings & A. D. M. Rayner (Toim.), Symposium of British Mycological Society. The ecology and physiology of the fungal mycelium. Cambridge University Press.
- Saarsalmi, A. & Mälkönen, E.** 2001. Forest Fertilization Research in Finland: A Literature Review. *Scand. J. Res.* 16:514-535.

- Salmanowicz, B. & Nylund, J.-E.** 1988. High performance liquid chromatography determination of ergosterol as a measure of ectomycorrhiza infection in Scots pine. *Eur. J. Forest Path.* 18:291-298.
- Smith, S. E. & Read, D. J.** 1997. Mycorrhizal symbiosis. Academic press. 587 s. San Diego.
- Smolander, A., Kitunen, V., Priha, O. & Mälkönen, E.** 1995. Nitrogen transformations in limed and nitrogen fertilized soil in Norway spruce stands. *Plant Soil* 172:107-115.
- Smolander, A., Kurka, A., Kitunen, V. & Mälkönen, E.** 1994. Microbial biomass C and N, and respiratory activity in soil of repeatedly limed and N- and P-fertilized Norway spruce stands. *Soil. Biol. Biochem.* 26:957-962.
- Sparling, G. P. & Williams, B.L.** 1986. Microbial biomass in organic soils: estimation of biomass C, and effect of glucose or cellulose amendments on the amounts of N and P released by fumigation. *Soil Biol. Biochem.* 18:507-513.
- Vance, E. D., Brookes, P. C. & Jenkinson, D. S.** 1987. Microbial biomass measurements in forest soils: the use of the chloroform fumigation-incubation method in strongly acid soils. *Soil Biol. Biochem.* 19:697-702.
- Viro, P. J.** 1972. Die Walddüngung auf finnischen Mineralböden. *Folia For.* 138. 19 s.
- Vogt, K. A., Grier, C. C., Meier, C E. & Edmonds, R. L.** 1982. Mycorrhizal role in net primary production and nutrient cycling in *Abies amabilis* ecosystems in Western Washington. *Ecology* 63:370-380.
- Williams, B. L., Shand, C. A., Hill, M., O'Hara, C., Smith, S. & Young, M. E.** 1995. A procedure for the simultaneous oxidation of total soluble nitrogen and phosphorus in extracts of fresh and fumigated soils and litters. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 26:91-106.

## TUHKALANNOITUSKOE V. 2000–2002, EVO



Hanna Jokinen  
Helsingin yliopisto, ympäristöekologian laitos