



**SÜSINIKU JA LÄMMASTIKU ISOTOOPSUHETE
ANALÜÜS: PARIMA EELTÖÖTLUSMEETODI
VALIMINE JA SELLE TESTIMINE
PALEOLIMNOLOOGILISES UURINGUS ÄHIJÄRVE
NÄITEL**

Magistritöö

Üliõpilane: Anett Kuldma (176952YAEM)

Juhendajad: Siim Veski, professor, PhD

Tiiu Alliksaar, vanemteadur, PhD

Õppekava: Maa-teadused ja geotehnoloogia (YAEM14/15)

Autorideklaratsioon

Kinnitan, et olen koostanud antud lõputöö iseseisvalt ning seda ei ole kellegi teise poolt varem kaitsmisele esitatud. Kõik töö koostamisel kasutatud teiste autorite tööd, olulised seisukohad, kirjandusallikatest ja mujalt pärinevad andmed on töös viidatud.

Autor: Anett Kuldma

[allkiri ja kuupäev] /digiallkiri/

Töö vastab magistritööle esitatavatele nõuetele.

Juhendajad: Professor Siim Veski

Vanemteadur Tiiu Alliksaar

[allkiri ja kuupäev] /digiallkiri/

[allkiri ja kuupäev] /digiallkiri/

Töö on lubatud kaitsmisele.

Kaitsmiskomisjoni esimees:

[allkiri ja kuupäev] /digiallkiri/

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks¹

Mina Anett Kuldma

1. Annan Tallinna Tehnikaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose Süsiniku ja lämmastiku isotoopsuhete analüüs: parima eeltöötlusmeetodi valimine ja selle testimine paleolimnoloogilises uuringus Ähijärve näitel,

mille juhendajad on Siim Veski ja Tiiu Alliksaar,

1.1 reprodutseerimiseks lõputöö säilitamise ja elektroonse avaldamise eesmärgil, sh Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogusse lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2 üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tallinna Tehnikaülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogu kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. Olen teadlik, et käesoleva lihtlitsentsi punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest ning muudest õigusaktidest tulenevaid õigusi.

03.06.2021

¹ Lihtlitsents ei kehti juurdepääsupiirangu kehtivuse ajal vastavalt üliõpilase taotlusele lõputööle juurdepääsupiirangu kehtestamiseks, mis on allkirjastatud teaduskonna dekaani poolt, välja arvatud ülikooli õigus lõputööd reprodutseerida üksnes säilitamise eesmärgil. Kui lõputöö on loonud kaks või enam isikut oma ühise loomingulise tegevusega ning lõputöö kaas- või ühisautor(id) ei ole andnud lõputööd kaitsvale üliõpilasele kindlaksmääratud tähtajaks nõusolekut lõputöö reprodutseerimiseks ja avalikustamiseks vastavalt lihtlitsentsi punktidele 1.1. ja 1.2, siis lihtlitsents nimetatud tähtaja jooksul ei kehti.

Sisukord

Annotatsioon.....	5
Abstract	6
Sissejuhatus.....	8
1. Stabiilsed isotoobid paleolimnoloogias.....	9
1.1. Süsiniku ja lämmastiku isotoobid järvedes	10
1.1.1. Süsinik.....	10
1.1.2. Lämmastik	12
1.2. Isotoopide massispektromeetriline mõõtmine.....	14
2. Uurimisala	15
3. Setteproovide kogumine ja toetav andmestik.....	17
3.1. Ajaskaala ja setete koostis	17
3.2. Õietolm: kliima ja inimtegevuse mõju metsakoosluste arengule.....	19
3.3. Õietolm ja vetikad: järvesisese keskkonna muutused.....	21
3.4. Arheoloogilised leiud ja õietolm: inimese tegevus järve ümber	23
4. Isotoopmeetodi materjal ja meetodika	26
4.1. Proovide ettevalmistamine.....	26
4.2. Proovide homogeniseerimine.....	26
4.3. Lämmastiku isotoopsuhte analüüs	29
4.4. Süsiniku isotoopsuhte analüüs	30
4.4.1. Anorgaanilisest süsinikust vabanemine happeauruga.....	31
4.4.2. Anorgaanilisest süsinikust vabanemine happepesuga.....	33
4.4.3. Anorgaanilisest süsinikust vabanemise katsete tulemused.....	35
5. Süsiniku ja lämmastiku isotoopsuhete analüüs Ähijärve setteläbilõikest.....	38
5.1. Materjal ja metoodika	38

5.2. Mõõtmiste tulemused	38
5.2.1. Lämmastik	38
5.2.2. Süsinik.....	39
5.3. Ähijärve pärastjääaegsed keskkonnamuutused	40
Kokkuvõte.....	46
Tänuavaldused	48
Kasutatud kirjandus.....	49
Lisa 1. Eesti Vabariigi 1:200 000 topograafilise kaardi leppemärgid.....	55
Lisa 2. Anorgaanilisest süsinikust vabanemise meetodid erinevate autorite puhul.....	56

Annotatsioon

Tänapäeval on oluline mõista globaalseid kliima- ja keskkonnamuutuseid, mis põhinevad aastatuhandeid maakera kujundanud protsessidel. Mineviku keskkonnauuringute üks osa on paleolimnoloogia, mis kirjeldab setete koostise põhjal järvedes ja nende valgjal toimunut ning võimaldab rekonstrueerida järvede arengulugu. Sellised uuringud aitavad mõista järvede ökosüsteeme kujundanud tegureid ja nende mõju tulevikus. Viimastel aastakümnetel on ökoloogias oluliseks uurimismeetodiks kujunenud stabiilsete isotoopide analüüs. Käesolev magistritöö keskendub süsiniku ja lämmastiku isotoopsuhete ($\delta^{13}\text{C}$ ja $\delta^{15}\text{N}$) analüüsile järvesetetest, mille väärtused näitavad järves oleva orgaanilise aine päritolu ning muutusi järve produktiivsuses ja mitmesugustes kliima- ning keskkonnaparameetrites. Magistritööl on kaks eesmärki: leida efektiivseim eeltötlusmeetod orgaanilise $\delta^{13}\text{C}$ ja $\delta^{15}\text{N}$ analüüsimiseks järvesetetest ja rakendada seda Ähijärve setteläbilõike analüüsil eesmärgiga rekonstrueerida järve pärastjääaegsed keskkonnamuutused.

Magistritöös kasutatav settematerjal pärineb Ähijärvest, mis asub Võrumaal, Antsla vallas, Karula rahvusparkis. Varasemalt oli Ähijärvest tehtud mitmeid analüüse - ajaskaala, määratud sette koostis, õietolmu- ja ränivetikaanalüüs – käesolev uuring lisas nendele stabiilsete isotoopide analüüsiandmed settest. Kogutud materjali kasutati tulemuste interdistsiplinaarsel interpreteerimisel.

Toetudes varasematele teadusuuringutele selgus, et $\delta^{13}\text{C}$ ja $\delta^{15}\text{N}$ analüüsimiseks järvesetetest kasutatakse väga erinevaid eeltötlusmeetodeid, mis annavad erinevaid ja vastukäivaid tulemusi. Suurimad eeltötluse probleemid on seotud setete homogeniseerimise, lämmastiku mõõtmistega ja orgaanilise süsiniku isotoopsuhte määramiseks vajaliku anorgaanilise süsiniku eemaldamisega proovidest. Parima eeltötlusmeetodi väljaselgitamiseks katsetati erinevaid meetodeid, võrreldi nende analüüsitulemusi ning leiti iga probleemi jaoks sobivaim ettevalmistusmeetod. Magistritöös tehtud katsete tulemusel selgus: 1) proovide homogeniseerimiseks mikserveskis võib kasutada polüpropüleenist Eppendorfi mikrokatsuteid ja terasest kuule, 2) $\delta^{15}\text{N}$ väärtuseid tuleks analüüsida eeltötlumata proovidest ja 3) anorgaanilisest süsinikust vabanemiseks on parim viis hoida proove 6 h 20% HCl happesauru all, kui karbonaataine sisaldus proovides ei ületa 30%. Üle 30% karbonaataine sisaldusega proovide puhul tuleks eelistada kangema kontsentratsiooniga hapet (nt. 36% HCl).

Parimat eeltötlusmeetodit rakendati Ähijärve setete $\delta^{13}\text{C}$ ja $\delta^{15}\text{N}$ analüüsiks. Saadud tulemused näitasid, et isotoopsuhete väärtused on hästi tõlgendatavad varasemalt analüüsitud materjali abil ja kajastavad kliimamuutustest ja inim mõjust põhjustatud muutusi järves. Eriti tugev seos on δ -väärtustel inimtegevusega seotud näitajatega, mis näitab, kui oluline roll on inimesel looduse reguleerimisel. Lisaks näitavad tulemused, et paleolimnoloogilised uuringud aitavad ennustada keskkonnaningimusi, mis võivad mõjutada järve tulevikus.

Abstract

Isotope ratio of carbon and nitrogen: searching the best pre-treatment method and applying in paleolimnology at Lake Ähijärv

It is important to understand the ongoing global climate and environmental change, which is a combination of natural and manmade processes that have shaped the Earth for millennia. Paleolimnology is a part of past environmental research that uses lake sediments to reconstruct past environmental history by understanding the factors that have shaped lake ecosystems and their impacts. Over the past decades stable isotope analysis has become an important technique in (paleo)ecology. This master's thesis focuses on the analysis of carbon and nitrogen isotope ratios ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) from lake sediments, the values of which indicate the origin of organic matter in lakes, changes in lake productivity and various climatic and environmental parameters. The master's thesis has two main goals: a) search for the best pre-treatment method for the analysis of organic $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in lake sediments and b) application in paleolimnology at Lake Ähijärv with the aim to reconstruct the post-glacial environmental changes in the lake.

The sediment material used in the master's thesis comes from Lake Ähijärv, which is located in Võru County, Antsla Parish, Karula National Park. Previously, several analyzes have been performed from Lake Ähijärv sediments - agescale, sediment composition, analysis of pollen/spores and siliceous algae - this study contributes with the proxy of stable isotopes from the sediment. The collected material was used for interdisciplinary interpretation of the results.

Previous research has found that various pre-treatment methods have been used to analyze $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in lake sediments, giving different and sometimes conflicting results. The main pre-treatment problems are related to sediment homogenization, nitrogen measurements and removal of inorganic carbon from the samples to determine the isotope ratio of organic carbon. In order to determine the best pre-treatment method, different methods were tested, their analytical results were compared and the most suitable preparation method was found for each problem. The most efficient method determined by this thesis was: 1) to homogenize samples in the ball mill Eppendorf test tubes with steel balls can be used, 2) for $\delta^{15}\text{N}$ determination it is preferable to analyze the untreated samples and 3) to get rid of inorganic carbon for $\delta^{13}\text{C}$ measurements fumigation method with 20% HCl for 6 h should be used when carbonate content of samples is less than 30%. If carbonate content is more than 30% then a stronger concentration of acid (for example 36% HCl) should be preferred.

The best method was then applied for the analysis of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in Lake Ähijärv sediments. The obtained results showed that the values of isotope ratios correlate well with previously existing material, which reflect changes in the lake caused by climate change and human impacts. There is a particularly strong correlation between δ -value indicators related to human activities, which shows the important role of humans in rearrangement of natural processes since 1000 years AD. In

addition, the results show that paleolimnological studies help to predict the environmental conditions that may affect the lake in the future.

Sissejuhatus

Kaasaegses ühiskonnas on oluline roll globaalsete kliima- ja keskkonnamuutuste jälgimisel ja mõistmisel. Tänapäevased arengud tuginevad protsessidele, mis on maakera kliimat ja keskkonda kujundanud aastatuhandeid ja mida dokumenteeritakse paleoökoloogiliste meetoditega (Croft jt, 2018). Ühe osa mineviku keskkonnauuringutest moodustavad paleolimnoloogilised uuringud, mille põhiline eesmärk on kirjeldada järvedes ja nende valgjal toimunud protsesse ning rekonstrueerida nende arengulugu, mõistmaks millal ja miks mingid protsessid algasid ja kuhu nad välja viivad. Uurimise aluseks on eeldus, et minevikus toimunud protsessid on analoogsed tänapäevastele arengutele. Uuringud tuginevad informatsioonile, mida on endas talletanud järvesetted. Sette kujunemine, koostis ja struktuur sõltub keskkonnatingimustest, inimtegevusest ja järvesisestest protsessidest. Järvede, mis Eestis on kujunenud viimase jääaja järgselt, setetes sisalduva orgaanilise aine päritolu ja koostis aitab selgitada pärastjääaegseid kliima-, keskkonna- ja inimtekkelisi muutuseid (Puusepp, 2011).

Viimastel aastakümnetel on ökoloogias tähtsaks uurimismeetodiks kujunenud stabiilsete isotoopide analüüs. Esialgu kasutati seda uurimismeetodit kergete elementide (H, C, O, N, S) stabiilsete isotoopide suhte muutuste uurimiseks ja radioaktiivsete isotoopide kontsentratsiooni mõõtmiseks. Kuid tänapäeval on kujunenud stabiilsetest isotoopidest oluline paleoklimatoloogiline uurimismeetod, mis annab informatsiooni näiteks järvede arenguloo ja kliimamuutuste kohta (Vaikmäe, 2019). Antud magistritöö on keskendunud süsiniku- ja lämmastikuisotoopidele setetes ($\delta^{13}\text{C}$ ja $\delta^{15}\text{N}$), mille väärtused näitavad loodusliku süsiniku (orgaanilise või anorgaanilise süsiniku) ja lämmastiku päritolu ja teekonda. Isotoopväärtused sõltuvad mitmetest looduslikest teguritest nagu näiteks autotroofide rohkus järves. Kui järvedes on domineerivaks primaarproduksioon, siis akumulereub orgaaniline aine, milles $\delta^{13}\text{C}$ ja $\delta^{15}\text{N}$ väärtused tõusevad. Seega on süsiniku ja lämmastiku isotoopide signaalid mõjutatud paljudest faktoritest ja teguritest, mistõttu on oluline neid õigesti tõlgendada (Gälman jt, 2009). Orgaanilise süsiniku isotoopkoostis sisaldab informatsiooni keskkonna ja kliima kohta. Et orgaanilise ja anorgaanilise süsiniku isotoopväärtused erinevad umbes 20 korda, siis on orgaanilise $\delta^{13}\text{C}$ uurimisel oluline vabaneda anorgaanilistest ühenditest (Craven jt, 2013). Varasemad uuringud näitavad, et tõeste väärtuste saamiseks tuleb järvesetete analüüsiks korrektselt eeltöödelda. Erinevaid meetodeid on kirjeldanud näiteks Brodie jt (2011), kes märkis, et kõigil anorgaanilise süsiniku eemaldamise meetoditel on puudused, mistõttu oleks vaja meetodeid veel üle vaadata ning täiendada.

Käesoleval magistritööl on kaks peamist eesmärki: esiteks leida efektiivseim eeltöötlusmeetod setteproovide orgaanilise $\delta^{13}\text{C}$ ja $\delta^{15}\text{N}$ analüüsimiseks ja teiseks rakendada saadud teavet konkreetse järve setete analüüsil. Selleks, et leida kiireim ja tõhusaim eeltöötlusmeetod süsiniku ja lämmastiku isotoopide uurimiseks, katsetan laboratoorselt mitmeid meetodeid, mis põhinevad varasematel teadusuuringutel. Sobiva meetodi väljaselgitamise järel kasutan seda Ähijärve läbilõike analüüsimisel. Saadud tulemusi tõlgendan toetava informatsiooniga (näiteks setteomadused, ränivetika- ja õietolmuanalüüs), mis on oluline isotoopväärtuste interpreteerimisel.

1. Stabiilsed isotoobid paleolimnoloogias

Teaduslikes uurimustöodes on oluline uute meetodite arendamine ja täiustamine. Stabiilsete isotoopide meetod võeti kasutusele 1950-ndate alguses (Weber, 1964), kuid viimastel aastakümnetel on teaduses saanud olulist tähelepanu selle metoodika parendamine. Stabiilsete isotoopide analüüsimine pakub mitmekülgseid võimalusi järvesette uurimiseks leidmaks seoseid isotoopide ja mitmesuguste keskkonna- ja bioloogiliste protsesside vahel. Stabiilsete isotoopide analüüs võimaldab üsna kiirelt saada informatsiooni väga pika ajaperioodi kohta. Stabiilsed isotoobid ei lagune aja jooksul ega muutu väliste tegurite tõttu, mistõttu on stabiilsete isotoopide meetodist kujunenud üks efektiivsemaid uurimisviise ökoloogias (Leng ja Marshall, 2004).

Isotoobid on ühe elemendi variatsioonid, milles on sama arv prootoneid ja elektrone, kuid erinev arv neutroneid. Mõiste „isotoobid“ tuleb kreeka keelsetest sõnadest „isos“ (võrdne) ja „topos“ (koht), mis viitab nende samale paiknemisele perioodilisustabelis, sest järjekorranumber selles tabelis näitab prootonite arvu aatomituumas. Seega prootonite arv elemendi tuumas määrab ära millise elemendiga on tegemist ja millised on tema omadused. Isotoobid saab jagada stabiilseteks ja ebastabiilseteks ehk radioaktiivseteks. Viimastel on sõltuvalt prootonite ja neutronite arvu vahekorra ebastabiilne tuum, mis hakkab spontaanselt/radioaktiivselt lagunema, kuni tekib stabiilse tuumaga isotoop (Fry, 2006).

Stabiilseid isotoope kasutatakse järvesetete uurimisel süsiniku- ja lämmastikuringe kirjeldamisel. Järvesetetes uuritakse ka näiteks väävlit, mille sisaldus on alates 19. sajandist märgatavalt tõusnud seoses industrialiseerimisega. Tööstuse areng tõi kaasa väävli isotoopsuhte $\delta^{34}\text{S}$ tõusu ning selle abil saab kirjeldada näiteks happevihmade levikut (Li ja Ji, 2016). Arheoloogias kasutatakse stabiilseid isotoope inimeste toitumisharjumuste kirjeldamiseks. Selline uurimismeetod võimaldab kirjeldada inimeste eluviise teatud ajastutel – kas tegeleti aktiivselt maaviljeluse, karjakasvatusega, elati veekogude lähedal jne (Peterson ja Fry, 1987).

Ebastabiilseid isotoope on tuntud juba aastasadu ning neid on kasutatud relvadena sõdades, näiteks aatompommis Hiroshimas 1945. aastal. Lisaks on radioaktiivseid isotoope aastaid kasutatud meditsiinis, näiteks vähkkasvajate avastamisel ja röntgenpiltide tegemisel (Creager, 2013). Ökoloogias kasutatakse radioaktiivseid isotoope toiduahela jälgimiseks, ^7Be ja ^{234}Th abil saab jälgida lühiajalisi muutusi veekogu voogude ja sisemiste protsesside kiiruses, ^{137}Cs ja ^{210}Pb abil saab lühemaajaliste settimisprotsesside (viimased 150 aastat) dünaamikat ja kiirust hinnata (Ciffin ja Corbett, 2003). Süsiniku radioaktiivne isotoop ^{14}C on laialdaselt ökoloogias ja arheoloogias kasutusel esemete, setete jms dateerimisel (Punning, 2005).

Et neutronid ja prootonid moodustavad elemendi massi, siis ühe elemendi isotoobid erinevad massiarvu poolest. See tähendab, et nende isotoopide puhul toimuvad keemilised reaktsioonid massi erinevuste tõttu eri kiirustel. Isotoopväärtuste tähistamiseks on delta (δ), mis tähendab erinevust ehk raskete ja kergete isotoopide suhet. Isotoopsuhte väärtusi mõõdetakse promillides (‰) ehk osakest tuhandiku kohta (Fry, 2006). Raskemat isotoopi (näiteks ^{13}C) sisaldavad molekulid

moodustavad stabiilsemaid keemilisi sidemeid, mille lõhkumiseks on vaja palju energiat. Kergema massiga isotoopide (näiteks ^{12}C) vahelised sidemed on nõrgemad ja neid on kergem lõhkuda. Sellist massist sõltuvat reaktsiooni nimetatakse isotoopide fraktsioneerumiseks. See on põhjus, miks isotoope on kõikides organismides erineval hulgal, kuid igale organismile vaid neile omases koguses. Toiduahela tõttu satuvad isotoobid erinevatesse kehadesse ja aineringsus annab võimaluse isotoopide teekonda jälgida. Ökoloogias kasutatakse energiavoogude liikumise jälgimiseks peamiselt süsiniku ja lämmastiku isotoope (Gladyshev, 2009). Fraktsioneerumine on hästi jälgitav ka veemolekuli puhul, mis koosneb vesiniku ja hapniku aatomitest. Vesinikul on kaks stabiilset isotoopi – ^1H ja ^2H ning hapnikul kolm stabiilset isotoopi – ^{16}O , ^{17}O ja ^{18}O . See võimaldab vee molekulil esineda üheksa erineva konfiguratsioonina, mistõttu faasiüleminekul isotoopide suhted muutuvad. Näiteks aurustumisel on veeaur rikastunud kerge veemolekuliga ehk $^1\text{H}_2$ ja ^{16}O aatomitega (Wolfe jt, 2001). Hapniku stabiilsete isotoopide jälgimine aitab välja selgitada keskkonnatingimusi, mis teatud ajaperioodil valitsesid. Paleolimnoloogias on teada, et liustikujääs on kõige enam ^{16}O ja merevees ^{18}O aatomeid. Kui kliima soojenes, siis liustike sulamise tagajärjel muutus ookeanivesi isotoopide poolest kergemaks. Seega saab hapniku isotoopide kontsentratsioone võrreldes välja selgitada maailmamere temperatuuri mingil kindlal ajaperioodil (Mäger, 2013).

1.1. Süsiniku ja lämmastiku isotoobid järvedes

Järvesetest pärinev materjal pakub mitmesuguseid indikaatoreid, mida saab kasutada järvede ja valgla kujunemise rekonstrueerimiseks. Setteanalüüsi põhjal saab andmeid piirkonna kliimaatilise ajaloo ning inimõju kohta. Orgaaniline materjal moodustab olulise osa järvesetest. See pärineb järves ja selle ümbruses elanud organismide elutegevuse tagajärjel tekkinud orgaanilistest ühenditest. Suur osa orgaanilisest ainest pärineb järves ja valgla kasvanud taimedest. Need taimed saab jaotada geokeemiliselt kahte gruppi: vaskulaarsed taimed ehk soontaimed, mis on süsinikurikkad tänu kiulistele kudedele; mittevaskulaarsed, mis on lämmastikurikkad, sest nende koostises puudub süsinikurikas tselluloos ja ligniin. Peale selle moodustavad sette orgaanilise osa järves elanud vetikad, bakterid, kalad jt. Süsiniku ja lämmastiku isotoopkoostise uurimine aitab identifitseerida orgaanilise aine päritolu ja selle hulka. Saadud andmete põhjal on võimalik teha järeldusi uuritava ala arengust, inimõjust ja kliimamuutustest (Meyers ja Teranes, 2001).

1.1.1. Süsinik

Järvesettes sisalduv süsinik on anorgaanilise ja orgaanilise päritoluga. Anorgaaniline süsinik on aluseks orgaaniliste ühendite loomiseks. Järve anorgaaniline süsinik on peamiselt pärit atmosfääri ja vee vahelisest süsinikuringest. Veekogudes leiduva anorgaanilise süsiniku moodustavad peamiselt vesinikkarbonaadid (HCO_3^-), lahustunud süsinikdioksiid (CO_2) ja karbonaatioonid (CO_3^{2-}). Kõik need komponendid moodustavad vees karbonaatse puhversüsteemi, olles vajalikud organismidele hingamiseks ja veekogu pH kujunemisele (Leng ja Marshall, 2004).

Orgaaniline süsinik pärineb bioloogilistest süsteemidest ja tekib peamiselt fotosünteesi kaudu. Veekogudes esinevad orgaanilised ühendid jaotatakse autohtonseteks ja allohtonseteks.

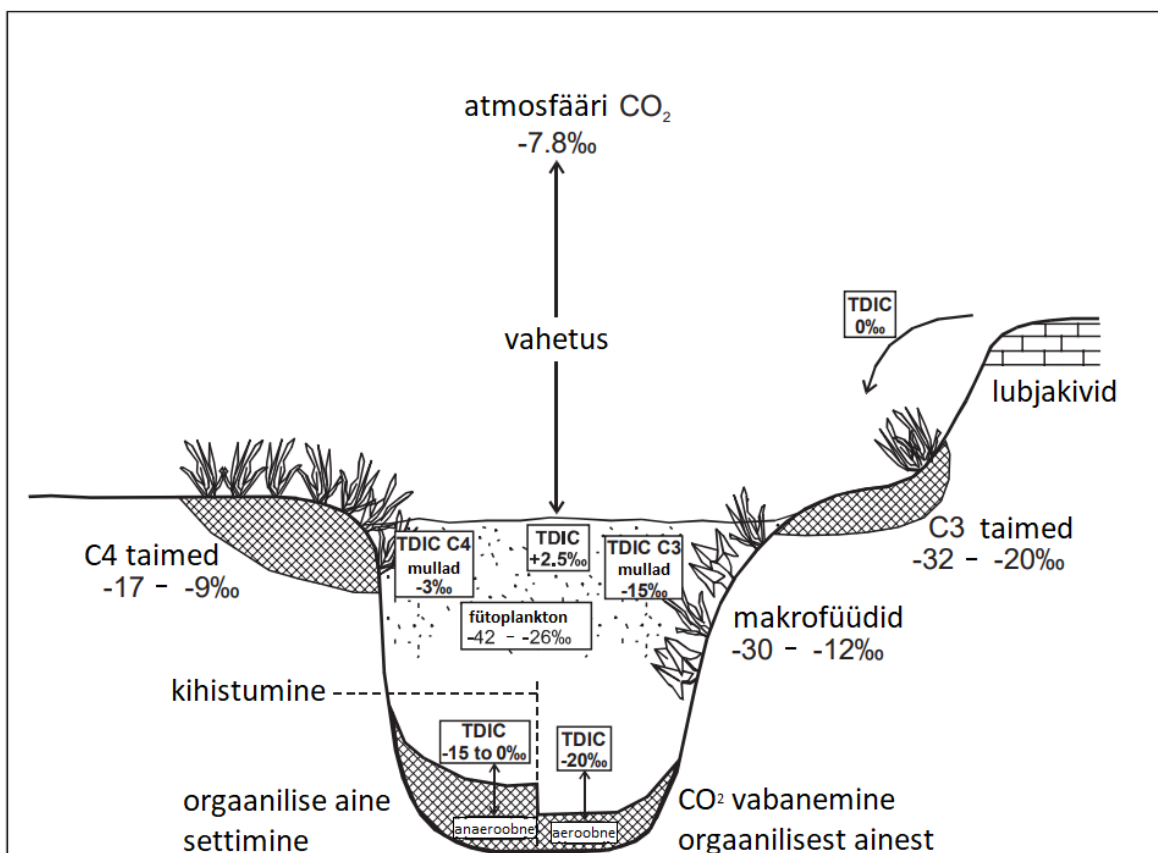
Autohtoonne orgaaniline aine on pärit veekogust endast. Selle moodustavad seal elanud organismid oma elutegevusega. Allohtoonne orgaaniline aine pärineb väljastpoolt veekogu maismaalt ja on valglalt veekogusse kantud. Orgaanilise päritoluga ainet satub veekogudesse ka inimtegevuse tagajärjel, näiteks reoveega, põllumajanduskemikaalidega, tööstusjääkidega jms (VanLoon ja Duffy, 2005). Seega on veekogudes leiduv orgaaniline materjal segu seal ja valglal elanud organismide (vetikate, bakterite, taimede, loomade) jäänustest.

Süsinik on oluline ühend, mille kontsentratsioon järvedes näitab orgaanilise materjali kogust. Orgaanilise aine sisalduse põhjal saab rekonstrueerida järve varasemat produktsiooni ja identifitseerida muutusi toitainete kättesaadavuses. Süsiniku isotoope on uuritud juba üle poolesaja aasta ja see on väga laialt kasutuses paleolimnoloogias (Meyers ja Teranes, 2001). Süsinikul on looduses kolm isotoopi: radioaktiivne ^{14}C ja stabiilsed isotoobid ^{12}C ja ^{13}C . Radioaktiivne süsiniku isotoop ^{14}C , mida on süsiniku isotoopide seas imeväikeses koguses, on teaduses kasutusel väga levinud dateerimismeetodina. Radioaktiivse süsiniku aatomid tekivad ja satuvad aineringsse Maa atmosfääris kosmilise kiirguse mõjul ning seejärel oksüdeerudes süsihappegaasi koosseisu. Fotosünteesi käigus omastavad taimed ^{14}C koos stabiilsete süsiniku aatomitega. Kohe, kui radioaktiivse süsiniku aatomid on tekkinud, algab nende lagunemine poolestusajaga 5730 aastat. Seega saab uuritava objekti vanust määrata radioaktiivse süsiniku abil (Punning, 2005). Suurem osa süsinikust on looduses siiski stabiilsena ^{12}C kujul (protsentuaalselt 98,89%), kuid stabiilsete süsiniku isotoopide puhul on ^{13}C isotoobi uurimine levinum. ^{13}C on hea kliimamuutuste indikaator, mis annab informatsiooni süsinikuringes toimunud muutustest. Seda isotoopi leidub organismides fikseeritud koguses (looduses 1,11% selle isotoobina) ning seetõttu on selle liikumise jälgimine ökosüsteemis lihtsam. Teaduses uuritakse $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ suhet ja seda väljendatakse isotoopsuhte väärtusena $\delta^{13}\text{C}$ (Meyers ja Teranes, 2001).

Süsiniku stabiilsete isotoopide päritolu järvesettes on kas autohtoonne (kohapeal moodustunud materjal) või allohtoonne (sissekantud materjal). Sissekantud materjal on väga erineva päritoluga, kuid suurim mõju isotoopkoostisele on järve valgla taimestikul. Sellise materjali isotoopkoostis võib muutuda enne järve jõudmist lagunemisel mullas või ojas. Järve enda päritoluline süsinik on eelkõige taimedes ja veeloomades talletunud süsinik. Samuti on suur osa ka süsinikdioksiidil, mis osaleb süsinikuringes vee ja atmosfääri vahel (Gälman jt, 2009). Anorgaanilise päritoluga aine isotoopsuhte väärtused on kõrgemad kui orgaanilisel materjalil, jäädes järvesettes vahemikku +1‰ kuni +3‰. Orgaanilise süsiniku isotoopsuhte väärtused jäävad vahemikku -23‰ kuni -32‰ (Leng ja Marshall, 2004).

Süsiniku isotoopide $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ suhte taimedes määrab kindlaks tema fotosünteesitüüp. Selle alusel jaotatakse taimed kolme rühma: C_3 , C_4 ja CAM-tüüpi. Parasvöetmelises (ka Eestis) kliimas levivad C_3 -tüüpi taimed, milles on võrreldes teistega enim ^{13}C isotoopi. Nende $\delta^{13}\text{C}$ väärtused jäävad vahemikku -20‰ kuni -32‰. C_4 -tüüpi taimede $\delta^{13}\text{C}$ väärtused on vahemikus -9‰ kuni -17‰ (Leng ja Marshall, 2004; joonis 1). C_4 -tüüpi taimed võisid Eestis rohkem levida vahetult jääaja järgsel perioodil, kuna seda tüüpi taimed kasvavad edukamalt halva süsinikdioksiidi kättesaadavuse tingimustes (Ward, 2008). Loomsetesse organismidesse satub süsinik läbi toiduahela ehk

rohusööjatel on isotoopsuhte väärtused sarnased nende poolt tarbitud taimede isotoopsuhte väärtustele.



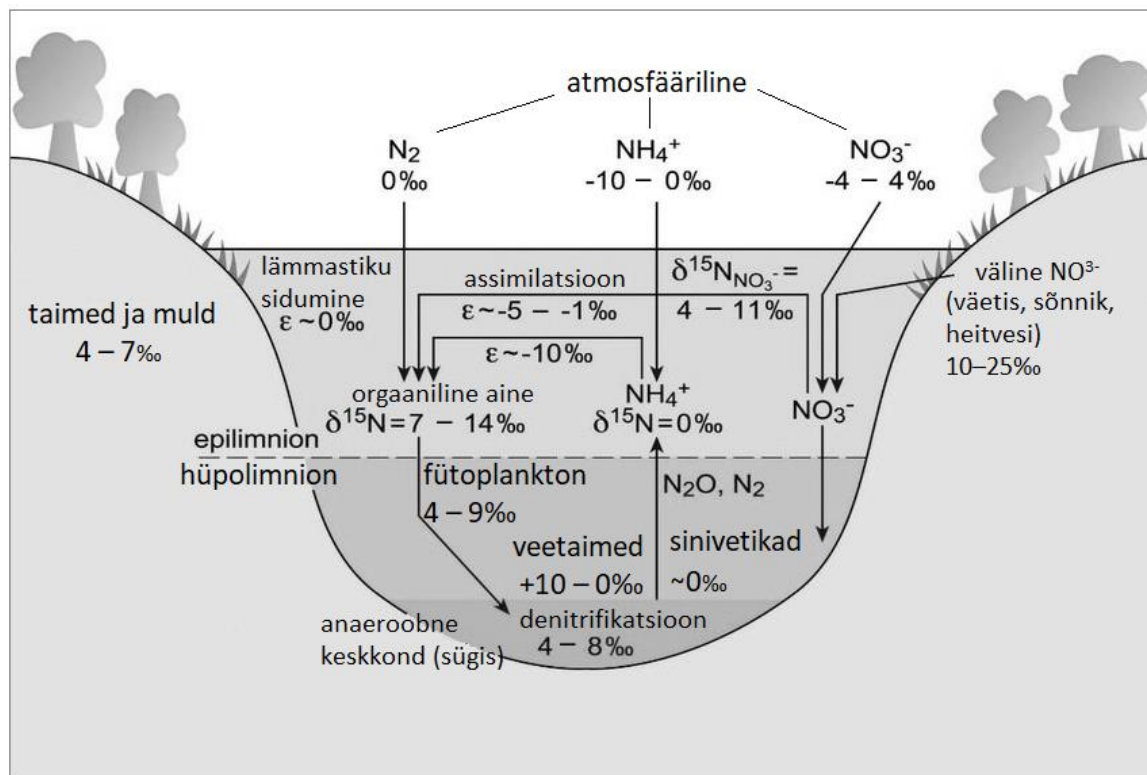
Joonis 1. Süsiniku päritolu ja isotoopsuhte väärtused veekogus (Leng ja Marshall, 2004).

Peamised tegurid, mis kontrollivad $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ suhteid järvedes on fotosüntees ja hingamine (st. süsiniku fikseerimise rada), konkurents erinevate vetikarühmade vahel (nt. klorofüüdid, tsüanobakterid, diatomeed) ja CO_2 eraldumine orgaanilise aine lagunemise käigus settes või veesambas (Lücke jt, 2003). Veekogu ökosüsteemis on süsiniku päritolu jälgimine üpris keerukas, sest see pärineb mitmetest allikatest, toimub pidev ioonide ja ühendite vahetus. Isotoopide sisaldust mõjutavad veel veekogu veevahetus, temperatuur, kliimaatiline asukoht, sügavused, liigid vees ja valgla jne (Leng ja Marshall, 2004). Orgaanilise materjali uurimiseks kasutatakse orgaanilise süsiniku isotoopkoostist. Et orgaanilise ja anorgaanilise süsiniku isotoopsuhte väärtused on erinevad, siis on oluline enne analüüsimist uuritavast materjalist anorgaaniline süsinik eemaldada (Craven jt, 2013).

1.1.2. Lämmastik

Lämmastik on järvedes enamasti limiteeriv ühend, vähendades organismide produktiivsust. Lämmastiku hulk ja kättesaadavus mõjutab organismide bioproduksiooni ning sellel on pikaajalised tagajärjed järve troofsuse kujunemisel. Lämmastik esineb nii anorgaanilisel kui orgaanilisel kujul (joonis 2). Anorgaanilist lämmastikku esineb erineva oksüdatsiooniastmega mitmel erineval keemilisel kujul. Järvede seisukohalt on lämmastikuringes üks suurimaid allikaid atmosfäärist

pärinev lämmastik ehk dilämmastik (N_2). Lahustunud anorgaanilise lämmastiku kogusumma moodustavad lisaks dilämmastikule veel ammonium (NH_4^+), nitraat (NO_3^-) ja nitrit (NO_2^-). Järvedes on lämmastikuringes bioloogilised protsessid nagu ammonifikatsioon, nitrifikatsioon ja denitrifikatsioon (Talbot, 2001).



Joonis 2. Lämmastiku päritolu ja isotoopsuhte väärtused veekogus (Brykala jt, 2015; Talbot, 2001).

Orgaaniline lämmastik on oma päritolult seotud veetaimede- ja loomadega, kus seda leidub enim, sest nemad osalevad aktiivselt lämmastikuringes. See võimaldab hinnata vetikate ja maismaataimede toodetud orgaanilise aine vahet. Eriti lämmastikurikkad on näiteks veetaimede juured ja fütoplankton. Maismaalt pärinev taimne materjal on pigem lämmastikuvaene. Erinevalt süsinikust on lämmastiku sisaldus organismides väga erinev (Talbot, 2001).

Sarnaselt süsinikule on lämmastikul radioaktiivne isotoop ^{13}N ning kaks stabiilset isotoopi: ^{14}N ja ^{15}N . Radioaktiivne lämmastiku isotoop on kasutusel meditsiinis kompuutertomograafias ja vere koostise uurimisel (Mettler Jr. ja Guiberteau, 2019). Stabiilsetest lämmastiku isotoopidest on looduses rohkem levinud kergem lämmastiku isotoop (^{14}N), kuid teaduslikult uuritakse $^{15}N/^{14}N$ suhet, mida väljendatakse kui $\delta^{15}N$ (Knowles ja Black, 1993). Anorgaanilise lämmastiku isotoopkoostis on järvesisese päritoluga materjalil vahemikus -10‰ kuni +0‰, maismaataimedes +2‰ kuni +10‰ ja sinivetikates ~ 0 ‰ (Talbot, 2001). Enamus taimi seovad lämmastikku otse atmosfäärist ja nende $\delta^{15}N$ väärtused jäävad vahemikku -2‰ ja +2‰. Organismidel, mis seovad lämmastikku teistest allikatest (nt. teised organismid), varieeruvad lämmastiku isotoopsuhte väärtused -8‰-st kuni +10‰-ni. Seetõttu ongi lämmastiku isotoopiline fraksioneerumine hästi

jälgitav toiduahelas, kus ^{14}N vahelised sidemed lagunevad tõhusamalt kui ^{15}N isotoopide vahel. Seega on taimtoidulistel loomadel positiivsem $\delta^{15}\text{N}$ kui taimedel. Iga toiduahela astmega suureneb ^{15}N isotoobi hulk, mistõttu saab lämmastiku liikumist toiduahelas jälgida (Schoeninger & Moore 1992).

Järvedes leiduvat lämmastiku hulka on tugevalt mõjutanud inimtegevus. Fossiilsete kütuste põlemine ja tööstustegevuse käigus eralduvad heitgaasid satuvad atmosfääri ja sealt lämmastikuringega veekogudesse. Lisaks mõjutavad veekogusid põllumajanduses kasutatavad lämmastikväetised (Talbot, 2001). Hiljutised uuringud ^{15}N isotoopidest USA Colorado mägijärvedes näitasid, et tööstusest ja põllumajandusest pärinev lämmastiku sisaldus on suurem kui mistahes looduslik muutus viimase 14 000 aasta jooksul. Seetõttu on ülimalt oluline lämmastiku isotoopsuhete väärtuste tõlgendamisel teha kindlaks perioodid, mil inimtegevusest tulenev mõju järvele oli suurem (Li jt, 2008).

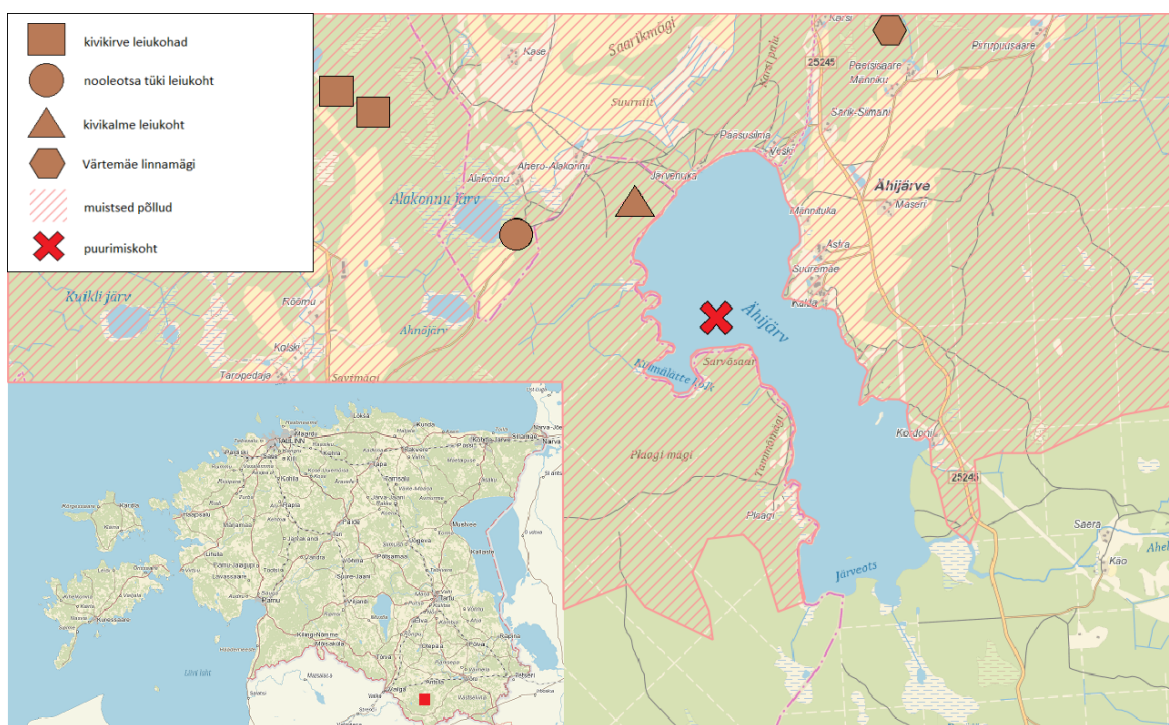
1.2. Isotoopide massispektromeetriline mõõtmine

1919. aastal ehitas Francis W. Aston esimese massispektromeetri, millega ta mõõtis isotoope. Ta uuris põhjalikumalt neooni isotoope ja sai oma töö eest 1922. aastal Nobeli preemia. Elementkoostise mõõtmisi teostatakse massispektromeetriga. Selleks on vaja analüüsitava materjal muuta põletamise teel gaasiks – süsiniku ja lämmastiku puhul vastavalt CO_2 ja N_2 . Spektromeetri tööpõhimõtteks on inertid – rasked isotoobid nõuavad rohkem energiat, et neid lennutrajektorist kõrvale kallutada. Seetõttu on raskete isotoopide lennuteed sirgemad ja neid saab eraldada kergetest isotoopidest. Nii saab massispektromeeter tuvastada isotoopide hulga gaasis. Selleks, et isotoopanalüüsi tulemusi õigesti tõlgendada, on vaja mõõtmisi võrrelda standardiga. Standardiks on loodusliku materjali raskeid isotoope sisaldav aine. Seega saab leida, kas analüüsitava materjal on raskete isotoopidega rikastunud (positiivne arv) või vaesestunud (negatiivne arv). Tulemuse null puhul on analüüsitavas materjalis sama kogus raskeid isotoope kui standardis (Fry, 2006).

Minu magistritöös läbiviidud massispektromeetrilised mõõtmised on teostatud Tallinna Tehnikaülikooli Geoloogia Instituudi isotoop- ja hüdrogeokeemia laboris. Isotoopanalüüsiks kasutati massispektromeetrit Delta V Advantage koos gaasi ettevalmistus-sisestussüsteemiga FlashEA 1112 + ConFlo IV. Tulemused esitati Vienna Peedee Belemnite (VPDB; $\delta^{13}\text{C}$) ja õhulämmastiku (Air- N_2 ; $\delta^{15}\text{N}$) skaala suhtes ning kalibreeriti kasutades Rahvusvahelise Aatomienergia Agentuuri (IAEA) standardeid: Urea, IAEA-CH-3 (Cellulose), IAEA-CH-6 (Sucrose), N1 (Ammonium Sulfate), N2 (Ammonium Sulfate) (IAEA: *Reference materials*, 2021). Käesolev magistritöö on keskendunud orgaanilise süsiniku stabiilsete isotoopide $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ja lämmastiku stabiilsete isotoopide $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ suhte uurimisele.

2. Uurimisala

Ähijärv asub Võrumaal, Antsla vallas, Karula rahvuspargis. Järve asukoht ja uurimisalaga seotud informatsioon on esitatud joonisel 3. Karula kõrgustik tekkis hilisjäajal ehk umbes 14 000 aastat tagasi (Kalm, 2006; Raukas, 1986). Karula kõrgustikule on iseloomulikud irdjääst ehk aktiivsest liustikust eraldunud liikumatute jääpankade sulamisainesest kujunenud kuplikujulised künkad ja mõhnad (Karukäpp, 1974). Kui irdjääpangad hakkasid sulama umbes 10 000 aastat tagasi, siis täitisid küngastevahelised nõod veega. Ühest sellisest nõgude kogumikust on välja kujunenud tänapäevane Ähijärv. Sellisele piirkonnale on iseloomulikud liivmullad, mis pole kuigi sobivad tänapäevaseks põlluharimiseks. Sellegi poolest on mitmed uuringud näidanud, et järve ümbruses on inimasustus olnud juba kiviajast (Konsa, 2005; Poska jt, 2017; Valk, 2016). Tinglikult jooksebki Ähijärve kohalt maakasutuse piir, lõuna poole jääb püsiv metsane ja soine loodusmaastik, põhja pool on sobivamad alad põllundusele (vt viirutus joonisel 3).



Joonis 3. Ähijärve asukoht. Kivikirve, nooleotsa tüki ja kivikalme leiukohad, Värtemäe linnamäe asukoht ning muistsed põllud Ähijärve ümbruses. Ristiga on tähistatud järvesetete puurimiskoht. Kaart on koostatud QGIS rakendusega ja kasutatud on Eesti põhikaarti mõõtkavas 1:10 000 (Eesti topograafia andmekogu, 2020).

Ähijärv on karedaveeline (HCO_3^- 160 mg/l) ja nõrgalt aluseline (pH 8,3) rohketoiteline järv (üld-P 28 mg/m³; üld-N 560 mg/m³) (Palo ja Ott, 2019). Järve pindala on 191 ha ja kõrgus 78,2 m ümp. 2019. aasta lõpus viisid Tallinna Ülikooli Ökoloogia keskuse teadurid Egert Vandel ja Tiit Vaasma läbi Ähijärve batümeetrilise seire. Mõõtmistulemused näitasid, et järve põhjareljeef on väga varieeruv – järves on 2 väikest saart, üle 20 madaliku ja mitmed järsunõlvalised sügavikud. Suurim sügavus Ähijärves on 5,8 m ja keskmine sügavus 3,8 m (Vandel jt, 2020). Järve veevahetus on suhteliselt

aeglane (0,2 korda aastas). Sinna suubub kolm väikest oja ja välja voolab üks jõgi. Järve vesi on rohekaskollane ja läbipaistvus umbes 2 m. Vesi ei kihistu ning hapnikku leidub põhjani. Valglal (1289 ha) moodustab tänapäeval enamuse mets (73,6%), järgnevad põllu- (13,2%) ja rohumaad (4,5%) (Laarmaa jt, 2019; foto 1). Vanade kaartide (joonis 6) ning Tomsoni (2007) järgi oli põllundus rauaajal Ähijärve ümbruses peamiseks tegevusalaks.



Foto 1. Ähijärve ümbruses moodustab tänapäeval enamuse mets (73,6%), järgnevad põllu- ja rohumaad (Lust, 2020).

Kalaliikidest domineerivad särg ja ahven, kuid esineb ka teisi liike. Leidub ka palju jõe- ja järvekarpe, vähem on jõevähki. Järves on palju erinevaid vetikaliike, mistõttu on sagedased veeõitsengud. Liigirikas on ka zooplankton (29 liiki), kelle arvukamad esindajad on keriloomad ja vesikirbulised. Järve põhjas domineerivad järve-klaasiksääsk ja surusääsklased. Taimeliikide arvult (70 liiki) on järv rikas. Esindatud on pilliroog, hundinui, mürkputk, kollane vesikupp, penikeel ja teised (Laarmaa jt, 2019).

3. Setteproovide kogumine ja toetav andmestik

Ähijärve setteproovid koguti Tallinna Tehnikaülikooli professor Siim Veski, vanemteadur Atko Heinsalu ja teadur Normunds Strivinsi poolt 2013. aastal (foto 2). Proovimiskohas oli veesügavus 5,4 meetrit. Pinnaproovid (ülemised 38 cm, sügavused veepinnalt 541-578 cm) võeti Willneri puuriga, sest tegu oli püdel ja suure veesisaldusega settekihiga. Ülejäänud proovid võeti vene turbapuuriga ja puurauk ulatus 1540 cm sügavuseni veepinnalt. Seega on analüüsitav setteläbilõige 10 m pikkune.



Foto 2. Välitööd Ähijärvel 2013. aastal.

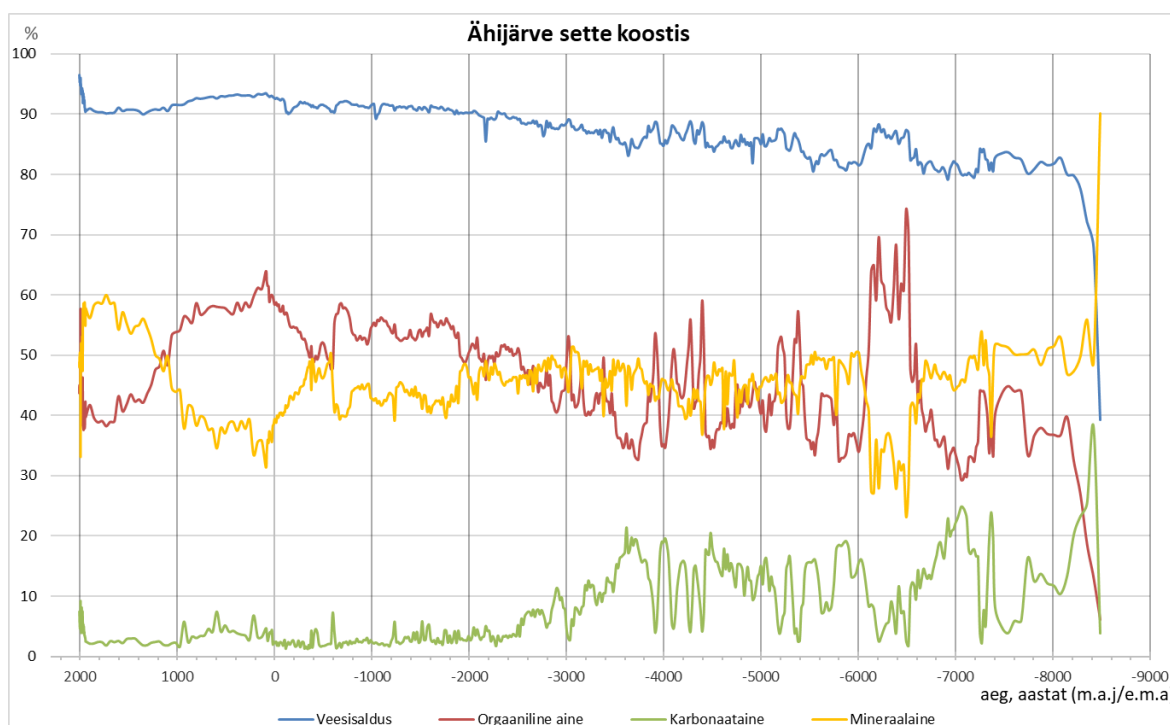
Isotoopväärtuste analüüsimisel on vajalik üldise keskkonnainfo tuvastamine, et tõlgendused oleks täpsemad. Taustinfona tulevad kasuks varasemad kirjeldused näiteks võõrliikide sissetoomisest, tööstusheitmete sisselaskmisest veekogusse jms tegevus, mis toob kaasa muutused veekogu toiduahelas ja veekvaliteedi languses (Lu jt, 2009). Lisaks sobivad toetavate andmetena sette koostise analüüs ning õietolmu- ja ränivetikaanalüüsid.

3.1. Ajaskaala ja setete koostis

Ähijärve ajaskaala põhineb 11 AMS (Accelerator Mass Spectrometry) radiosüsiniku dateeringul ja lendtuhaosakeste analüüsil. ^{14}C analüüsid telliti Poznani radiosüsiniku laborist ja saadud radiosüsiniku aastad kalibreeriti kalendriaastateks kasutades IntCal13 kalibreerimisandmebaasi (Bronk Ramsey, 2017; Reimer jt, 2020). Radiosüsiniku dateeringute alusel on Ähijärve setteläbilõige settinud ligi 11300 kalendriaasta jooksul. Lendtuhaosakesed on mikroskoopilised osakesed, mis

tekivad kütuste kõrgetemperatuurilisel põlemisel; nende kontsentratsioon pindmistes settekihtides järgib kütuste põletamise ajalugu konkreetses piirkonnas ning võimaldab selle alusel setteid kaudselt dateerida (Wik ja Renberg, 1996). Kogu paleo-andmestik siin töös on põhiliselt esitatud ajaskaalas (m.a.j./e.m.a.).

Ähijärve setteproovidest määrati sette veesisaldus, orgaanilise aine, karbonaataine ja mineraalne sisaldus (joonis 4). Paleolimnoloogias kasutatakse neid üldisi näitajaid põhjasetete omaduste hindamisel ning sette vanuse ja järvevee keskkonnaseisundi modelleerimisel. Sette veesisalduse määramiseks kuivatatakse varem kaalutud märjad setteproovid 105 °C juures stabiilse kaaluni ehk seni kuni vesi oli lõplikult aurustunud. Orgaanilise aine sisalduse leidmiseks põletatakse kuivatatud setteproovid muhvelahjus 550 °C juures 4 tundi ja karbonaataine tuvastamiseks 950 °C juures 2 tundi (Heinsalu ja Alliksaar, 2005). Põletamise käigus tekkinud kaalukao alusel arvutatakse vastavalt orgaanilise ja karbonaatsa aine protsentuaalne sisaldus sette kuivaines. Kusjuures kaalukadu 950 °C juures tähistab tegelikkuses põletamisel eraldunud anorgaanilist süsinikku CO₂ näol, karbonaataine ehk karbonaatiooni (CO₃⁻²) arvutamisel korrutatakse vastav kaalukadu 1,36-ga (Heiri jt, 2001). Järve valgalt järve kantud terrigeense aine ehk mineraalne sisaldust proovides näitab muhvelahjus põlemata jäänud aine kogus (Heinsalu ja Alliksaar, 2005).



Joonis 4. Ähijärve sette veesisaldus (%), orgaanilise aine, karbonaataine ja mineraalne sisaldus (kõik % sette kuivkaalust).

Ähijärve sette koostis on aastatuhandete jooksul pidevalt muutunud (joonis 4). 11 000 aastat tagasi ehk jääaja lõpus (9000 e.m.a.) oli järve sette koostises palju mineraal- ja karbonaataineid ehk sete koosnes peamiselt liivasest materjalist (foto 3). Sel ajal hakkasid liustikust mahajäänud jääpangased sulama ja tekkis algne Ähijärv, mis võis koosneda mitmest eri järvenõost. Kohati oli sulavate jääpangade peal juba taimestikku, ka puid, mille tükid jää sulades sattusid järve põhjasetetesse (puit

fotol 3). Järve ja elustiku tekkega tõusis orgaanilise aine hulk settes, mis on aastatuhandete jooksul olnud varieeruv – inim- ja/või kliimaatiliste mõjutuste tagajärjel on olnud orgaanilise aine rikkamaid perioode (umbes 6000 e.m.a.), viimase 2000 aasta jooksul on orgaanilise aine sisaldus järvesettes pidevalt vähenenud. Settes suurenes ka veesisaldus, mis on tänapäevani enam-vähem stabiilsena püsinud. Karbonaataine sisaldus järvesettes on viimasel viiel aastatuhandel olnud võrdlemisi stabiilselt madal, kuid esimesed 6000 aastat varieerus karbonaataine hulk suuresti ning oli märkimisväärselt suurem, ulatudes maksimaalselt ligi 40%-ni. Mineraalainet on samuti olnud üsna vahelduvas koguses.



Foto 3. Ähijärve orgaanilise sette kõige alumine osa ja üleminek liustikulisele liivale. Noa otsaga on osutatud puidutükile settes. Glatsiokarstiliste järvede tekke algfaasides on tihti rohkelt maismaalist materjali.

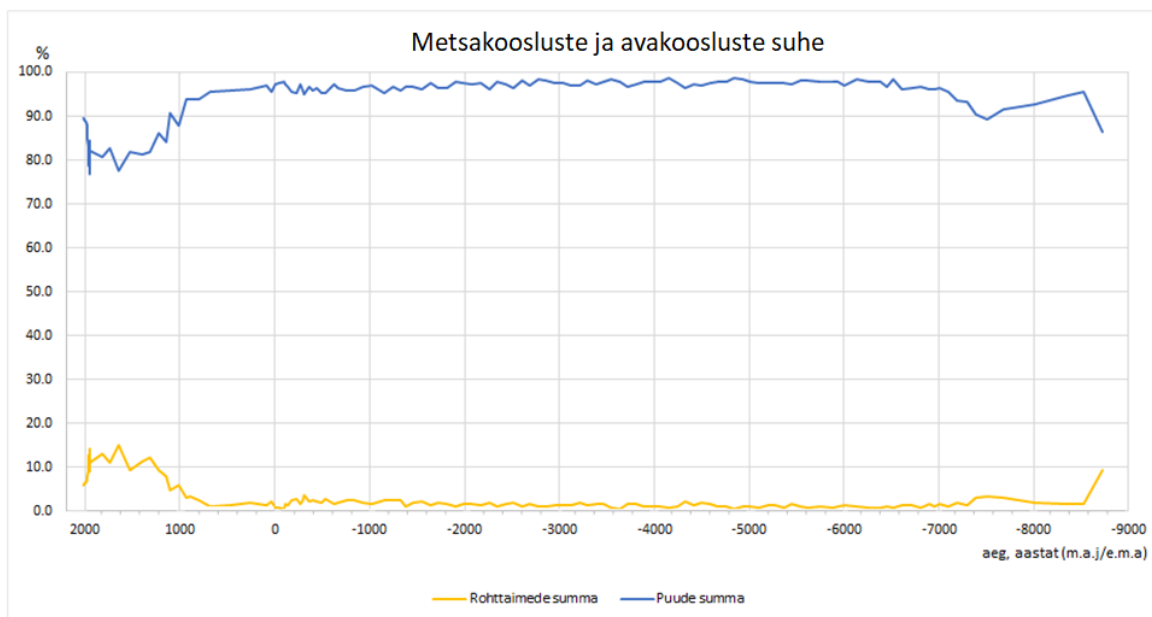
3.2. Õietolm: kliima ja inimtegevuse mõju metsakoosluste arengule

Õietolmuanalüüsi jaoks eraldatakse järvesetest keemilise töötusega õietolmuterad ja eosed (Poska jt, 2018). Mikroskoopilise vaatluse käigus määratakse proovides leiduvate õietolmuterade ja eoste liigiline koostis ja vahekord. Ühest settekihist loendatud õietolmuterade ja eoste andmetega saab koostada õietolmuprofiilid. Profiilide abil on võimalik rekonstrueerida taimkatte areng minevikust tänapäevani (Koff, 2017).

Ähijärves on õietolmupõhist taimkatte arengut ja maakasutust uurinud Poska jt (2018). Õietolmuanalüüsiks võeti setteläbilõikest proovid 1-5 cm intervalliga. Igast proovist loendati ja määrati vähemalt 1000 õietolmutera. Uuringute käigus koostati taimkatte rekonstruktsioon, mis kajastab viimase 11 000 aasta jooksul toimunud muutusi taimkattes järvest 50-100 km raadiuses ja ka järves sees (veetaimede õietolm).

Metsa ja rohttaimede hulga protsentuaalsed muutused ajas annavad informatsiooni piirkonnas valitsenud kliimaatilistest tingimustest ja viimastel aastatuhandetel ka inimtegevuse mõjust (joonis 5). Jääaja lõpus oli piirkonnas kuiv ja jahe kliima, mistõttu valitsesid seal rohttaimed ning kasemets üksikute mändidega. Jäävaheaja ehk Holotseeni alguses (7000-4000 e.m.a) kliima soojenes ja kujunes välja parasvöötmele iseloomulik taimestik. Levisid laialehised lehtmetsad, kus valitsevateks liikideks olid tamm, pärn, jalakas, saar ja sarapuu. Külmalembelisi puid ja rohttaimi oli suhteliselt vähe. Kliima jahenemine 4000-3000 e.m.a tõi kaasa uued muutused. Soojalembelised lehtpuud

asendused külmalembeliste okaspuudega, peamiselt kuusega. 3000-1800 e.m.a. kujunesid külmalembeliste puudega segametsad, kus valitsevaks puuliigiks oli kuusk. Pronksiaja keskpaigani (u. 1000 e.m.a.) oli metsakooslustes valitsev laialehiste liikide ülekaal (Poska jt, 2017).



Joonis 5. Metsakoosluste ja avakoosluste suhe Ähijärve ümbruses. Rohttaimed moodustavad erinevad teraviljaliigid, apofüüdid ja muud põllu- ja aasataimed. Puuliikidest on esindatud erinevad leht- ja okaspuud.

Nooremal pronksiajal (1000-500 e.m.a.) hakkas metsakoosluste osatähtsus võrreldes avamaakooslustega vähenema, sest piirkonnas algas aktiivsem teraviljakasvatus. Õietolmuanalüüs näitab, et rohttaimede hulgas muutus teraviljade õietolm nooremal pronksiajal püsivaks komponendiks. Samuti suurenes siis teiste rohttaimede ja apofüütide hulk, mis näitab karjakasvatusega tegelemist Ähijärve ümbruses. Teravilja- ja karjakasvatusega kaasnes metsade raadamine, mille tagajärjel langes metsakooslustes laialehiste puude osakaal. Valitsevaks puuliigiks sai kask, sest hooajaliselt ja järk-järgult aletatud maade metsastumisel on kask peamine pioneerliik. Rauaaja alguses (500 e.m.a. – 550 m.a.j.) jätkus rohttaimede, apofüütide ning teraviljade osakaalu tõus ehk piirkonnas tegeleti aktiivselt maaviljelusega (Veski jt, 2020). Rauaaja lõpus (550-1200 m.a.j.) teraviljade osakaal langeb. Seda võib seletada 6.sajandil toimunud lühiajalise kuid järsu kliima jahenemisega aga ka asustuse vähenemisega mingil põhjusel. Kuid juba 7. sajandil oli asustus taas tihenunud ja seeläbi rohttaimede osakaal taas tõusis. 13. sajandil toimub hüppeline metsade raadamise suurenemine ehk valitsevaks puuliigiks saab taas kask. Seda võib seletada nn mõisaaja algusega Eestis, kui asustusmuster muutus ja kasutusele võeti uuemad põllundustehnikad ja alad. Suured muutused rohttaimede ja puude osakaalus on hästi jälgitavad ka õietolmupõhises graafikus joonisel 5. Sealt on näha kuidas rohttaimede hulk on umbes 7. sajandist hüppeliselt tõusnud ja samaaegselt on toimunud erinevate puuliikide vähenemine. 16.–19. sajandil saab maakasutuses välja tuua lühiajalisi ja pikemaajalisi rohttaimede hulga vähenemisi. Eesti Vabariigi 1:200 000 topograafiliselt kaardilt (joonis 6) leiab andmeid Ähijärve piirkonna kohta aastatel 1935-1938. Kaardilt saab välja lugeda, et valitsevad olid lehtpuumetsad ning avatud maastik järve ümbruses oli

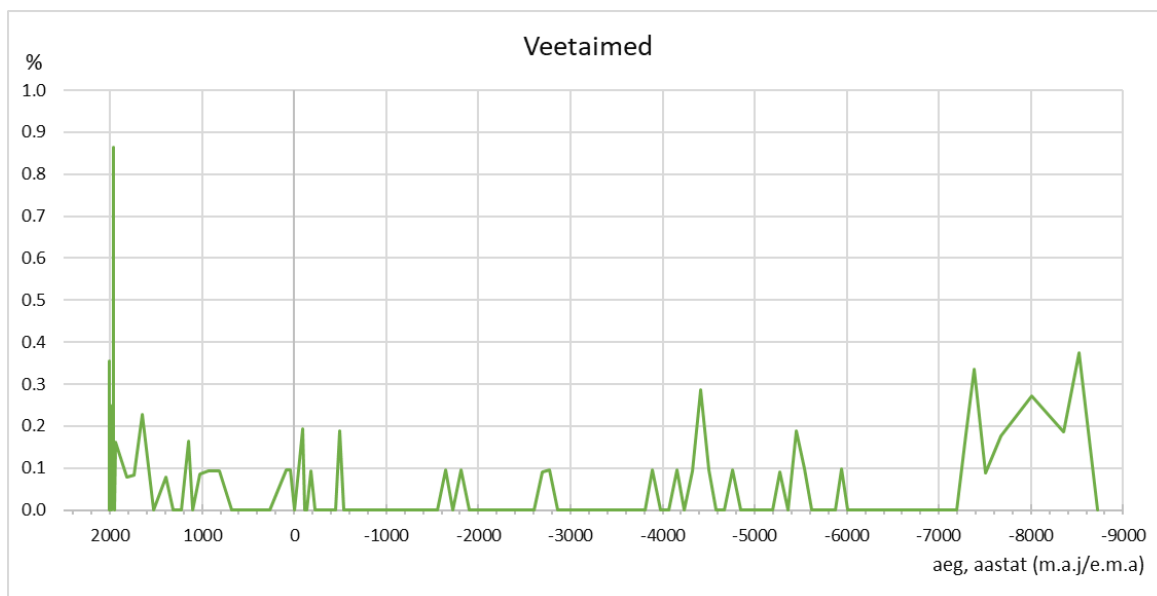
lialdasem, vähem leidus rohttaimi, mis on esindatud põllumaal (Topo-Hüdrograafia Osakond, 1935-1938). Viimaste sajandite vältel on uuesti jälgitav teraviljade osakaalu kasv, mis näitab teraviljakasvatuse tähtsuse tõusu maaviljeluses (Poska jt, 2017).



Joonis 6. Eesti Vabariigi 1:200 000 topograafiline kaart (Topo-Hüdrograafia Osakond, 1935-1938). Kaardi leppemärgid on lisa 1 (Traksmaa jt, 1933).

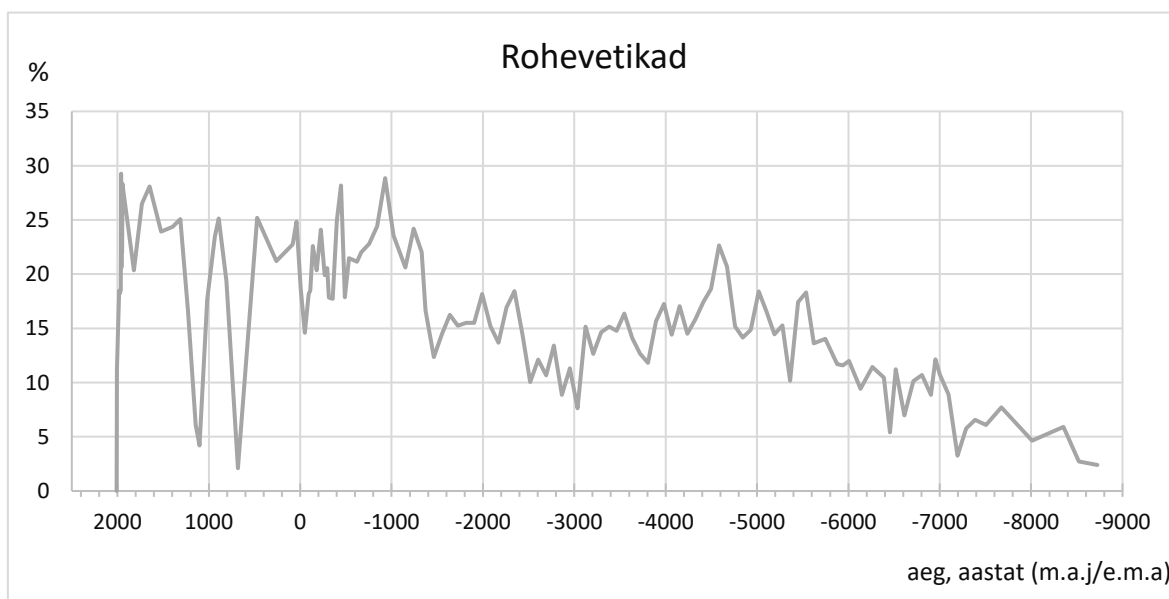
3.3. Õietolm ja vetikad: järvesisese keskkonna muutused

Järve veetaimede ja vetikate uurimine on oluline veeõitsengute ja järve troofsuse muutuste selgitamiseks. Veetaimede vohamise peamised põhjused on näiteks põllumajandusest pärinevad toitained ja tööstusest pärinev reovesi ning õhusaaste (Rakko jt, 2008). Poska jt (2018) õietolmuuringute põhjal tehtud joonisel 7 on välja toodud muutused uurimisobjekti järvesisese taimestiku rohkuses. Graafikult saab välja lugeda, et on olnud perioode, mil veetaimed on rohkem esinenud. 9000-7400 e.m.a toimus veetaimede vohamine, sest järve veetase oli ilmselt veel madal ja valgla erosioon tõi järve palju toitained. 6000-4000 e.m.a. toimus taas veetaimede suurem levik, kuna sel ajal oli Holotseeni kiimaoptimum ja seetõttu suurem õietolmu produktsioon. Viimased 2500 aastat on inimtegevuse tõttu toimunud järve troofsuse muutus, mistõttu veetaimedel on suurem produktsioon, eriti viimastel aastatel.



Joonis 7. Järvesisese veetaimestiku õietolmu suhteline sisaldus Åhijärve setetes.

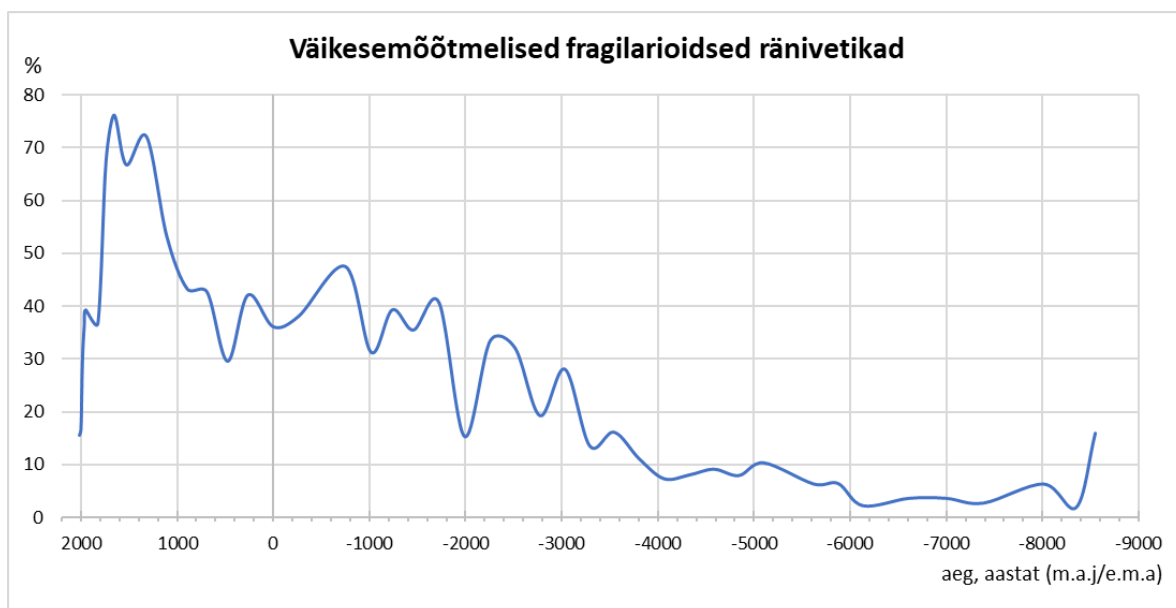
Rohevetikate jäänused on settes pidevalt esindatud, sest rohevetikad sisaldavad sporopolleniini ja säiluvad seetõttu settes hästi. Åhijärve setetest analüüsisid rohevetikaid Poska jt (2018) ja leidsid, et nende sisaldus on kogu aeg suurenenud (joonis 8). Tänapäeval on biomassilt ülekaalus sini- ja ränivetikad, mistõttu esinevad sagedased veeõitsengud. 20. sajandi esimesel poolel alandati järve veetaset 2 m võrra. See suurendas oluliselt järve toitelisust, millest kõnelevad järves valitsevad liigid (sinivetikad, penikeel jms) (Laarmaa jt, 2019). Järve toitelisuse hüppeline kasv on näha ka joonisel 7 ja 8, kus viimasel sajandil on toimunud rohevetikate ja veetaimede osakaalu märgatav tõus. Viimastel aastakümnetel on suurenenud intensiivne põllumajandusest tulenev toitainete sissekanne järve. Selle tulemusena on Åhijärvel oht servadest kinni kasvada, kuid olukorda annaks parandada veetaseme tõstmine (Rakko jt, 2008).



Joonis 8. Rohevetikate suhteline sisaldus Åhijärve setetes.

Ränivetikad ehk diatomeed (*Bacillariophyceae*) on mikroskoopilised vetikad, mille liikide kooslus sõltub veekogu keemilistest ja füüsilistest tingimustest. Diatomeed paljunevad kiiresti ja reageerivad kiirelt vee koostise muutustele, mistõttu nende koosluste muutumist iseloomustab lühike viibeperiood. Ränivetikate uurimine võimaldab rekonstrueerida veekogus toimunud keskkonna muutusi, sest nad on tundlikud indikaatorid veekogu toitainete sisalduse, pH ja temperatuuri muutuste suhtes. Ränivetikate uurimine on keskkonnauuringutes väga levinud, sest nende kest koosneb ränioksiidist, mistõttu säilivad nad hästi põhjasetetes (Heinsalu ja Alliksaar, 2005).

Siinses töös on esitletud Ähijärve setetest analüüsitud väikesemõõtmeliseid fragilarioidseid ränivetikaid (joonis 9), kes kinnituvad järve põhjas aleuriidile ja liivale ning näitavad erosiooni järve valglalt või litoraalist (Rühland jt, 2015). Nende sisalduse muutuste alusel saab kirjeldada maakasutuse muutust järve ümber, põllundust ning sellega seotud mineraalosakeste kannet järve. 11000 aastat tagasi oli nende ränivetikate osakaal peaaegu 5000 aastat üsna stabiilselt madal, kuid siis umbes 3000 aastat e.m.a. hakkas tasapisi tõusma. Saab eristada tõusu-languse perioode, märkimisväärne tõus toimus u 1000 aastat m.a.j. Viimastel aastasadel on väikesemõõtmeliste fragilarioidsete ränivetikate osakaalus toimunud järsk langus, mida võib seostada inimese tegevuse suurenemisega piirkonnas ning järve üldise eutrofeerumisega.



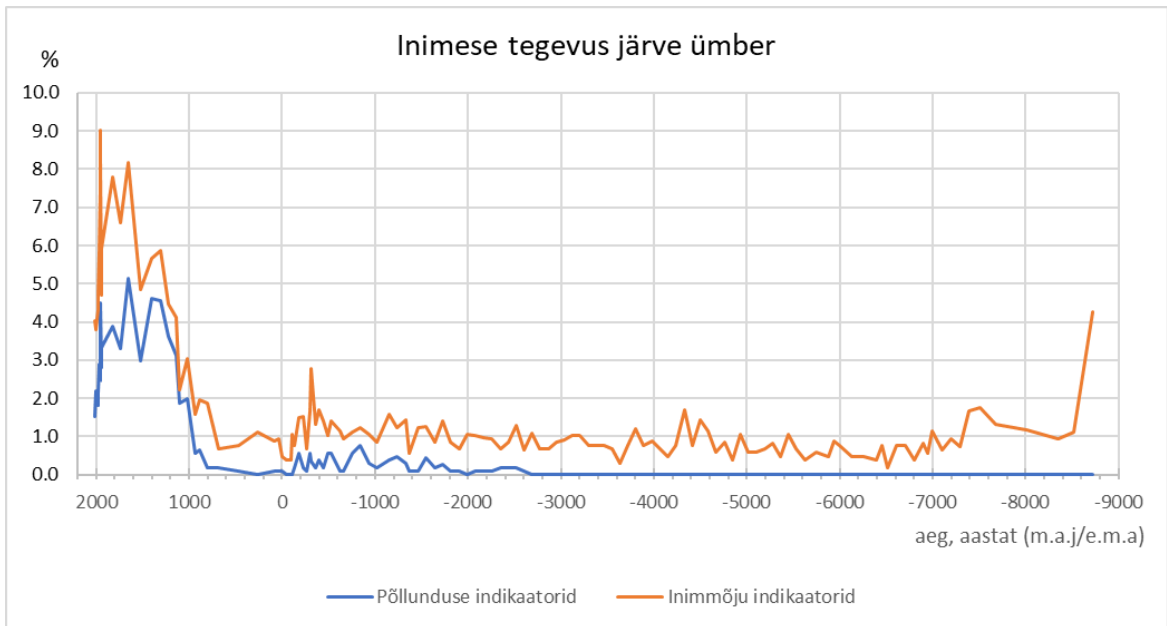
Joonis 9. Ähijärve settest kirjeldatud väikesemõõtmeliste fragilarioidsete ränivetikate suhteline sisaldus (Atko Heinsalu, avaldamata andmed 2021).

3.4. Arheoloogilised leiud ja õietolm: inimese tegevus järve ümber

Inimese tegevuse kohta Ähijärve ümbruses annavad tõendust arheoloogilised leiud ja inimtegevuse indikaatorid järvesetetes. Näiteks viitavad erinevate tööriistade leiud maaharimise viisile, matmispaigad kultuurilisele arengutasemele, linnamäed aga kogunenud varale, mida oli vaja kaitsta jne (Veski ja Poska, 2005). Arheoloogilised leiud Karula kõrgustikul näitavad, et esimesed inimesed

elasid sealkandis juba keskmisel kiviajal (9500-5000 e.m.a). Tähelepanuväärseim tõend inimasustuse kohta sellest ajast on tulekivist nooleotsa tükk (joonis 3), mis on leitud Alakonnu järve kaldalt. Nooleotsa kujus ja töötlusel on varamesoliitikumile iseloomulikud jooned, mis tõendavad Kunda kultuuri aegset elutegevust, st küttimist ja korilust - maaharimine sellel perioodil puudus. Uued arheoloogilised leiud inimtegevusest tulevad uuesti esile nooremal kiviajal (3000-1800 e.m.a). Sellest ajast on leitud Ähijärve piirkonnas kivist kirveid (joonis 3), mis viitavad inimese asustusele. Rauaajast (50-450 m.a.j.) on Karula kõrgustikul leitud mitmeid jälgi matusepaikadest, aga ka põllundusest ja linnamägedest. Üks selline kivikalme on leitud Ähijärve loodeosa kõrgel kaldapealsel (joonis 3) (Konsa, 2005). Lisaks on joonisel 3 välja toodud ka Ähijärve ümbruse muistsed põllud (Ponomarenko jt, 2019; Tomson jt, 2015) ja Värtemäe linnamägi, mis annab tõestust ühiskonna organiseeritusest ja võimalikust sõjalisest ohust (Valk, 2016). Hilisrauaajal (1020-1200 m.a.j.) laieneb piirkonnas asustus – rajatakse kirik ja tekib kihelkonna keskus Lüllemäel. Alates keskajast (1200 m.a.j.) suurenes piirkonna asustus veelgi – kujunesid talud ja mõisad. Mõisate põllumajandusmaad jaotati 1920-ndatel talude vahel ja siis toimus veelgi suurem asustuse tihenemine (Poska jt, 2017). Eesti Vabariigi 1:200 000 topograafiliselt kaardilt (joonis 6) on näha, et maa oli endiselt talude vahel jaotatud ning piirkonnas tegeleti põlluharimise ja metsandusega. Selleks ajaks oli kujunenud kindel asustus – tekkinud suuremad asulad, talud, kirik (Topo-Hüdrograafia Osakond, 1935-1938). II maailmasõja ja küüditamise tõttu algas talude tühjenemine ning põllu- ja heinamaade metsastumine (Poska jt, 2017).

Arheoloogiliste leidude asukohad paiknevad liivastel ja kergetel muldadel, järvede või jõe läheduses. Selline asustuspaiknemine võis olla seotud põlluharimiseks sobilike tingimustega. Õietolmuanalüüsi põhjal tekivad esimesed märgid maaviljelusest 3900-3100 e.m.a. Õietolmuteradest on kõige varasemad tõendid odra ja nisu kohta, mis on viljelusmajanduse tunnuseks (Konsa, 2005). Poska jt (2017) setete õietolmu uuringute põhjal koostatud graafik (Joonis 10) näitab, et põllunduse indikaatorid ehk märgid maaviljelusest (oder, tatar jne) avalduvad Ähijärve kallastel umbes 3000 aastat e.m.a. Sellest 4000 aastat hiljem ehk aastast 1000 m.a.j. tõuseb settes teraviljade õietolmu sisaldus märkimisväärselt. Samaaegselt tõusevad ka teised inimõju indikaatorid ehk inimkaaslejad rohttaimed, mis näitavad avatud rohumaade ja karjakasvatuse kiiret kasvu piirkonnas. Kasvav rohttaimede hulk vihjab karjakasvatusele. Varasem (alates 9000 aastat e.m.a) ohtrus rohttaimede esinemises viitab pigem looduslikele avakooslustele, sest Vara-Holotseeni metsad olid hõredad ning rohttaimedel oli võimalus rohkem õietolmu toota. Hilisemal ajal on eristatavad lühiajalised perioodid, kus rohttaimede ja teravilja osakaal väheneb. See võib viidata piirkonnas levinud epideemiatele, sõdadele ja teistele häiringutele inimasustuses.



Joonis 10. Inimese tegevus Ähijärve ümber õietolmuanalüüsi põhjal. Põllunduse indikaatorid (suhteline sisaldus õietolmus) – erinevad teraviljad nagu oder, nisu, rukis, tatar jne, aga ka otsesed põlluumbrohud nagu rukkilill. Inimmõju indikaatorid (suhteline sisaldus õietolmus) – erinevad inimkaaslejad või inimese tegevuse poolt soodustatud rohttaimed, näiteks nõges, ohakas, raudrohi jne.

4. Isotoopmeetodi materjal ja meetodika

Oma magistritöös lähtusin kahest eesmärgist, esiteks efektiivseima eeltötlusmeetodi väljaselgitamine isotoopanalüüsiks, milleks valisin välja 6 proovi Ähijärve setete sügavusvahemikust 604-1472 cm veepinnalt (tabel 2) selle järgi, et nende proovide karbonaataine sisaldus oleks võimalikult erinev. See oli vajalik selleks, et erinevaid eeltötlusmeetodeid katsetades selgitada välja, kas erineva kontsentratsiooniga hape ja töötusaeg on piisav, et karbonaatainest vabaneda. Valitud proovide karbonaataine sisaldus jäi vahemikku 5,7% kuni 37,9%.

Töö teiseks eesmärgiks oli rakendada saadud oskusteavet konkreetse järve setete analüüsil. Ähijärve täisläbilõike analüüsimiseks võtsin 64 setteproovi sügavusvahemikust 541-1480 cm veepinnalt, mis ajaliselt katab viimased 10 500 aastat, tehes proovide eeltötluse oma valitud meetodi kohaselt ning andes ülevaate antud perioodi kliima- ja keskkonnamuutustest.

4.1. Proovide ettevalmistamine

Setteläbilõike pindmised proovid sügavusel 541-578 cm veepinnalt olid vedelad, võetud Willneri puurtoruga, tükeldatud 1-sentimeetristeks lõikudeks ja pakendatud kilekottidesse. Sealt sügavamal olevad proovid kuni 1480 cm-ni veepinnalt olid tahkemad ja need võtsin sette puursüdamikest. Igat proovi võtsin spaatli otsatäie ja panin portselantiiglisse. Pärast proovide sügavkülmutamist (24 tundi) asetasin tiiglid 48 tunniks külmuivatisse. Pärast lüofiliseerimisprotsessi panin proovid eksikaatorisse, et vältida niiskuse juurdepääsu. Seejärel olid proovid valmis edasiseks töötamiseks.

4.2. Proovide homogeniseerimine

Massispektromeetritelisteks uuringuteks on vajalik proovid homogeniseerida. Näiteks leidub settes mitmeid suuremaid taimeosasisid, mis võivad homogeniseerimata jätmisel sattuda juhuslikult valimisse ja seeläbi tulemust mõjutada. Seega tagab ühtlane materjal korrektse analüüsi tulemuse. Sette jahvatamiseks on erinevaid meetodeid nagu käsitsi jahvatamine (Simmons, 1991), ultratsentrifuugimine, ultraheliga homogeniseerimine jne. Enamus meetodeid on aeganõudvad või kallid, mistõttu on üks sobivaid viise jahvatamine mikserveskis terasest kuulidega ja selleks sobivates Eppendorfi mikrokatsutites, mida saab veskisse korruga paigaldada 20 tükki. See meetod on kiire, lihtne ning proovi ei lähe kaduma, sest protseduur viiakse algusest lõpuni läbi ühes ja samas katsutis. Kuid selle meetodi puhul on täheldatud, et ühe ja sama proovi puhul võivad isotoopsuhte väärtused suuresti varieeruda (Isaac-Renton jt, 2016). Seda võib põhjustada polüpropüleenist (PP) valmistatud katsuti hõõrdumise teraskuulidega jahvatamise käigus. Polüpropüleenist toodetud plastik pärineb fossiilsetest kütustest, mille isotoopsuhte väärtused on vastavad eelajaloolistele taimedele. Plastiku sattumine proovi võib põhjustada ebaõigeid isotoopsuhte väärtuseid, mis raskendavad tulemuste interpreteerimist (Isaac-Renton jt, 2016).

Isaac-Renton jt (2016) viisid läbi erinevaid katseid, mille käigus vaadeldi katsutist/proovitopsikust pärineva plastiku mõju proovile. Katsetati erinevate proovikogustega, terasest kuulikeste arvuga ja jahvatamise ajaga. Uuringutest selgus, et mida vähem on proovi, seda suurem risk on plastikuga

saastumiseks. Kui topsti pandi 10 mg proovi, siis oli kuulidel rohkem ruumi ja tõenäosus plastikuga kokku puutudes proovi saastada oli suur. Suurema proovikoguse (40 mg) puhul täheldati, et proov polnud jahvatamise järel täielikult homogeenne ja selle uuesti jahvatamine oleks tõstnud polüpropüleeniga saastumise võimalust. Katsete läbiviijad ise katsetatud jahvatusmeetodit kasutada ei soovita. Plastikust topside asemel soovitavad nad kasutada näiteks keraamilisi jahvatusanumaid.

Minu magistritöös kasutatava settematerjali analüüsimiseks oli samuti vajalik proov ühtlaseks jahvatada. Toetudes varasematele uuringutele katsetasin ise laboris kahte homogeniseerimise meetodit: mikserveskiga jahvatamine terasest kuulidega Eppendorfi mikrokatsutites ja mikserveskiga jahvatamine ahhaadist anumates, kus saastumine on välistatud. Lähtudes Isaac-Renton jt (2016) läbiviidud katsetest leidsin, et plastikkatsutites jahvatamiseks on sobiv võtta proovi rohkem kui 10 mg ja vähem kui 40 mg. Seega kaalusin Mettler Toledo analüütilise kaaluga ~25 mg proovi. Selleks, et proov saaks võimalikult homogeenne, tuleks kasutada rohkem terasest kuule. Isaac-Renton jt (2016) kasutasid kolme kuuli, kuid neil jäid proovid kohati heterogeensed. Seetõttu kasutasin mina nelja kuuli. Selle meetodiga sain korraga jahvatada 20 proovi. Kasutasin laboris olevat mikserveskit RETSCH MM 400 ja jahvatusaega 10 minutit. Alternatiivse meetodina kasutasin plastikust katsutite asemel ahhaadist anumaid ja ahhaadist kuule. Need on spetsiaalsed eelpool mainitud mikserveskiga kokkusobivad anumad ja korraga saab neis jahvatada kaks proovi.

Katseteks võtsin proovid Ähijärve setetest neljalt eri sügavuselt: 585 cm, 600 cm, 870 cm ja 900 cm (sügavused veepinnalt). Kõik proovid homogeniseerisin kahel viisil: plastikust katsutites ja ahhaadist anumates. Katse eesmärk oli välja selgitada kui palju muudab plastikkatsutites teraskuulidega jahvatamine proovide isotoopsuhte väärtusi ja kas on võimalik seda meetodit kasutada, et lühendada proovide ettevalmistusaega. Et mõõta neis proovides isotoopsuhte väärtuseid valmistasin ma proovid ette kahel viisil - töötlemata kujul ja happega töödeldud kujul orgaanilise aine isotoopkoostise määramiseks. Töötlemata proovid kaalusin kahes korduses tinatopsidesse, pakkisin topsid kuuliks (foto 4) ja proovid läksid massispektromeetrisse analüüsimiseks. Teised proovid töötlesin happega selleks, et vabaneda anorgaanilisest süsinikust ja selgitada, kas happega töötlus mõjutab lämmastiku isotoopsuhte väärtuseid. Happega eeltöötlusmeetod pole üheselt selge ja selle probleemi juurde tulen uuesti magistritöö järgmistes, metoodilise osa peatükkides. HCl töötluks, vabanemaks anorgaanilisest süsinikust, kaalusin homogeniseeritud proovid kolmes korduses hõbetopsidesse, mis erinevalt tinatopsidest kannatavad happetöötlust. Lisasin proovidele ~0,05 ml 1% HCl hapet ja asetasin nad eksikaatorisse. Eksikaatori põhja panin Petri tassi, milles oli 50 ml 36% vesinikkloriidhapet. Proovid olid eksikaatoris happeauru all 24 tundi, misjärel tuuldusid nad happeaurudest tõmbekapis. Seejärel kuivasid proovid 2 päeva kinnises eksikaatoris ja 4 päeva 35-40 kraadi juures kuivatuskapis vastavalt Harris jt (2001) soovitatule ja modifitseerides seda meie labori võimekuse järgi. Lõpuks pakkisin hõbetopsid tinatopsidesse ja need läksid massispektromeetrisse mõõtmiseks. Töötlemata proovidest mõõtsin lämmastiku isotoopsuhte väärtused ja happega töödeldult proovidest lämmastiku ning süsiniku isotoopsuhte väärtused (tabel 1).



Foto 4. Hõbetopsides olevaid proove tinatopsidesse ja kuuliks pakkimas.

Proov	Kordus	Töötlemata proovid		Happeauruga töödeldud proovid			
		$\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$	$\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Keskmine	$\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$	$\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ Keskmine	$\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	$\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Keskmine
Ahi_585_eppen	A	4,1	4,1	3	3,2	-26,1	-22,2
Ahi_585_eppen	B	4,1		3,4		-22,4	
Ahi_585_eppen	C	-		3,2		-18,2	
Ahi_585_ahhaat	A	4	4	3,3	3,3	-22,7	-22,6
Ahi_585_ahhaat	B	4		3,2		-22,5	
Ahi_600_eppen	A	4,2	4,3	3,7	3,7	-32,8	-32,8
Ahi_600_eppen	B	4,3		3,5		-32,8	
Ahi_600_eppen	C	-		3,8		-32,9	
Ahi_600_ahhaat	A	3,9	4	3,5	3,4	-33,4	-33,4
Ahi_600_ahhaat	B	4		3,5		-33,3	
Ahi_600_ahhaat		-		3,3		-33,4	
Ahi_870_eppen	A	2,6	2,6	1,8	1,7	-31,9	-31,9
Ahi_870_eppen	B	2,6		1,7		-31,9	
Ahi_870_eppen	C	-		1,7		-31,8	
Ahi_870_ahhaat	A	2,6	2,6	1,7	1,8	-31,9	-31,9
Ahi_870_ahhaat	B	2,5		1,9		-32	
Ahi_870_ahhaat	C	-		1,8		-31,9	
Ahi_900_eppen	A	2,7	2,7	1,9	2,1	-23,2	-22,4
Ahi_900_eppen	B	2,7		2,5		-21,7	
Ahi_900_eppen	C	-		2		-22,3	
Ahi_900_ahhaat	A	2,7	2,7	2,2	2	-22,4	-22,3
Ahi_900_ahhaat	B	2,6		1,8		-21,7	
Ahi_900_ahhaat	C	-		1,9		-22,7	

Tabel 1. Proovide homogeniseerimise katse tulemused, lämmastiku ja süsiniku isotoopsuhte väärtused töötlemata ja happeauruga töödeldud proovides.

Homogeniseerimise katse tulemused näitavad, et kõikide mõõdetud parameetrite puhul, nii eeltöödeldud kui töötlemata proovides, varieeruvad kordustulemused vähe. Samuti on väga väike erinevus isotooptulemustes kui proovid on homogeniseeritud kas plastikust või ahhaadist anumast. Näiteks lämmastiku isotoopsuhte väärtuste mõõtmised eeltöötlemata proovidest settesügavuselt 870 cm ja 900 cm näitavad nii plastikust kui ahhaadist homogeniseeritud proovidel samu väärtusi. Samad väärtused on saadud ka orgaanilise süsiniku isotoopmõõtmistel happega eeltöödeldud proovidest settesügavuselt 870 cm. Suurimad erinevused homogeniseerimise katses tulid süsiniku isotoopsuhte väärtustel settesügavusel 600 cm, kus erinevus meetodite vahel on 0,6 ühikut. Teistel mõõtmistel on kõikumine 0,1-0,4 ühikut, mis ei ole väärtuste interpreteerimise puhul suur erinevus.

4.3. Lämmastiku isotoopsuhte analüüs

Lämmastikku esineb nii anorgaanilise kui orgaanilisena, kuid tema $\delta^{15}\text{N}$ väärtuseid mõõdetakse üldlämmastikust. Enamus maismaataimi seovad lämmastikku otse atmosfäärist ja nende puhul jäävad $\delta^{15}\text{N}$ väärtused 0‰ ümber. Järvesisese päritoluga materjalil ja loomadel on lämmastiku isotoopsuhte väärtused suuremad, jäädes vahemikku 4‰-10‰ (Talbot, 2001). Et sageli on proovidest vaja mõõta nii lämmastiku kui süsiniku isotoope, siis on teaduskirjanduses tekitanud problemaatikat nende elementide samaaegne mõõtmine. Süsiniku isotoopsuhte mõõtmisel on vajalik proovide eelnev happega töötlemine, et vabaneda anorgaanilisest süsinikust. Samas on leitud, et happega töötlemine mõjutab lämmastiku isotoopsuhte väärtuseid (Walthert jt, 2010). Seetõttu on oluline välja selgitada, kas saab $\delta^{13}\text{C}$ ja $\delta^{15}\text{N}$ mõõtmisi teostada üheaegselt või eraldi.

Lämmastiku isotoopsuhteid on oma töödes mõõtnud näiteks Gälman jt (2009), Ryba ja Burgess (2002) ja mitmed teised. Ryba ja Burgess (2002) mõõtsid erinevate elementide isotoopsuhteid järvesettes. Nad töötlesid kõiki proove happeauruga ja happesuga. Happeauruga töötlemiseks kasutasid nad 250 ml 1 M HCl hapet 18 tunni jooksul. Happepesuga töötlemiseks kasutati sama hapet seni kuni proovi pH oli ≤ 2 . Oma katsetes märkasid nad, et happeauruga töötlemine tõstab lämmastiku isotoopsuhte väärtusi ja happesuga teeb isotoopsuhte väärtused väiksemaks. Muutuseid lämmastiku isotoopsuhte väärtustes pärast happeauru all töötlemist märkasid oma katsetes ka Walthert jt (2010). Oma katsetes hoidsid nad proove 37% vesinikkloriidhappe auru all 32 tundi. Pärast happeauruga töötlemist olid nende mõõdetud $\delta^{15}\text{N}$ väärtused hoopis madalamad. Selleks, et vältida võimalikke kõrvalekaldeid lämmastiku isotoopsuhte väärtustes soovitakse lämmastikku mõõta happega töötlemata proovidest.

Selleks, et kontrollida happe mõju lämmastiku isotoopsuhte väärtustele, katsetasin ise HCl töötlust Ähijärve setteproovidega. Oma katsetes mõõtsin töötlemata ja happeauru all olnud proove. Katsed viidi läbi samade proovide ja meetoditega nagu homogeniseerimise alapeatükis. Lämmastiku isotoopsuhte $\delta^{15}\text{N}$ analüüsimiseks tehtud katse tulemused (tabel 1, st homogeniseerimise tabel) näitavad, et happega töötlemine mõjutab lämmastiku isotoopsuhte väärtuseid, muutes tulemused väiksemaks. Saadud tulemus on sarnane Walthert jt (2010) katsete tulemusega. Samuti näitasid happeauruga töödeldud proovide mõõtmistulemused suurt varieeruvust (0,4-0,9 ühikut).

Kokkuvõtvalt näitavad selle katse tulemused, et tuleks eelistada lämmastiku isotoopsuhte mõõtmist töötlemata proovidest.

4.4. Süsiniku isotoopsuhte analüüs

Süsiniku isotoopide uurimine järvesetest on laialtlevinud meetod. See aitab jälgida süsiniku teekonda ja päritolu settes. Järvesettes oleva süsiniku moodustavad anorgaaniline ja orgaaniline süsinik. Anorgaanilise süsiniku moodustavad peamiselt karbonaadid, mille isotoopsuhte väärtused jäävad enamasti 0‰ ümber. Sette orgaanilise süsiniku moodustavad peamiselt elusorganismide (taimed ja loomad) elutegevuse jäägid ning see sisaldab infot nii keskkonna kui kliima kohta. Orgaanilise süsiniku isotoopsuhte väärtused on palju väiksemad kui anorgaanilisel süsinikul. Kui $\delta^{13}\text{C}$ analüüsil jäävad karbonaadid settesse, siis saadakse valed isotoopsuhte väärtused. Seetõttu on ülimalt oluline anorgaaniline süsinik proovidest enne analüüsimist eemaldada (Harris jt, 2001).

Anorgaanilisest süsinikust vabanemist on katsetatud mitmel erineval viisil ja kirjeldatud paljude autorite poolt (lisa 2). Karbonaatainest saab vabaneda näiteks setet happeaurude alla pannes või happega loputades. Sobiva eeltötlusmeetodi valimisel on oluline välja selgitada milline hape on karbonaatainest vabanemiseks tõhusaim. Lisaks on tähtis ajaline komponent – kui kaua peab proovi happega töötlemata ja kaua kulub aega erinevate etappide (nt. happeaurust vabanemine) läbimiseks (Harris jt, 2001; Kennedy jt, 2005). Erinevaid meetodeid anorgaanilisest süsinikust vabanemiseks on põhjalikult uurinud Brodie jt (2011). Ta kirjeldas erinevaid meetodeid nagu settetötlus happeauruga, happesuga ja kapselmeetod. Kapselmeetodi puhul läheb massispektromeetrisse hõbekapsel, mille sees on proovi töödeldud happega. Oma uuringute põhjal soovitas Brodie jt (2011) kasutada kapselmeetodit, kuid ka sellel meetodil on miinuseid – võimalik süsiniku kontsentratsiooni vähenemine, süsinikdioksiidi eraldumisel võimalik materjali kadu jm. Välistasin selle meetodi, sest happesoolad, mis jäävad koos prooviga kapslisse, võivad suure tõenäosusega massispektromeetri kvartsist reaktorit kahjustada ja selle eluiga lühendada (*Isogeochem Listserv*, 2021). Mina vaatlesin lähemalt kahte teist meetodit (happeauruga ja happesuga töötlemine) ja viisin läbi katsed, et selgitada milline meetod oleks kõige efektiivsem karbonaatainest vabanemiseks.

Anorgaanilisest süsinikust vabanemiseks kasutasin oma katsetes Ähijärve setteläbilõikest kuut erineva anorgaanilise süsiniku sisaldusega proovi (tabel 2). Anorgaanilise süsiniku hulka saab proovis määrata kuumutuskao meetodil, s.o 550 °C juures kuumutatud proovi kaalukao ja 950 °C juures kuumutatud proovi kaalukao vahe. Esimesel juhul põleb proovist ära orgaaniline aine (sh orgaaniline süsinik), teisel juhul eraldub proovist CO₂ näol anorgaaniline süsinik. Viimane moodustab setetes mitmesuguseid karbonaatseid ühendeid, näiteks CaCO₃ või MgCO₃. 950 °C kuumutuskao ehk eraldunud CO₂ hulga korrutamisel 1,36-ga saame esitada tulemused karbonaatiooni peale (Heiri jt, 2001), mistõttu nimetatakse seda karbonaataineks. Katse jaoks mõõtsin ka töötlemata proovide süsiniku isotoopsuhte väärtused.

Proovi sügavus (cm)	Karbonaataine sisaldus (%)
604	5,7
1020	10,4
1130	15
1395	20
1470	25,3
1472	37,9

Tabel 2. Karbonaataine sisaldus anorgaanilisest süsinikust vabanemise katse proovides. Proovi sügavus Ähijärve veepinnalt.

4.4.1. Anorgaanilisest süsinikust vabanemine happeauruga

Üks võimalus karbonaatsest materjalist vabanemiseks on proovi töötlemine hõbetopsikutes happeauruga. Happeaur reageerib proovis sisalduva karbonaatse ainega, mis auruga reageerides eraldub proovist süsinikdioksiidina. Happeauruga proovide töötlemiseks on mitmeid võimalusi. Erinevate hapete kasutamist on oma katsetes kirjeldanud Kennedy jt (2005). Ta kasutas oma katsetes 1 M, 2 M ja 6 M HCl, 6% H₂SO₃ ja 1 M H₃PO₄ happeid. Katsetes selgus, et väävlishape ja fosforhape ei eemalda proovist piisavalt anorgaanilist süsinikku, mistõttu $\delta^{13}\text{C}$ väärtused jäävad kõrgemad kui HCl töötamise puhul. Kennedy jt (2005) soovivad kasutada 2 M HCl, mis peaks olema piisava kontsentratsiooniga, et eemaldada ~30% karbonaataine sisaldusega settest anorgaaniline süsinik. Harris jt (2001) ja Walthert jt (2010) on oma katsetes proovinud ka kangemaid vesinikkloriidhappeid. Nemad kasutasid 37% HCl hapet. Kangema happe kasutamisel täheldati, et proov võib hakata CO₂ eraldumise tõttu vahutama, mis põhjustab materjali kadu hõbetopsikust. 37% vesinikkloriidhape põhjustas hõbekapsli korrosiooni, mistõttu võib samuti proovi kaduma minna. Vesinikkloriidhape puhul on leitud, et suuremate karbonaataine sisalduste (kuni 90%) puhul ei ole kangema (36%) happe kasutamine piisav, et happeauruga kogu karbonaatainest vabaneda (Schubert ja Nielsen, 2000). Lisaks on leitud, et liiga kange kontsentratsiooniga happe puhul võib proovist kaduma minna kuni 20% üldsüsinikust (Harris jt, 2001).

Sobiva happe ja kontsentratsiooni leidmise kõrval on uuritud ka seda kui kaua peaks proov happeauru all olema, et karbonaatainest vabaneda. Seda on uurinud oma katsetes Walthert jt (2010), kes hoidsid proove happeauru all 8 ja 32 tundi. Harris jt (2001) hoidsid oma katsetes proove happeauru all 6 tunnist 96 tunnini. Katsete tulemused näitasid, et mõlemal juhul vabaneti karbonaatainest olenemata happeauru all olnud ajast. Juba 6 tundi oli piisav, et anorgaanilisest süsinikust vabaneda. Komada jt (2008) on veel maininud, et proove ei tohiks happeauru all kindlasti hoida üle 24 tunni, sest sellisel juhul võib esineda orgaanilise süsiniku kadu proovist. Üks oluline eeltötluse samm on veel proovi märgamine. Seda on oma katsetes kirjeldanud Harris jt (2001), kes lisasid hõbetopsidesse kaalutud proovidele 0,05 ml destilleeritud vett enne happeauruga töötlemise etappi. Kuiva proovi puhul laguneb karbonaataine süsihappegaasiks väga aeglaselt ning

võib juhtuda, et anorgaanilisest süsinikust ei vabaneta täielikult. Walthert jt (2010) soovivad oma katsete põhjal destilleeritud vee asemel kasutada 1% HCl. Vesinikkloriidhape peaks proovi efektiivsemalt niisutama ning olema eriti hea orgaanikarikka sette puhul, mis on tihti hüdrofoobne.

Toetudes varasematele uuringutele valisin oma magistritöös happeauruga töötlemise katse jaoks 20% ja 36% HCl happe ja erinevad ajad happeauru all olemiseks (tabel 3). 20% hape peaks olema piisav, et minu töös kasutatavates proovides karbonaatidest vabaneda. Et ühes proovis on karbonaataine sisaldus üle 30%, siis proovin lisaks töötlust 36% vesinikkloriidhappega. Oma katsetes hoidsin proove happeauru all 6 tundi, mis peaks olema piisav, et karbonaatidest vabaneda (Harris jt, 2001). Samuti katsetasin 24 tundi happeauru all hoidmisega, et selgitada kas 6 tundi on piisav aeg anorgaanilisest süsinikust vabanemiseks.

	HCl (%)	Aeg (h)
Katse 1	20	6
Katse 2	36	6
Katse 3	20	24
Katse 4	36	24

Tabel 3. Happeauruga tehtud katsed.

Happeauruga töötlemiseks võtsin homogeniseeritud proovid ja kaalusin ligikaudu 0,7 mg proovi kolmes korduses hõbetopsidesse. Katsetasin nelja erinevat aurutamise viisi (tabel 3) kuue erineva karbonaataine sisaldusega prooviga (tabel 2), seega kaalusin happeauru katse jaoks kokku 72 proovi. Kõikidele proovidele lisasin esialgu ühe tilga (~0,05 ml) 1% HCl hapet (foto 5), aga, et proovid ei märgunud piisavalt, siis lisasin kõikidele proovidele teise tilga vesinikkloriidhapet veel. Neli erinevat katset viisin läbi neljas eksikaatoris. Iga eksikaatori põhja panin Petri tassi, kuhu valasin 50 ml vastava kontsentratsiooniga hapet. Proovid jäid happeauru alla eksikaatorisse (foto 6) vastavalt kuueks ja kahekümneneljaks tunniks. Seejärel võtsin proovid eksikaatorist välja ja panin proovid ööpäevaks tõmbekapi alla tuulduma ja siis kaheks päevaks silikageeli graanulitega täidetud eksikaatorisse, et proovid vabaneksid liigest hapest. Viimase sammuna panin proovid neljaks päevaks 35-40 kraadisesse kuivatuskappi, et lõplikult niiskusest ja hapest vabaneda. Need proovide kuivatamise etapid tegin vastavalt Harris jt (2001) ja modifitseerisin neid labori võimekuse järgi. Happeauruga töötlemise järgselt oli märgata, et 36% HCl auru all olnud proovide hõbetopsid olid muutunud väga rabedaks. Pakkisin edasiseks massispektromeetriliseks analüüsiks hõbetopsides olevad proovid tinatopsidesse. Tinatops aitab proovil efektiivsemalt reaktoris põleda, mistõttu on oluline töödeldud proovid lõpuks tinatopsidesse pakkida.

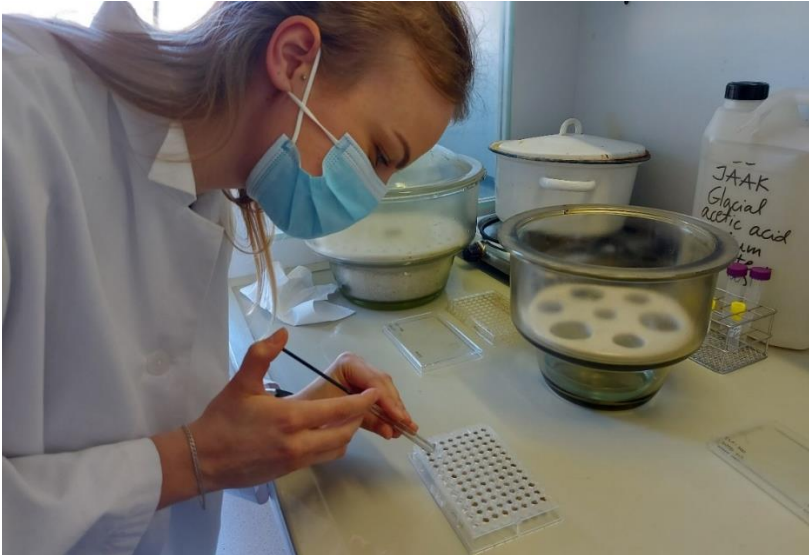


Foto 5. Happeauru alla minevatele proovidele lisamas 1% HCl hapet.

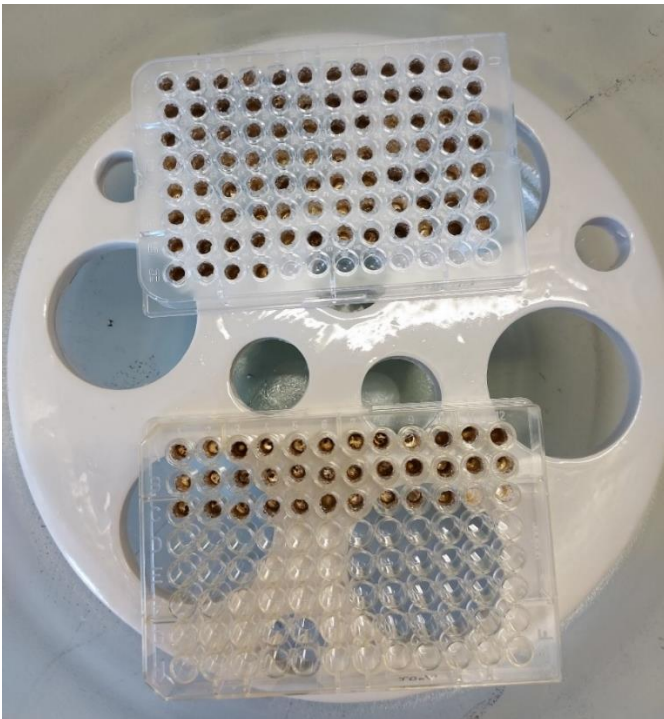


Foto 6. Happeauruga töötlemise proovid eksikaatoris.

4.4.2. Anorgaanilisest süsinikust vabanemine happesuga

Anorgaanilisest süsinikust saab vabaneda, kui proovi töödelda happega loputades. Sellise meetodiga lahustub karbonaatne aine happes ja proovist vabaneb süsinikdioksiid. Erinevaid võimalusi happesuga töötlemiseks on uurinud näiteks Kennedy jt (2005) ning Schubert ja Nielsen (2000). Esimene uurimisrühm (Kennedy jt, 2005) kasutas oma katsetes erinevaid happeid: 1 M HCl, 2 M HCl, 6 M HCl, 6% H₂SO₃ ja 1 M H₃PO₄. Katsetest selgus, et $\delta^{13}\text{C}$ väärtuste positiivne nihe toimus väävli- ja fosforhappesuga töötlemisel. See on märk anorgaanilise süsiniku mittetäielikust

eemaldamisest. Lisaks täheldati suurema kontsentratsiooniga HCl puhul liiga suurt isotoopsuhte väärtuste nihet, mistõttu soovitavad Kennedy jt (2005) kasutada 1 M või 2 M vesinikkloriidhapet. Mitmesuguste hapetega on happesuse katsetanud ka Brodie jt (2011). Katsetati samuti erineva kontsentratsiooniga vesinikkloriidhapet (5%, 10%, 20% ja 36%), 6% väävlis- ja 6% ja 98% fosforhapet. Brodie jt (2011) läbiviidud katsed näitavad, et nii väävlis- kui ka fosforhappe puhul jäävad isotoopsuhte väärtused kõrgemaks, mis viitab karbonaataine mittetäielikule eemaldamisele. Katsete tulemusel soovitatakse kasutada lahjendatud kontsentratsiooniga vesinikkloriidhapet. Suurema kontsentratsiooniga hape võib põhjustada osalist orgaanilise süsiniku kadumist, mis omakorda muudab $\delta^{13}\text{C}$ väärtuseid (Craven jt, 2013).

Kui sobiv reagent valitud, siis lähtudes Harris jt (2001) katsetest, tuleb happesuks katseklaasi võtta umbes 5 g homogeniseeritud proovi ja seejärel lisada 150 ml vesinikkloriidhapet. Seejärel jääb proov happega 24 tunniks seisma, selle aja jooksul peab kolm korda segu segama. Lõpuks valatakse hape pealt ära, lisatakse sama kogus (150 ml) destilleeritud vett. Seda korratakse veel ühel korral. Lõpuks pannakse destilleeritud veega läbi pestud segu kuivatuskappi 60 kraadi juurde kuivama. Sama meetodi võtsid aluseks ka Craven jt (2013), kuid nad lisasid eelnimetatud proovide töötlemisele veel tsentrifuugimise (1200 rpm, 4 minutit) proovide pesemisel destilleeritud veega, et tagada happes jääkide eemaldamine proovist. Lisaks soovitasid nad enne destilleeritud veega pesemist kontrollida lakmuspaberiga segu pH, et kindlaks teha reaktsiooni toimumise efektiivsus. Destilleeritud veega pesemist soovitasid nad korrata kolm korda.

Toetudes varasematele katsetele valisin oma magistritöös reageerivaks happes 5% ja 10% vesinikkloriidhappe. Minu katsetes olevate proovide karbonaataine sisaldus jääb alla 40%, mistõttu on antud kontsentratsioonidega happed piisavad, et anorgaanilisest süsinikust vabaneda. Samuti peaks kasutatud lahjendus olema piisavalt väike, et mitte mõjutada proovides leiduvat orgaanilist süsinikku.

Happesuse jaoks kaalusin 50 ml plastikust katsutitesse ligikaudu 20 mg homogeniseeritud proovi. Proovidele lisasin umbes 40 ml vastava kontsentratsiooniga hapet (foto 7), misjärel tõstsin proovid kaheks tunniks vesivanni, kus järkjärgult tõstsin veetemperatuuri kuni 60 kraadini. Vesivannis oleva aja jooksul segasin kõiki proove Vortex-segistiga kolm korda. Pärast kuumutamist kontrollisin lakmuspaberiga proovide pH-d, mis oli kõigi proovide puhul ~1 ja näitas, et reaktsioon oli edukalt toimunud ja karbonaataine eemaldatud. Seejärel tsentrifuugisin proove, valasin ettevaatlikult proovide pealt happe ära ning lisasin sama koguse (~40 ml) destilleeritud vett. Pesin proove destilleeritud veega 3 korda, kasutades iga kord tsentrifuugimist (5000 rpm, 5 minutit), et vabaneda happesest. Destilleeritud veega pesemise juures oli märgata proovidel õrna hõljumit, mistõttu arvan, et proovid oleks pidanud tsentrifuugis olema 5 minuti asemel 10 minutit. Lõpuks panin proovid 24 tunniks 60 kraadisesse kuivatuskappi kuivama. Pärast töötlust ja kuivatamist olid proovid paakunud kokku, mistõttu uhmerdasin nad käsihmriga homogeenseks. Massispektromeetriliseks analüüsiks kaalusin töödeldud proovid kolmes korduses tinatopsidesse (igasse ~0,7 – 1,0 mg) ja pakkisin topsid kokku kuulikesteks.

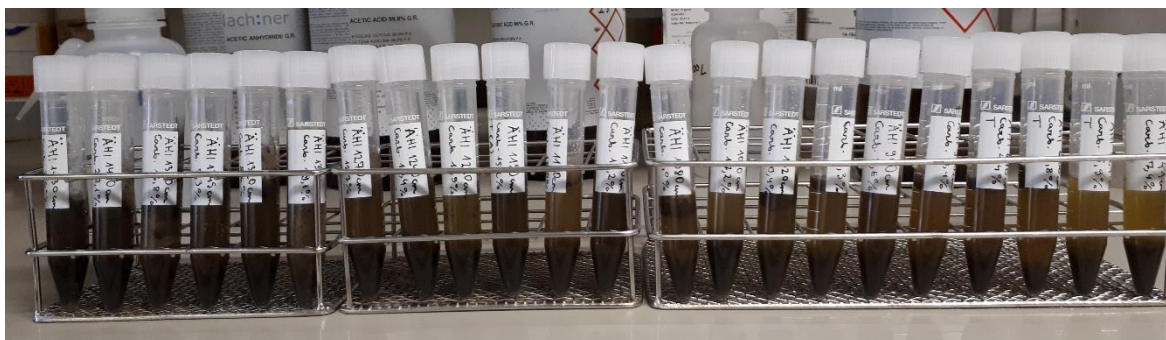


Foto 7. Happepesu proovid.

4.4.3. Anorgaanilisest süsinikust vabanemise katsete tulemused

Orgaanilise süsiniku isotoopsuhte $\delta^{13}\text{C}$ määramiseks katsetasin mitmesuguseid proovide eeltötlusmeetodeid happeauruga ja happepesuga, et vabaneda karbonaatainest. Kõikide proovide puhul sai analüüsitud lisaks töödeldud proovidele ka töötlemata proovi. Töötlemata proovide isotoopsuhte väärtused mõõdeti võrdluseks selgitamiseks, kas katsetes vabaneti karbonaatainest piisaval määral. Kuna töötlemata proov sisaldab nii anorgaanilist kui ka orgaanilist süsinikku, siis on tema isotoopsuhte väärtused kõrgemad. Mida vähem on proovis anorgaanilist süsinikku, seda madalamad on tema isotoopsuhte väärtused (Kennedy, 2005). Minu katsed näitasid töötlemata proovide puhul seda, et mida kõrgem on karbonaataine sisaldus proovis, seda kõrgemad on proovi $\delta^{13}\text{C}$ väärtused (joonis 11 (a-f)). Proovide töötlemise järel selgus, et mida kõrgem on karbonaataine ehk anorgaanilise süsiniku sisaldus proovis, seda suuremad erinevused tulevad töötlemata ja töödeldud proovide $\delta^{13}\text{C}$ väärtustes.

Happeauruga töötlemise tulemusi võrdlesin graafikutel (joonis 11 (a-f)) töötlemata proovide isotoopsuhte väärtustega. Eeldusel, et hapetega töötlemine peaks eemaldama kogu anorgaanilise süsiniku, siis võiks erinevate meetodite võrdlemisel näidata seda isotoopsuhte kõige madalam tulemus. Proovi 604 cm puhul on hajuvaim analüüsimeetod 5% HCl happepesu. Proovi 1020 cm puhul on analüüsimeetoditel väikseim hajuvus, kuid kõige hajuvam on 36% HCl happepesu 24 h. Proovide 604 cm (joonis 11a) ja 1020 cm (joonis 11b) puhul on näha, et 6 h 36% HCl töötlemise puhul on isotoopväärtused märgatavalt erinevad teistest katsete tulemustest. Selline tugev varieerumine näitab, et antud meetod ei pruugi olla usaldusväärne ja proovides võib veel leiduda anorgaanilist süsinikku. 36% happeauruga 24 h töötlemise puhul on kõikide katsete tulemused võrreldes 20% HCl töötlemisega natuke kõrgemad. Kõrgemad $\delta^{13}\text{C}$ väärtused võivad tähendada, et karbonaatainest pole täielikult vabanetud. Seega välistasin 36% HCl happeauruga töötlemise, sest need tulemused ei osutunud piisavalt usaldusväärseteks. Peale selle olid 36% HCl töötlemise järel hõbetopsid väga rabedad, mistõttu oli neid raske pakkida tinatopsidesse. Pärast tinatopsidesse pakkimist korrodeerusid tinatopsid kiirelt, mistõttu ei ole sellise kontsentratsiooniga happe kasutamine hea, sest topsidesse jäänud happejäägid võivad massispektromeetrit kahjustada. Samuti on võimalik, et rabedate topside kokkupakkimisel võib osa proovist kaduma minna, mis omakorda muudab mõõtmistulemusi. Viimasena võrdlesin 20% HCl katse tulemusi, milles selgus, et 24 h katsete isotoopväärtused on kõrgemad kui 6 h katsetel. Lisaks on 24 h puhul näha, et tulemused on väga

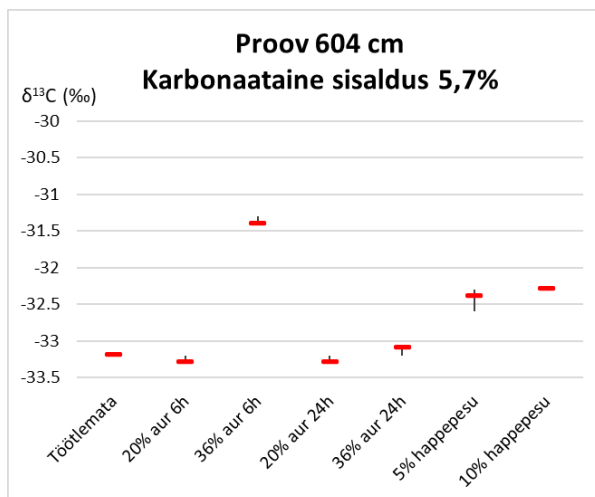
varieeruvad, eriti sügavuste 1130 cm (joonis 11c) ja 1395 cm puhul (joonis 11d), kus selle meetodi tulemused on teistest märgatavalt kõrgemad. Suurima hajuvusega 1130 cm sügavuse puhul on 5% HCl happesuse meetod, 1395 cm sügavuse puhul aga 36% HCl happesuse 24 h. Lisaks on 20% HCl 24 h puhul väga suur paralleelproovide varieeruvus, eriti sügavuse 1470 cm (joonis 11e) puhul. 20% HCl töötus 6 h jooksul on pea kõikide meetodite puhul madalaima isotoopsuhte väärtusega, mistõttu on see meetod kõikide katsete võrdluses efektiivseim. Ainult proovi 1472 cm ehk karbonaataine 37,9% sisalduse korral (joonis 11f) on väikseimad $\delta^{13}\text{C}$ väärtused 36% HCl 6 h meetodi puhul, mistõttu nii kõrge anorgaanilise süsiniku kontsentratsiooni korral peaks eelistama seda tugevamat hapet kasutavat meetodit. Karbonaataine sisalduse juures 37,9% on suurima hajuvusega meetod 20% HCl happesusega töötlemine 6 h. Ilmselt 20% HCl, mis teiste madalama karbonaataine sisaldusega proovide korral näib hästi töötavat, siis kõrge karbonaataine sisalduse puhul jääb osa anorgaanilist süsinikku selle nõrgema happe töötlusel eemaldamata. Kennedy jt (2005) on oma katsete põhjal samuti öelnud, et üle 30% karbonaataine sisaldusega proovide puhul on vaja kasutada kangema kontsentratsiooniga hapet.

Happesusega töötlemise tulemusi (joonis 11 (a-f)) võrdlesin töötlemata ja happesusega tehtud proovide isotoopsuhete väärtustega. Nii 5% kui ka 10% HCl happesuse tulemused jäävad võrdluses happesusega tehtud katsetustes pigem kõrgeks. Brodie jt (2011) märkasid oma katsete tulemustes samuti, et happesuse järgselt on $\delta^{13}\text{C}$ väärtused kõrgemad kui happesusega töötlemise puhul. Põhjendusena toodi välja, et happesuse käigus läheb kaduma osa orgaanilisest süsinikust. Destilleeritud veega pesemise käigus valatakse lahustunud orgaaniline süsinik ära, mistõttu isotoopsuhte väärtused jäävad kõrgemad. Samal põhjusel võivad olla ka minu happesuse katsete isotoopsuhte väärtused kõrgemad kui happesusega töötlemise puhul. Katsete tulemustel otsustasin, et happesusega proovide töötlemine anorgaanilisest süsinikust vabanemiseks ei pruugi olla usaldusväärne, mistõttu selle meetodi välistasin.

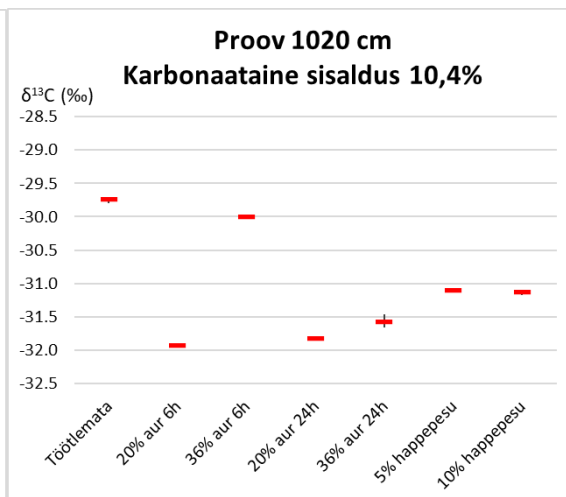
Katsete tulemusel leidsin, et efektiivseim eeltötlusmeetod alla 30% karbonaataine sisaldusega proovidel on töötlemine 20% HCl happesuse all 6 h. Täiendavalt kasutasin parima anorgaanilise süsiniku eemaldamise meetodi väljaselgitamisel maatriksit (tabel 4), kus võtsin arvesse erinevad aspektid, mis töötlusviiside puhul olid olulised. Efektiivseima meetodi iga aspekti puhul selgitasin välja skaalal 1-3, kus väiksem number tähendas parimat tulemust. Meetodite puhul võtsin arvesse tööjõukulu, ajakulu, masinakulu, tulemuste varieeruvuse ja väljalangevuse. Parima meetodi maatriksi põhjal selgus, et 20% happesuse all 6 h töötlusmeetod on kõige tõhusam.

Meetod	20% aur 6h	36% aur 6h	20% aur 24h	36% aur 24h	5% happesuse	10% happesuse
Tööjõukulu	1	1	1	1	3	3
Ajakulu	1	1	2	2	3	3
Masinakulu	2	3	2	3	1	1
Tulemuste varieeruvus	1	3	3	1	2	2
Väljalangevus	1	3	3	1	3	3
Kokku	6	11	11	8	12	12

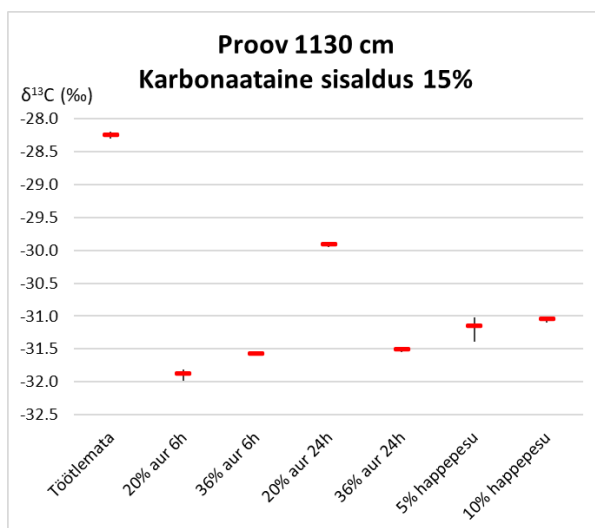
Tabel 4. Parima meetodi väljaselgitamise maatriks proovide anorgaanilisest süsinikust vabanemiseks vesinikkloriidhappesusega. Maatriksi skaala 1-3 (mida väiksem number, seda parem).



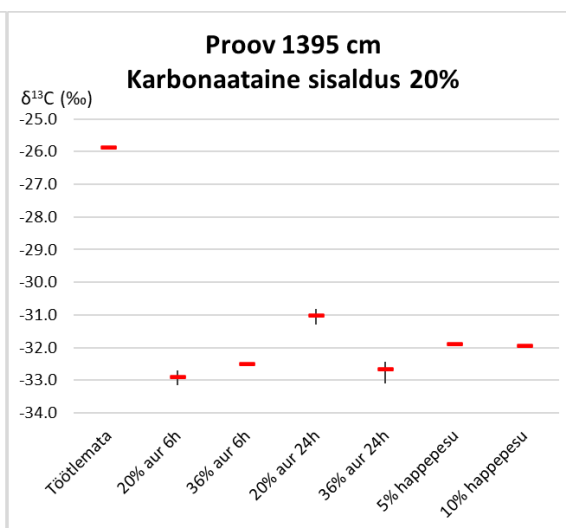
Joonis 11a



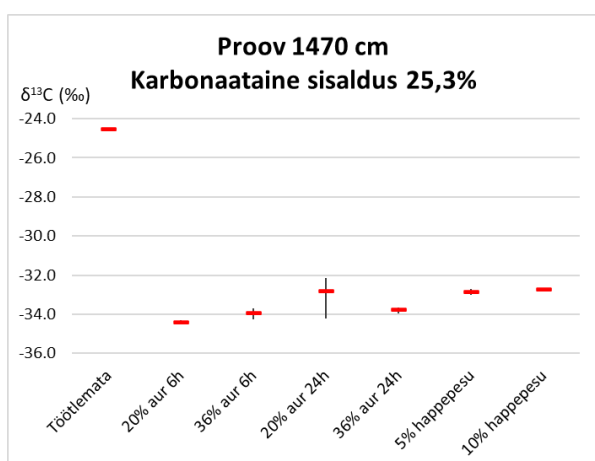
Joonis 11b



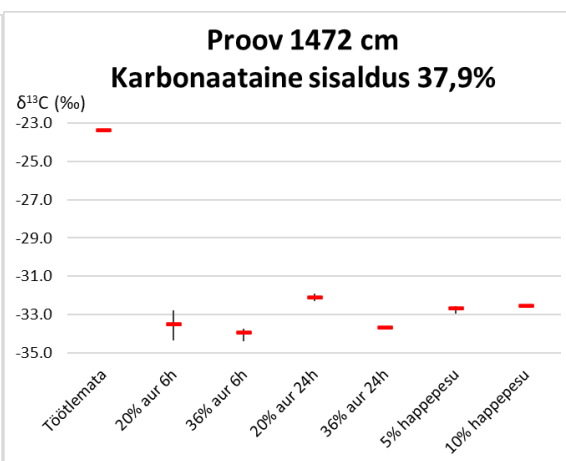
Joonis 11c



Joonis 11d



Joonis 11e



Joonis 11f

Joonised 11 (a-f). Anorgaanilisest süsinikust vabanemise katsete tulemused. Happena erinevates happeauru ja happepesu katsetes kasutasin vesinikkloriidhapet.

5. Süsiniku ja lämmastiku isotoopsuhete analüüs Ähijärve setteläbilõikest

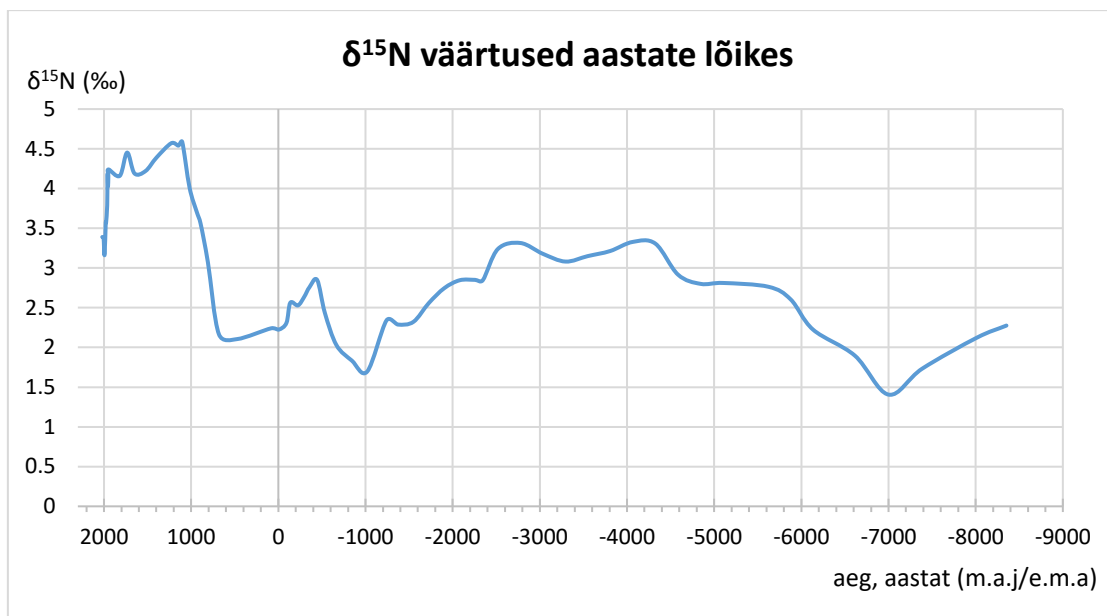
5.1. Materjal ja meetodika

Stabiilsete isotoopide isotoopsuhete $\delta^{13}\text{C}$ ja $\delta^{15}\text{N}$ analüüsimiseks võtsin varasemalt homogeniseeritud proovid sügavusvahemikust 541-1480 cm. Kokku valisin selles vahemikus 64 proovi nii lämmastiku kui süsiniku isotoopsuhete analüüsimiseks. Meetodika peatükis selgitasin välja, et lämmastiku isotoopsuhete analüüsimiseks on kõige parem kasutada töötlemata proove. Selleks kaalusin kahes korduses proovid tinatopsidesse, pakkisin topsid kuuliks ning proovid läksid massispektromeetrilisele analüüsimisele. Orgaanilise süsiniku isotoopsuhete analüüsimiseks leidsin, et parim eeltötlusmeetod on proovide töötlemine 6 h 20% HCl happesus, kui karbonaataine sisaldus proovis ei ületa 30%. Selle jaoks kaalusin proovid kahes korduses hõbetopsidesse ning lisasin kõikidesse topsidesse ~0,1 ml 1% vesinikkloriid hapet, et proovid märguksid. Seejärel lisasin Petri tassi ~50 ml 20% HCl hapet ja asetasin selle eksikaatori põhja. Märgunud proovid asetasin eksikaatorisse ja jätsin need 6 tunniks kinnisesse eksikaatorisse happesuru alla. Kuue tunni möödudes tõstsin proovid ööpäevaks tõmbekappi tuulduma. Selleks, et proovid kuivaks ja happesurust täielikult vabaneks, panin proovid kaheks päevaks silikageeli graanulitega täidetud eksikaatorisse ja seejärel 4 päevaks 35-40 °C kuivatuskappi kuivama. Lõpuks pakkisin hõbetopsid tinatopsidesse kuuliks ja proovid läksid massispektromeetrilisele analüüsimisele.

5.2. Mõõtmiste tulemused

5.2.1. Lämmastik

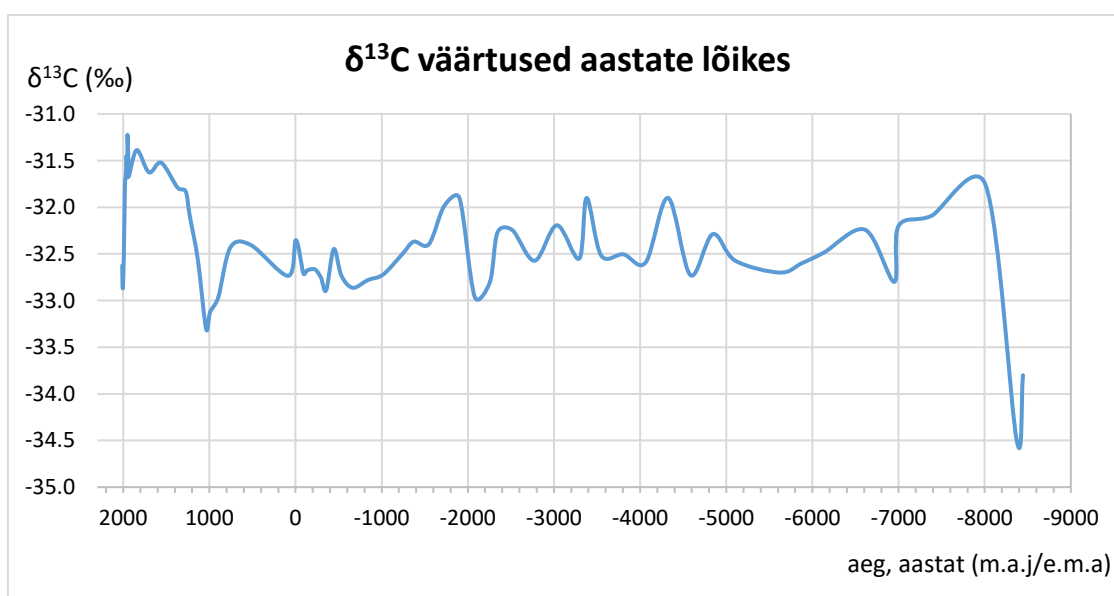
Lämmastiku isotoopsuhte väärtused Ähijärve läbilõikes (joonis 12) näitavad, et järve kujunemise ajal 8400 aastat e.m.a olid $\delta^{15}\text{N}$ väärtused 2,3‰, kuid siis hakkasid langema. 7000 aastat e.m.a olid lämmastiku isotoopsuhte väärtused Ähijärves 1,4‰, mis on ühtlasi kogu järve ajaloo $\delta^{15}\text{N}$ väärtuste miinimum. Seejärel tõusis lämmastiku isotoopsuhe järvesettes ja püsis enam-vähem stabiilsena 3‰ ümbruses kuni hakkas taas langema. 1000 aastat e.m.a saavutasid $\delta^{15}\text{N}$ väärtused 1,7‰ ja hakkas taas tõusma. Hüppeline tõus toimus 800 aastat m.a.j, kui kõigest paarisaja aastaga tõusid lämmastiku isotoopsuhte väärtused peaaegu 2‰. Sealt alates toimus $\delta^{15}\text{N}$ väärtuses kõikumine 4-4,6‰ kandis ning umbes 1950. aastast alates on toimunud selle hüppeline langus. Ähijärve pindmistes setetes on lämmastiku isotoopsuhte väärtused 3,4‰.



Joonis 12. Ähijärve setetes δ¹⁵N väärtused aastate lõikes.

5.2.2. Süsinik

Ähijärve läbilõikes mõõdetud süsiniku isotoopsuhete väärtused (joonis 13) näitavad, et järve kujunemise ajal toimus neis hüppeline tõus -34,5‰ kuni -31,8‰-ni. Seejärel δ¹³C väärtused vaikselt langesid, kooskõlas järvelise materjali lisandumisega settesse ning varieerusid ~1‰ vahemikus järgmised 8000 aastat. See näitab, et järv oli oma arengus ja ka süsinikubilansis pikka aega väga stabiilse ja loodusliku arenguga. Ligikaudu 1000 a m.a.j. langesid süsiniku isotoopsuhete väärtused -33,3‰-ni. Järgmisel aastatuhandel olid need peamiselt tõusutrendis ja saavutasid oma maksimumi 1950. aastatel väärtustega -31,2‰. Sarnaselt lämmastikuga algas sellest perioodist δ¹³C väärtuste suurem langus, mis saavutas oma miinimumi u 2000. aastate keskel väärtustega -32,9‰. Pärast seda on väärtused vaikselt taas tõusnud ning setete pinnakihi on δ¹³C väärtused Ähijärves -32,6‰.



Joonis 13. Ähijärve setetest δ¹³C väärtused aastate lõikes.

5.3. Ähijärve pärestjääaegsed keskkonnamuutused

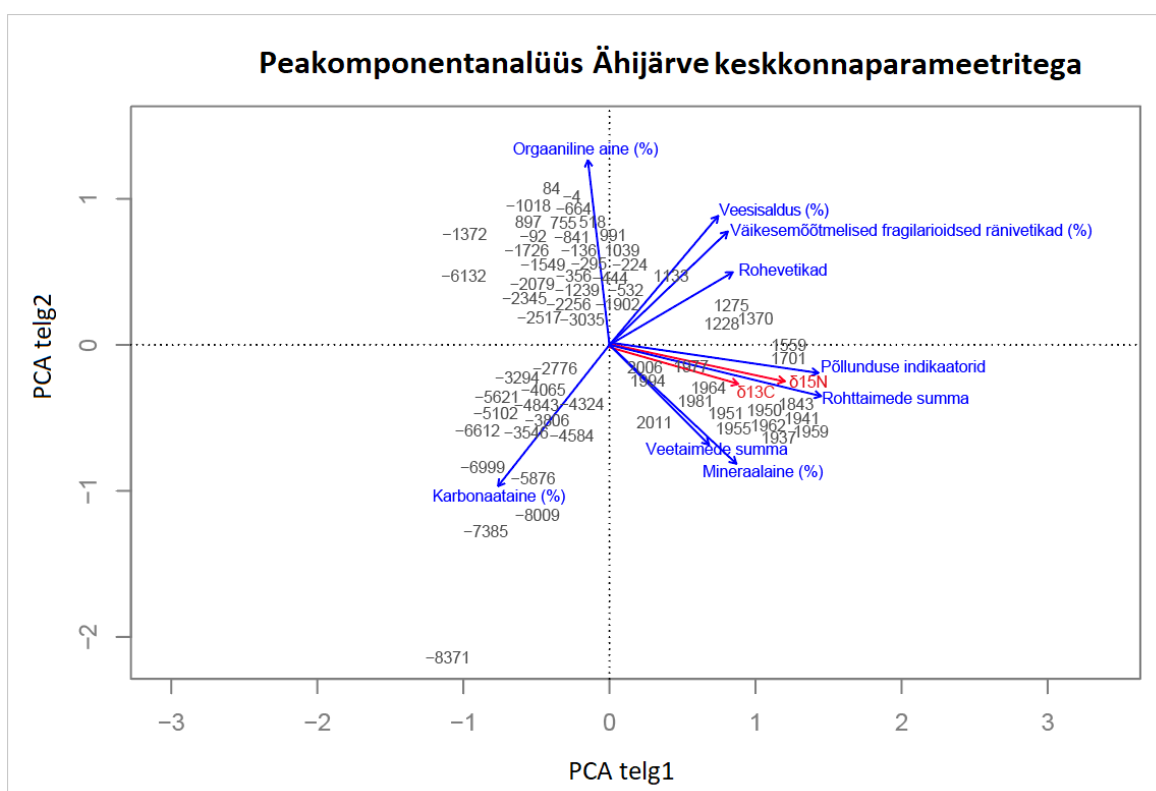
Parimat eeltötlusmeetodit kasutades analüüsisin Ähijärve setteläbilõikest $\delta^{15}\text{N}$ ja $\delta^{13}\text{C}$ väärtused ning saadud andmete põhjal tegin järve keskkonnaparameetrite ja isotoopandmete statistilise analüüsi. Lisaks interpreteerisin tulemusi toetava informatsiooniga, mis on eelnevalt välja toodud peatükis 3 ning samuti kasutasin erinevates artiklites toodud interpreteeringuid, mis on antud teemal varasemalt avaldatud.

Oma magistritöös mõõdetud Ähijärve läbilõike $\delta^{13}\text{C}$ ja $\delta^{15}\text{N}$ väärtuseid võrdlesin erinevate keskkonnaparameetritega (Tabel 5) ja kasutasin selleks statistikaprogrammi R (R Core Team, 2013). Keskkonnaparameetrite ning $\delta^{13}\text{C}$ ja $\delta^{15}\text{N}$ statistiline võrdlus näitab, et sette veesisaldus ning orgaanilise ja karbonaataine sisaldus on süsiniku ja lämmastiku isotoopsuhte väärtustega nõrgalt seotud või üldse mitte seotud, kusjuures orgaanilise ja karbonaataine seos on negatiivne. Mineraalne sisaldus settes on aga üsna tugevalt ja positiivselt seotud isotoopsuhte väärtustega, mis viitab sellele, et koos terrigeense aine sattumisega järve suurenevad nii $\delta^{15}\text{N}$ kui $\delta^{13}\text{C}$ väärtused. Kõrgemad mineraalne sisaldused on Ähijärves Vara-Holotseeni ja Holotseeni kliimaoptimumi aegsetes setetes ning viimasel aastatuhandel, millest viimane viitab ilmselt suurenenud inimtegevuse mõjule. Kõige parema korrelatsiooni $\delta^{13}\text{C}$ ja $\delta^{15}\text{N}$ ning keskkonnaparameetrite vahel annavad inimtegevusega seotud indikaatorid. Kõige tugevamini on isotoopsuhetega statistiliselt seotud põllunduse indikaatorid ja rohttaimede summa, mida saab otseselt seostada inimtegevusega järve ümbruses - täpsemalt maastiku avamise (rohttaimed) ja põllupidamise kaudu. Samas väikesemõõtmelised fragilarioidsed ränivetikad, veetaimed ja rohevetikad on nõrgemalt seotud isotoopsuhte väärtustega. Tugevam seos keskkonnaparameetritega on lämmastiku isotoopsuhtel, näiteks kui ränivetikate ja veetaimedega $\delta^{13}\text{C}$ -l seos puudub, siis samade parameetritega on $\delta^{15}\text{N}$ -l tugev positiivne seos, mis võib viidata sellele, et vee-elustiku kooslus on määrav milline lämmastiku isotoopsuhe setetes kujuneb. Üldiselt on kõik keskkonnaparameetrid mingil määral isotoopidega seotud, kuid inimtegevusest mõjutatud parameetrid mõjutavad isotoopsuhte väärtusi kõige enam.

Keskkonnaparameeter	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
Veesisaldus (%)	0.35 **	0.31 *
Orgaaniline aine (%)	-0.02 n.s	-0.25 *
Karbonaataine (%)	-0.38 **	-0.33 **
Mineraalne (%)	0.45 ***	0.62 ***
Väikesemõõtmelised fragilarioidsed ränivetikad (%)	0.19 n.s	0.46 ***
Põllunduse indikaatorid	0.59 ***	0.86 ***
Rohttaimede summa	0.6 ***	0.84 ***
Veetaimede summa	0.22 n.s	0.43 ***
Rohevetikad	0.43 ***	0.34 **

Tabel 5. Ähijärve setete keskkonnaparameetrite ning $\delta^{13}\text{C}$ ja $\delta^{15}\text{N}$ vahelised seosed. Paksus kirjas on märgitud need parameetrid, mis on isotoopsuhte väärtustega kõige tugevamini seotud. Mida rohkem tärne ja suurem number, seda tugevamalt on väärtused seotud; „n.s“ tähendab, et parameetrid on nõrgalt seotud või pole üldse seotud (not significant).

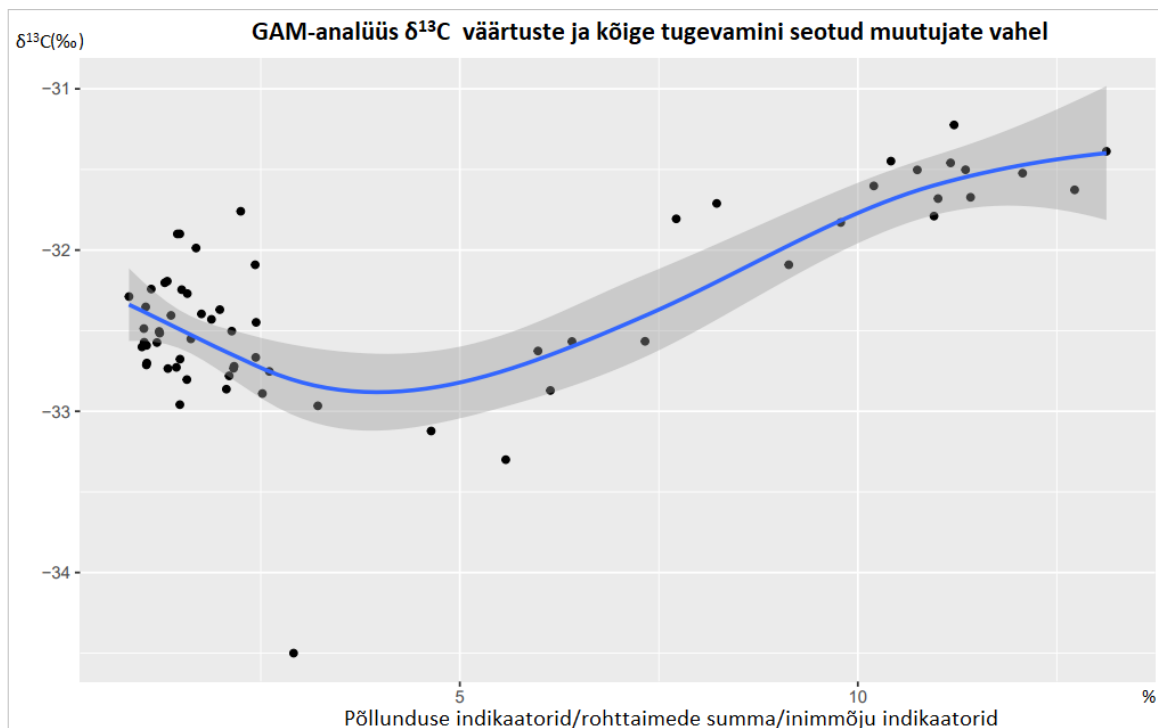
Ähijärve läbilõikest saadud andmete kogumi põhjal tegin R-statistikaprogrammis peakomponentanalüüsi (joonis 14), mis võimaldab mittekorreleeruvaid peakomponentide andmeid kasutades vähendada suure andmekogu mõõtmeid ja suurenda andmete tõlgendatavust (Jolliffe ja Cadima, 2016). Sellel eristub selgelt kolm rühma: Vara-Holotseensed, Kesk-Holotseensed ja Hilis-Holotseensed seosed. Kaks esimest rühma asuvad graafiku negatiivsel küljel, mis näitab, et seosed süsiniku ja lämmastiku isotoopsuhte väärtustega on negatiivsed ja nõrgad või puuduvad. Vara-Holotseensed (graafikul “edelasuunaline” proovipilv) väärtused on negatiivselt seotud karbonaatainega ja Kesk-Holotseensed (graafikul “loodesuunaline” proovipilv) on negatiivselt seotud orgaanilise ainega. Positiivselt on seotud kõik teised keskkonnaparametrid (Tabel 5) ja kõige tugevamad seosed on isotoopandmetel põllunduse indikaatorite ja rohttaimede summaga (nende vektorid on praktiliselt samasuunalised ja sama pikad).



Joonis 14. Peakomponentanalüüs (PCA) Ähijärve keskkonnaparaameetritega. Kolm ajalist rühma: Vara-Holotseensed (“edelasuunaline” proovipilv ehk karbonaatainega seotud paraameetrid), Kesk-Holotseensed (“loodesuunaline” proovipilv ehk orgaanilise ainega seotud paraameetrid) ja Hilis-Holotseensed seosed (kõik proovid ja paraameetrid, mis jäävad graafiku positiivsele küljele).

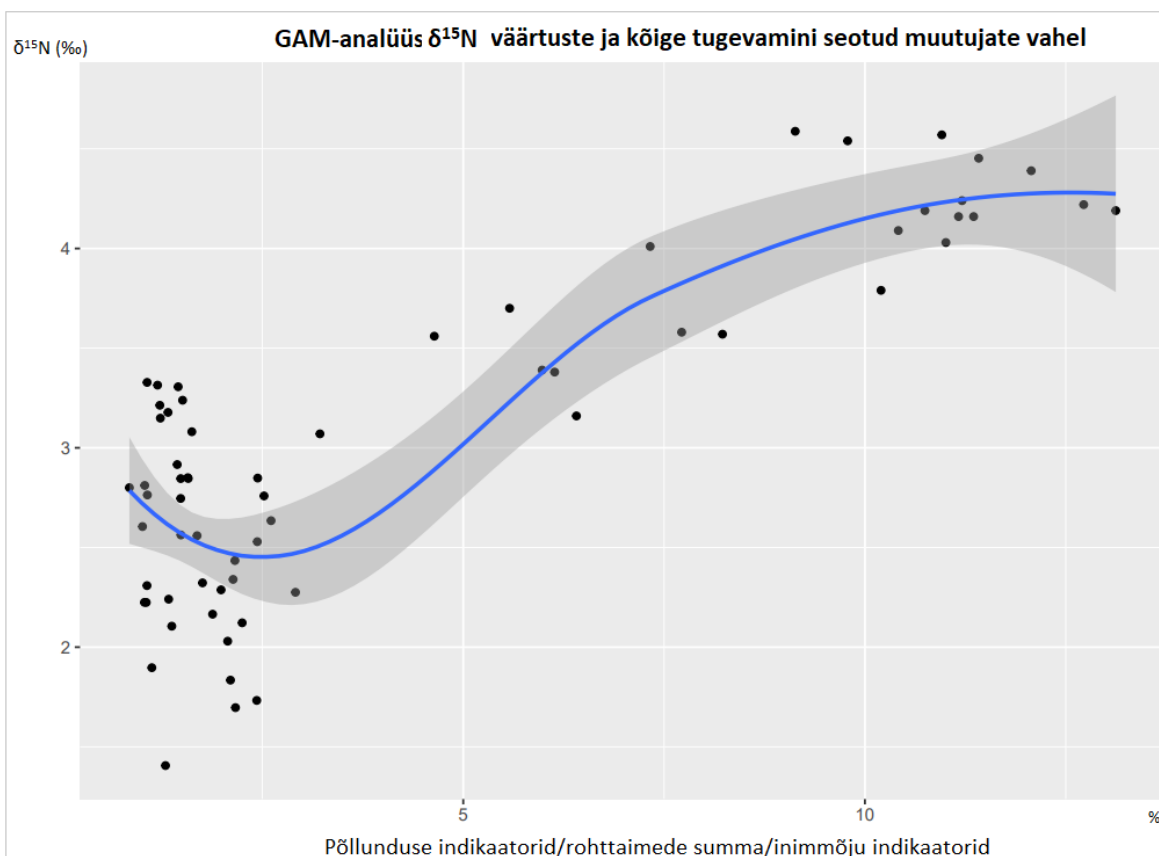
Keskkonnaparaameetrite statistiline analüüs (tabel 5; joonis 14) näitas, et kõige tugevamalt on süsiniku ja lämmastiku isotoopsuhte väärtustega seotud põllunduse indikaatorid ja rohttaimede summa, mis mõlemad on inimtegevusega seotud näitajad (inimtegevuse indikaatorid). Kõige paremini seotud muutujatega tegin statistikaprogrammis R hajuvusdiagrammi koos GAM-analüüsiga (generalized additive model ehk üldistatud aditiivne meetod), mis näitab muutujate ja isotoopsuhte väärtuste sõltuvust, proovides üldistatud lineaarsel mudelil rakendada aditiivse

mudeli sujuva ülemineku omadusi (Hastie ja Tibshirani, 1986). Statistiliselt on Ähijärve $\delta^{13}\text{C}$ väärtuste GAM-analüüsi (joonis 15) näitel $\delta^{13}\text{C}$ väärtused seda suuremad, mida rohkem esineb settes kõige tugevamini seotud muutujaid, näiteks kui inimõju indikaatoreid on 15% ulatuses, siis $\delta^{13}\text{C}$ väärtused on $-31,5\text{‰}$ lähedal ehk vähem negatiivsed. Kui rohttaimi ja inimõju esineb vähem, siis on $\delta^{13}\text{C}$ väärtused madalamad, rohkem negatiivsed. Seos ei ole päris lineaarne.



Joonis 15. GAM-analüüs $\delta^{13}\text{C}$ väärtuste ja kõige tugevamini seotud muutujate (põllunduse indikaatorid, rohttaimede summa, inimõju indikaatorid) vahel.

Sarnased tulemused saadi $\delta^{15}\text{N}$ väärtuste analüüsil. Ehk mida rohkem on rohttaimi ja inimtegevusest tulenevaid mõjutusi, seda suuremad on lämmastiku isotoopsuhte väärtused järvesettes. Mida vähem mõjutavad antud tegurid järve, seda väiksemad on lämmastiku isotoopsuhte väärtused. Lämmastiku GAM-analüüs (joonis 16) näitab, et kui rohttaimede summa ning põllunduse ja inimõju indikaatoreid on rohkem kui 10% ulatuses, siis on lämmastiku isotoopsuhte väärtused nendega statistiliselt kõige tugevamini seotud ning väärtustega $>4\text{‰}$. Sarnaselt $\delta^{13}\text{C}$ andmetega ei ole seos päris lineaarne. Mõlemal juhul avaldub lineaarsus alates keskkonnaindikaatorite 5%-st sisaldusest. Madalamate inimõju indikaatorite väärtuste puhul on hajuvus andmestikus väga suur, see seletub asjaoluga, et selles punktipilves kajastub enamus Holotseenseid settetingimusi kajastavaid proove. GAM-analüüs näitab, et nii $\delta^{15}\text{N}$ kui $\delta^{13}\text{C}$ väärtused on rohttaimede summa ja põllunduse ja inimõju indikaatoritega statistiliselt kõige tugevamini seotud viimasel aastatuhandel ($\delta^{15}\text{N}$ väärtused $>4\text{‰}$ ja $\delta^{13}\text{C}$ väärtused $-31,5\text{‰}$).



Joonis 16. GAM-analüüs $\delta^{15}\text{N}$ isotoopväärtuste ja kõige tugevamini seotud muutujate (põllunduse indikaatorid, rohttaimede summa, inimmõju indikaatorid) vahel.

Süsiniku isotoopsuhte väärtused olid Ähijärve kujunemise hetkel suhteliselt madalad (negatiivsed), kuid hüppeline väärtuste tõus $-34,5\text{‰}$ kuni $-31,8\text{‰}$ -ni toimus ~ 8400 e.m.a. Samal ajal muutus drastiliselt järvesette koostis, järsult tõusis orgaanilise aine hulk ja vähenes mineraalne hulk. Väga negatiivsed $\delta^{13}\text{C}$ väärtused setteläbilõike algfaasis võivad viidata rohkele maismaalisele taimestiku signaalile järvesettes. Glatsiokarstiliste järvede, nagu Ähijärv, arengus on etapp, mil järvenõgu tekitava jääpanga sulamisel tekib tema pinnale mulla ja maismaalise taimestiku kiht, mis hiljem satub järvesettes kõige põhja (foto 3; Stivrins jt, 2017). Samuti on erinevad isotoopsuhte väärtused C_3 (vahemikus -25‰ kuni -30‰) ja C_4 taimedel (vahemikus -10‰ kuni -15‰). Jääaegadel ja jääaja lõpus ning külmematel aegadel domineerisid C_4 -taimed (peamiselt kõrrelised), mis saavad paremini hakkama kui CO_2 kättesaadavus on halb, mistõttu neil aegadel on $\delta^{13}\text{C}$ väärtused madalamad (Meyers ja Teranes, 2001). Ähijärve kujunemise hetkel olid lämmastiku isotoopsuhte väärtused (joonis 12) langustrendis ($\sim -1,5\text{‰}$). Seega oli järve kujunemise alguses $\delta^{13}\text{C}$ väärtuste hüppeline tõus ja samaaegselt $\delta^{15}\text{N}$ väärtused hakkasid langema. Sellist väärtuste trendi on oma töös kirjeldanud ka Seddon jt (2014), kelle uuringus langesid $\delta^{15}\text{N}$ väärtused pärastjääaegsel perioodil. Samal ajal aga toimus maismaataimedes ja mulla orgaanilises aines süsiniku akumulatsioon, mistõttu $\delta^{13}\text{C}$ väärtused tõusid.

Holotseeni alguses (umbes 7000 e.m.a) kliima järk-järgult soojenes, millega kaasnes organismide produktsiooni ja mineraalne hulga tõus. Järve kujunedes hakkasid seal vohama veetaimed (joonis 7), ilmselt oli veetase järves suhteliselt madal ja erosioon tõi valglalt järve toitaineid. Erosiooni näitab suhteliselt kõrge mineraalne sisaldus järvesettes (üle 50%, joonis 4). Ka $\delta^{15}\text{N}$ väärtused hakkasid sel ajal tõusma 1,5‰ kuni 3,5‰-ni aastaks 4000 e.m.a. $\delta^{15}\text{N}$ väärtuste tõusu seoses organismide produktsiooni tõusu ja suurema toitainete nõudlusega on oma paleolimnoloogilises uuringus kirjeldanud ka Seddon jt (2014). Sel ajal ehk 6200–2200 e.m.a ajavahemikus oli tegemist Holotseeni kliimaoptimumiga ning aasta keskmine õhutemperatuur Eestis oli 2,5 °C kõrgem kui tänapäeval (Hang jt, 2020; Veski jt, 2020). $\delta^{15}\text{N}$ väärtused settes võisid tõusta seepärast, et soojema kliimaga oli rohkem sademeid, mistõttu suurenes valglalt erosioon (rohkem mineraalainet) ja toitainete sissekanne järve või suurenes organismide/liikide arvukus, mis omakorda tõi kaasa troofsuse suurenemise. Samaaegselt tõusis ka rohevetikate osakaal järves. Enamasti kasutavad vetikad süsiniku allikana lahustunud atmosfäärilist süsihappegaasi ($\delta^{13}\text{C} = -7$ ‰), kuid limiteerituna asendavad nad selle lahustunud HCO_3^- -ga ($\delta^{13}\text{C} = 1$ ‰). See muudab suuresti vetikate $\delta^{13}\text{C}$ väärtuseid, mis atmosfäärilise süsiniku kasutamise puhul on oluliselt madalamad kui lahustunud vesinikkarbonaadi puhul (Meyers ja Teranes, 2001). Sellega saab selgitada $\delta^{13}\text{C}$ väärtuste langusitõuse erinevatel ajaperioodidel. $\delta^{13}\text{C}$ puhul ei ole suuri muutusi kliimaoptimumi ajal, mis näitab, et süsiniku isotoopsuhte väärtused ei ole nii suuresti kliimast sõltuvad kui lämmastiku puhul.

3000-1800 e.m.a toimus taas kliima jahenemine (Hang jt, 2020), mis tõi kaasa toitainete sissekanne vähenemise ja lämmastiku isotoopsuhte väärtuste langemise (Poska jt, 2017). Samuti võivad erinevad lämmastiku isotoopsuhte väärtuste muutused olla seotud liigisiseste muutustega või sellega, mis allikast organismid lämmastikku saavad (Talbot, 2001). Xu jt (2006) täheldasid vetikate puhul, kes ei seo hästi otse atmosfäärist lämmastikku, seotust kõrgemate $\delta^{15}\text{N}$ väärtustega. Selline seos on näha ka Ähijärve puhul, kus lämmastiku isotoopsuhte väärtused tõusevad samaaegselt rohe- ja ränivetikate hulga suurenemisega (joonis 8 ja 9).

Poska jt (2017) õietolmuanalüüsi andmete põhjal tõuseb Ähijärve settes oluliselt teraviljade õietolmu sisaldus 1000 m.a.j (joonis 10). Lämmastiku isotoopsuhte väärtustes toimus sel ajal hüppeline tõus (~2,5‰-ne), mis võib olla seotud põllupidamise ja väetiste kasutuselevõttuga. Varasemad teaduslikud uurimistööd on näidanud, et inimtegevus järve valglalt tõstab märkimisväärselt $\delta^{15}\text{N}$ väärtuseid järvesettes (Wu ja Shen, 2010). Seost inimtegevuse ja lämmastiku isotoopsuhte väärtustega on kirjeldanud ka Teranes ja Bernasconi (2000), kes leidsid, et põllumajanduslikud jäätmed ja reovesi tõstavad märkimisväärselt $\delta^{15}\text{N}$ väärtuseid ($\delta^{15}\text{N}$ väärtused +10 kuni +25; joonis 2). Ligikaudu 1000 a m.a.j langesid süsiniku isotoopsuhte väärtused -33,3‰-ni, seda lühiajalist väljalööki negatiivses suunas võib seletada algse inimõjuga, järve ümber alustati põllupidamist ning kas aletamise või kündmise käigus sattus järve rohkem maismaalist materjali. See omakorda tõi järve toitaineid ning viis järve siseproduktsiooni tõusuni ehk positiivse signaali tugevnemisele.

20. sajandi teisel poolel alandati Ähijärves veetaset 2 meetri võrra, mis kajastub nii süsiniku kui lämmastiku isotoopsuhte väärtuste graafikutel langusega. Veetaseme alandamine tõstis Ähijärve

toitelisust, rohe- ja ränivetikate osakaal langes ning valitsema hakkasid sinivetikad. On leitud, et tsüanobakterid ($\delta^{15}\text{N}$ väärtused -2 kuni $+2$) suudavad omastada õhulämmastikku fotosünteesi käigus ja seejärel toota madala $\delta^{15}\text{N}$ väärtusega orgaanilist ainet (Xu jt, 2006). Sellisel juhul võib järve primaarproduksioon suurened, kuid lämmastiku isotoopsuhte väärtused hoopis langevad. Sellega võib seletada viimaste aastakümnete lämmastiku isotoopsuhte madalamaid väärtusi Ähijärve setetes. Lisaks on viimastel aastakümnetel Ähijärve suurenenud põllumajandusest tulenevate toitainete sissekanne. Nihked $\delta^{13}\text{C}$ väärtustes on samuti seotud inimtegevusega ja näitavad, et ülimalt oluline on paleolimnoloogilistes uuringutes mitmete faktoritega arvestada (Turney, 1999). Sinivetikate rohkus ja inimtegevusest tulenev toitainete sissekanne on tekitanud ohu Ähijärve kinnikasvamisele (Rakko jt, 2008).

Kokkuvõte

Magistritöö esimene eesmärk oli leida efektiivseim eeltötlusmeetod sette orgaanilise aine $\delta^{13}\text{C}$ ja $\delta^{15}\text{N}$ massispektrometristeks mõõtmisteks. Toetudes varasematele teadusuuringutele selgus, et sobiva eeltötlusmeetodi valimisel on kolm probleemi:

- 1) Setteproovide homogeniseerimine – varasemad uuringud on leidnud, et jahvatamisel kasutatavad polüpropüleenist (PP) valmistatud Eppendorfi mikrokatsutid hõõrduvad jahvatamise käigus teraskuulidega, mis võib põhjustada isotoopsuhte väärtuste suurt varieerumist. Mina katsetasin sette jahvatamist Eppendorfi mikrokatsutites ja ahhaadist anumates ahhaadist kuulidega ning leidsin, et isotoopsuhte väärtustel ei ole piisavalt suurt varieerumist, et eelistada üht meetodit teisele.
- 2) Lämmastiku ja süsiniku isotoopsuhte väärtuste üheaegne mõõtmine – orgaanilise aine $\delta^{13}\text{C}$ analüüsimisel on vajalik sette töötlemine happega, et vabaneda anorgaanilisest süsinikust. Varasemad teadusuuringud leidsid, et happetötlus võib mõjutada $\delta^{15}\text{N}$ väärtuseid, muutes neid madalamaks või kõrgemaks. Minu läbiviidud katsete tulemusel muutusid lämmastiku isotoopsuhte väärtused madalamaks, mistõttu tuleks $\delta^{15}\text{N}$ väärtuseid analüüsida eeltöötlemata proovidest.
- 3) Anorgaanilisest süsinikust vabanemine, mis on vajalik orgaanilise aine $\delta^{13}\text{C}$ analüüsimiseks. Varasemates teadusuuringutes on selleks kasutatud erinevaid happeid, erineva kontsentratsiooni ja töötlusajaga. Mina kasutasin oma katsetes kuut erinevat happega töötlemise meetodit: proovide happeauru all hoidmine 20% ja 36% HCl happega 6 h ja 24 h jooksul ning proovide happega pesemine 5% ja 10% HCl happega. Katsete tulemusel leidsin, et parima tulemuse annab proovide happeauru all hoidmine 6 h 20% HCl happega kui karbonaataine (anorgaanilise süsiniku hulga näitaja) sisaldus proovides ei ületa 30%. Kui karbonaataine sisaldus proovis on kõrgem kui 30% tuleks eelistada kangema kontsentratsiooniga hapet (nt. 36% HCl) proovide eeltötlusel. Kindlasti peaks kõrgema kui 30% karbonaataine sisaldusega proovidega veel katseid tegema selgitamiseks, kas saab kasutada madalamat kui 36% kontsentratsiooniga hapet. Samuti vajab välja selgitamist mis maani happeauru all töötlemine üldse toimib või peab mingist karbonaataine sisaldusest alates hoopis kasutama happepesuga töötlemist.

Töö teine eesmärk oli efektiivseimat eeltötlusmeetodit kasutada Ähijärve läbilõike $\delta^{13}\text{C}$ ja $\delta^{15}\text{N}$ analüüsimisel. Saadud andmete põhjal tegin järvekeskkonnaparameetrite ja isotoopandmete statistilise analüüsi. Andmestiku analüüs näitas, et kõige tugevamini on isotoopsuhte väärtustega seotud inimtegevusest tulenevad parameetrid nagu põllunduse indikaatorid, rohttaimede summa, inimõju indikaatorid. Positiivselt on need parameetrid seotud eelkõige $\delta^{15}\text{N}$ väärtustega ja alates 1000 a m.a.j. – mida suurem on kõige tugevamini seotud muutujate hulk, seda positiivsemad on lämmastiku isotoopsuhte väärtused. Sarnaselt lämmastikule sõltuvad samal ajaperioodil $\delta^{13}\text{C}$ väärtused settes inimõjust. Kui rohttaimi ja inimõju esineb rohkem, siis on süsiniku isotoopsuhte väärtused vähem negatiivsed ja vastupidi.

Saadud tulemusi tõlgendasin toetava informatsiooni (setteomadused, ränivetika- ja õietolmuanalüüs, teadusartiklid) abil. Sette koostisest on mineraalne sisaldus kõige tugevamini seotud isotoopsuhte väärtustega, mis ühest küljest viitab inimtegevusest tingitud terrigeense aine sattumisega järve, eelkõige viimase 1000-1500 a jooksul. Lisaks on δ -väärtuste kõikumised tugevalt seotud kliimamuutustega - $\delta^{15}\text{N}$ väärtused tõusevad kliima soojenemisega ning $\delta^{13}\text{C}$ väärtused on seda madalamad, mida soojem on kliima ja sellest tulenevalt lopsakam taimestik. Räni- ja rohevetikad on seotud isotoopsuhte väärtustega üsna lineaarselt – vetikate hulk tõuseb ja langeb samaaegselt süsiniku ja lämmastiku δ -väärtustega.

Käesoleva töö tulemused näitavad kui suur mõju on inimtegevusel järve keskkonnaparameetritele. Mõningatel juhtudel on vajalik tegevuse reguleerimine. Näiteks Ähijärve puhul mõjutas järve suuresti 20. sajandi teisel poolel veetaseme alandamine, mis tõi kaasa toitlisuse suurenemise ja kinnikasvamise ohu. Sellised paleolimnoloogilised uuringud näitavad kui oluline on uurida järvede vee- ja setteparameetreid, et teada milliseid võimalikke samme on vaja teha, et järvekeskkonda parendada. Uuringud aitavad varasema informatsiooni põhjal ennustada, millised keskkonnatingimused mõjutavad veekogusid ka tulevikus. Näiteks kuidas mõjutab kliimasoojenemine/jahenemine järvekeskkonda ning millised tingimused teatud oludes järves on.

Tänuavaldused

Sooviksin tänada oma juhendajaid Siim Veskit ja Tiiu Alliksaart, kelle suunised ja kommentaarid olid olulised töö valmimisel. Lisaks tänan Merlin Liivi, kes aitas laboratoorsete tööde läbiviimisel ja andis sisulist nõu magistritöö jaoks. Oluline roll töö parendamisel oli magistritöö seminaril, mida viis läbi Heidi Elisabet Soosalu, kes andis nõu ka viidete koostamisel. Samuti tänan Jüri Vassiljevit, kes abistas tarkvaraprogrammiga QGIS, mille abil valmis magistritöös uurimisala kaart. Oluline panus töösse oli Anneli Poska ja Atko Heinsalu andmetel, mida nad mulle lahkelt kasutada andsid. Tänu Triin Reitalule, kes aitas andmete statistilisel analüüsil R-keskkonnas. Lisaks soovin tänada oma sõpru ja lähedasi toetuse ja motiveerimise eest.

Töö on valminud ETAG'i uurimisgrantide IUT1-8 ja PRG-323 toel.

Kasutatud kirjandus

- Brodie, C.R., Leng, M.J., Casford, J.S.L., Kendrick, C.P., Lloyd, J.M., Yongqiang, Z. ja Bird, M.I. (2011). Evidence for bias in C and N concentrations and $\delta^{13}\text{C}$ composition of terrestrial and aquatic organic materials due to pre-analysis acid preparation methods. *Chemical Geology*, 282, 67–83. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2011.01.007>
- Bronk Ramsey, C. (2017). Methods for Summarizing Radiocarbon Datasets. *Radiocarbon*, 59(2), 1809–1833. <https://doi.org/10.1017/RDC.2017.108>
- Brykala, D., Bartczak A., Błaszkiwicz, M., Gierszewski, P.J., Goslar, T., Kaczmarek H., Kaszubski, M., Kordowski J., Kramkowski, M.A., Lamparski, P., Lisicki, S., Roman, M., Sarnowski, Ł., Słowiński, M. ja Tyszkowski, S. (2015). Dynamics of Climate and Landscape Evolution of Cultural Landscapes in the Northern Central European Lowlands since the Last Ice Age. *4th Annual ICLEA Workshop 2015*. Słubice, 23.–26. juuni (lk. 100). Scientific Technical Report STR15/05, GFZ German Research Centre for Geosciences. <https://doi.org/10.2312/GFZ.b103-15052>
- Ciffin, D. ja D.R., Corbett. (2003). Evaluation of sediment dynamics in coastal systems via short-lived radioisotopes. *Journal of Marine Systems*, 42, 83–96.
- Craven, K.F., Edwards, R.J., Goodhue, R. ja Rocha, C. (2013). Evaluating the influence of selected acid pre-treatment methods on C/N and $\delta^{13}\text{C}$ of temperate inter-tidal sediments for relative sea level reconstruction. *Irish Journal of Earth Sciences*, 31, 1–18.
- Creager, A.N.H. (2013). *A History of Radioisotopes in Science and Medicine*. The University of Chicago Press.
- Croft, D.A., Su, D.F. ja Simpson, S.W. (2018). *Methods in Paleoecology*. Springer.
- Eesti topograafia andmekogu. (i.a.). *Eesti pühikaart 1:10 000* [Kaart]. Geoportaal, Maa-amet. Kasutatud 27.01.2021, <https://xgis.maaamet.ee/xgis2/page/app/core>
- Fry, B. (2006). *Stable isotope ecology*. Springer.
- Gladyshev, M.I. (2009). Stable Isotope Analyses in Aquatic Ecology (a review). *Journal of Siberian Federal University. Biology* 4, (2009/2), 381–402.
- Gälman, V., Rydberg, J. ja Bigler, C. (2009). Decadal diagenetic effects on $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ studied in varved lake sediment. *Limnology and Oceanography*, 54(3), 917–924. <https://doi.org/10.4319/lo.2009.54.3.0917>
- Hang, T., Veski, S., Vassiljev, J., Poska, A., Kriiska, A. ja Heinsalu, A. (2020). A new formal subdivision of the Holocene Series/Epoch in Estonia. *Estonian Journal of Earth Sciences*, 69(4), 269–280. <https://doi.org/10.3176/earth.2020.15>
- Harris, D., Horwath, W.R. ja van Kessel, C. (2001). Acid fumigation of soils to remove carbonates prior to total organic carbon or carbon-13 analysis. *Soil science society of America Journal*, 65, 1853–1856. <https://doi.org/10.2136/sssaj2001.1853>

- Hastie, T. ja Tibshirani, R. (1986). Generalized Additive Models. *Statistical Science*, 1(3), 297–318.
- Heinsalu, A. (2021). [Andmed väikesemõõtmeliste fragilarioidsete ränivetikate kohta] [Avaldamata andmed]. Tallinna Tehnikaülikool, Geoloogia Instituut.
- Heinsalu, A. ja Alliksaar T. (2005). *Järvetüüpide interkalibreerimiseks vajalike foonitingimuste väljaselgitamine paleolimnoloogiliste uuringute abil*. Tallinna Geoloogia Instituut.
- IAEA: *Reference Materials Characterized for Stable Isotope Ratios*. (2021). Kasutatud 13.05.2021, <https://nucleus.iaea.org/sites/ReferenceMaterials/Pages/Stable-Isotopes.aspx>
- Isaac-Renton, M., Schneider, L. ja Treydte, K. (2016). Contamination risk of stable isotope samples during milling. *Rapid Communication in Mass Spectrometry*, 30, 1513–1522. <https://doi.org/10.1002/rcm.7585>
- Isogeoghem Listserv*. (2021). Kasutatud 01.03.2021, <https://list.uvm.edu/cgi-bin/wa?A0=isogeochem>
- Jolliffe, I.T. ja Cadima, J. (2016). Principal component analysis: a review and recent developments. *Philosophical Transactions of The Royal Society A Mathematical Physical and Engineering Sciences*, 374(2065). <https://doi.org/10.1098/rsta.2015.0202>
- Kalm, V. (2006). Pleistocene chronostratigraphy in Estonia, southeastern sector of the Scandinavian glaciation. *Quaternary Science Reviews*, 25 (9–10), May 2006, 960–975. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2005.08.005>
- Karukäpp, R. (1974). Karula kõrgustiku reljeefist. *Eesti Geograafia Seltsi aastaraamat*, 36–51.
- Kennedy, P., H. Kennedy ja S. Papadimitriou. (2005). The effect of acidification on the determination of organic carbon, total nitrogen and their stable isotopic composition in algae and marine sediment. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 19(8), 1063–1068. <https://doi.org/10.1002/rcm.1889>
- Knowles, R. ja Blackburn, T.H. (1993). *Nitrogen isotope techniques*. Academic press.
- Koff, T. (2017). Sada aastat õietolmuanalüüsi arengust maailmas ja Eestis. *Eesti Geograafia Seltsi aastaraamat*, 42, 7–24.
- Komada, T., Anderson, M.R. ja Dorfmeier, C.L. (2008). Carbonate removal from coastal sediments for the determination of organic carbon and its isotopic signatures, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{14}\text{C}$: comparison of fumigation and direct acidification by hydrochloric acid. *Limnology and Oceanography Methods*, 6(6), 254–262. <https://doi.org/10.4319/lom.2008.6.254>
- Konsa, M. (2005). Vaade Karula kõrgustikult Lõuna-Eesti muinasajale. *TÜ Lõuna-Eesti keele- ja kultuuriuuringute keskuse aastaraamat*, IV, 11–29.
- Laarmaa, R., Ott, I., Timm H., Maileht, K., Sepp, M., Mäemets, H., Palm, A., Krause, T. ja Saar, K. (2019). *Eesti järved*. Varrak.

- Leng, M.J. ja Marshall, J.D. (2004). Palaeoclimate interpretation of stable isotope data from lake sediment archives. *Quaternary Science Reviews*, 23, 811–831. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2003.06.012>
- Li, C. ja Ji, H. (2016). Chemical weathering and the role of sulfuric and nitric acids in carbonate weathering: Isotopes (^{13}C , ^{15}N , ^{34}S , and ^{18}O) and chemical constraints. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 121(5), 1288–1305. <https://doi.org/10.1002/2015JG003121>
- Li, L., Yu, Z., Moller, R.E. ja Bebout, G.E. (2008). Complex trajectories of aquatic and terrestrial ecosystem shifts caused by multiple human-induced environmental stresses. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 72(17), 4338–4351. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2008.06.026>
- Lu, Y., Meyers, P.A., Eadie, B.J. ja Robbins, J.A. (2009). Carbon cycling in Lake Erie during cultural eutrophication over the last century inferred from the stable carbon isotope composition of sediments. *Journal of Paleolimnology*, 43, 261–272. <https://doi.org/10.1007/s10933-009-9330-y>
- , K. (2020). Ähijärv Karula Rahvuspargis [Foto]. Flickr veebikeskkond. <https://www.flickr.com/photos/blizzardfoto/50181872152/>
- Lücke, A., Schleser, G.H., Zoltischka B. ja Negendank, J.F.W. (2003). A Lateglacial and Holocene organic carbon isotope record of lacustrine palaeoproductivity and climatic change derived from varved lake sediments of Lake Holzmaar, Germany. *Quaternary Science Reviews*, 22, 569–580. [https://doi.org/10.1016/S0277-3791\(02\)00187-7](https://doi.org/10.1016/S0277-3791(02)00187-7)
- Mettler Jr., F.A. ja Guiberteau, M.J. (2019). Cardiovascular System. Teoses Mettler Jr., F.A. ja Guiberteau, M.J. (toim.), *Essentials of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, 7th Edition*, lk. 116–174. Elsevier.
- Meyers, P.A. ja Teranes, J.L. (2001). Sediment organic matter. Teoses Last, W. M. ja Smol, J. P. (toim.), *Tracking Environmental Change Using Lake Sediments. Volume 2: Physical and Geochemical Methods*, lk. 239–269. Kluwer Academic Publishers.
- Mäger, T. (2013). *Viirsavi porivee isotoopkoostisest Lääne-Eestis*. Magistritöö. Tartu Ülikool, Ökoloogia ja Maateaduste Instituut.
- Palo, M. ja Ott, I. (2019). *Järvede uurimuslik seire 2019-2020*. Kobras AS, Eesti Maaülikool. https://www.keskkonnaamet.ee/sites/default/files/Veemajanduskavad/jarvede_uurimuslik_seire_vahearuanne.pdf
- Peterson, B.J. ja Fry, B. (1987). Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18, 293–320.
- Ponomarenko, E., Tomson, P., Ershova, E. ja Bakumenko, V. (2019). A multi-proxy analysis of sandy soils in historical slash-and-burn sites: A case study from southern Estonia. *Quaternary International*, 516, 190–206. <https://doi.org/10.1016/j.quaint.2018.10.016>
- Poska, A., Väli V., Kama, P., Tomson, P., Vassiljev J. ja Kihno, K. (2017). Karula kõrgustiku taimkatte ning inimasustuse pärestjääaegne areng. *Eesti Geograafia Seltsi aastaraamat*, 42, 24–43.

Poska, A., Väli V., Tomson, P., Vassiljev, J., Kihno, K., Alliksaar, T., Villoslada, M., Saarse, L. ja Sepp, K. (2018). Reading past landscapes: combining modern and historical records, maps, pollen-based vegetation reconstructions, and the socioeconomic background. *Landscape Ecology*, 33, 529–546. <https://doi.org/10.1007/s10980-018-0615-2>

Punning, J-M. (2005). Kuidas hinnata radioaktiivse süsiniku meetodit tänapäeval? *Eesti Loodus*, 11, 18–22.

Puusepp, L. (2011). Ka järvesetted kõnelevad – paleolimnoloogilistest uuringutest Eestis viimasel kümnendil. Teoses Soomere, T., Nõges, T., Help, H.-L., Jakobson, S., Rebo, Ü. ja Varlamova, G. (toim.). *Teadusmõtte Eestis (VII). Meri. Järved. Rannik* (lk. 171–187). Eesti Teaduste Akadeemia Kirjastus.

R Core Team. (2013). *R: A language and environment for statistical computing* [Arvutitarkvara]. R Foundation for Statistical Computing. <http://www.R-project.org/>

Rakko A., Laugaste R. ja Ott I. (2008). Algal Blooms in Estonian Small Lakes. Teoses Evangelista V., Barsanti L., Frassanito A.M., Passarelli V. ja Gualtieri P. (toim.), *Algal Toxins: Nature, Occurrence, Effect and Detection. NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology*, lk. 211–220. Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8480-5_8

Raukas, A. (1986). Deglaciation of the Gulf of Finland and adjoining areas. *Bulletin of the Geological Society of Finland*, 58(2), 21–33. <https://doi.org/10.17741/bgsf/58.2.003>

Reimer, P.J., Austin, W.E.N., Bard, E., Bayliss, A., Blackwell, P.G., Bronk Ramsey, C., Butzin, M., Cheng, H., Edwards, R.L., Friedrich, M., Grootes, P.M., Guilderson, T.P., Hajdas, I., Heaton, T.J., Hogg, A.G., Hughen, K.A., Kromer, B., Manning, S.W., Muscheler, R., . . . Talamo, S. (2020). The IntCal20 Northern Hemisphere Radiocarbon Age Calibration Curve (0–55 cal kBP), *Radiocarbon*, 62(4), 725–757. <https://doi.org/10.1017/RDC.2020.41>

Ryba, S.A. ja Burgess, R.M. (2002). Effects of sample preparation on the measurement of organic carbon, hydrogen, nitrogen, sulfur, and oxygen concentrations in marine sediments. *Chemosphere* 48, 139–147. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(02\)00027-9](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00027-9)

Rühland, K.M., Paterson, A.M. ja Smol, J.P. (2015). Lake diatom responses to warming: reviewing the evidence. *Journal of Paleolimnology*, 54, 1–35. <https://doi.org/10.1007/s10933-015-9837-3>

Schoeninger, M.J. ja Moore, K.M. (1992). Bone stable isotope studies in archaeology. *Journal of World Prehistory*, 6(2), 247–296. <https://doi.org/10.1007/BF00975551>

Schubert, C.J. ja Nielsen, B. (2000). Effects of decarbonation treatments on $\delta^{13}\text{C}$ values in marine sediments. *Marine chemistry*, 72, 55–59. [https://doi.org/10.1016/S0304-4203\(00\)00066-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4203(00)00066-9)

Seddon, A.W.R., Mackay, A.W., Baker, A.G., Birks, H.J.B., Breman, E., Buck, C.E., Ellis, E.C., Froyd, C.A., Gill, J.L., Gillson, L., Johnson, E.A., Jones, V.J., Juggins, S., Macias-Fauria, M., Mills, K. Morris,

J.L., Nogués-Bravo, D., Punyasena, S.W., Roland, T.P., Tanentzap, A.J., Willis, K.J., Aberhan, M., . . . Witkowski, A. (2014). Looking forward through the past: identification of 50 priority research questions in palaeoecology. *Journal of Ecology*, 102(1), 256–267. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12195>

Simmons, M.S. (1991). *Hazardous Waste Measurements*. Lewis Publishers, Inc.

Stivrins, N., Liiv, M., Heinsalu, A., Galka, M. ja Veski, S. The final meltdown of dead-ice at the Holocene Thermal Maximum (8500–7400 cal. yr BP) in western Latvia, eastern Baltic. *The Holocene*, 27(8), 1146–1157. <https://doi.org/10.1177/0959683616683255>

Talbot, M.R. (2001). Nitrogen isotopes in palaeolimnology. Teoses Last, W. M. ja Smol, J. P. (toim.), *Tracking Environmental Change Using Lake Sediments. Volume 2: Physical and Geochemical Methods*, lk. 401–439. Kluwer Academic Publishers.

Teranes, J.L. ja Bernasconi, S.M. (2000). The record of nitrate utilization and productivity limitation provided by $\delta^{15}\text{N}$ values in lake organic matter—A study of sediment trap and core sediments from Baldeggersee, Switzerland. *Limnology and Oceanography*, 45(4), 801–813. <https://doi.org/10.4319/lo.2000.45.4.0801>

Tomson, P. (2007). *Ajaloolise maakasutuse mõju Karula rahvusparki maastike, koosluste ja kaitsekorra kujunemisele*. Magistritöö. Eesti Maaülikool, Põllumajandus- ja Keskkonnainstituut.

Tomson, P., Bunce, R.G.H. ja Sepp, K. (2015). The role of slash and burn cultivation in the formation of southern Estonian landscapes and implications for nature conservation. *Landscape and Urban Planning*, 137, 54–63. <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2014.12.015>

Topo-Hüdrograafia Osakond. (1935-1938). *Eesti Vabariigi 1:200 000 topograafiline kaart* [Kaart]. Geoportaal, Maa-amet. <https://xgis.maaamet.ee/xgis2/page/app/ajalooline>

Traksmäe A., Haber M. ja Lukas J. (1933). *Riigikaitse õpetuse käsiraamat kesk- ja kutsekoolidele*. Kaitseväge Staabi VI osakond.

Turney, C.S.M. (1999). Lacustrine Bulk Organic $\delta^{13}\text{C}$ in the British Isles during the Last Glacial-Holocene Transition (14–9 ka ^{14}C BP). *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, 31(1), 71–81. <https://doi.org/10.1080/15230430.1999.12003282>

Vaikmäe, R. (2019). Kirjeldavast teadusest täppisteaduseks. *Eesti Geograafia Seltsi aastaraamat*, 44, 210–227.

Valk, H. (2016). Archaeological excavations on the hill fort of Värtemägi, Karula Parish. *Journal of Archaeological Research*, 39–46.

Vandel, E., Vaasma, T., Vainu M. ja Terasmaa J. (2020). *Eesti väikejärvede batümeetriline seire 2019*. Tallinna Ülikool, Ökoloogia keskus.

<https://kese.envir.ee/kese/downloadReportFile.action?fileUid=18553030&monitoringWorkUid=17723756>

VanLoon, G.W. ja S.J. Duffy. (2005). *Environmental Chemistry: A Global Perspective*. Oxford University Press.

Veski, S. ja Poska, A. (2004). Eelajalooline inimene ja poollooduslikud taimekooslused Eestis – pilk minevikku õietolmu meetodil. *Eesti Loodusuurijate Seltsi Aastaraamat*, 82, 24–49.

Veski, S., Reitalu, T., Amon, L. ja Lõugas, L. (2020). Eesti elustiku ajaskaalad. *Eesti Loodus*, 71(12), 16–23.

Walthert, L., Graf, U., Kammer, A., Luster, J., Pezzotta, D., Zimmermann, S. ja Hagedorn F. (2010). Determination of organic and inorganic carbon, $\delta^{13}\text{C}$, and nitrogen in soils containing carbonates after acid fumigation with HCl. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 173(2), 207–216. <https://doi.org/10.1002/jpln.200900158>

Ward, J.K., Myers, D.A. ja Thomas, R.B. (2008). Physiological and growth responses of C3 and C4 plants to reduced temperature when grown at low CO2 of the last ice age. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50(11), 1388–95. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2008.00753.x>

Weber, J.N. (1964). Carbon and Oxygen Isotope Ratios as Environmental Indicators: Anomalous Results from Carbonate Shells from Beach Sediments of Lake Managua, Nicaragua. *Nature*, 201, (63). <https://doi.org/10.1038/201063a0>

Wik, M. ja Renberg, I. (1996). Environmental records of carbonaceous fly-ash particles from fossil-fuel combustion. *Journal of Paleolimnology*, 15, 193–206.

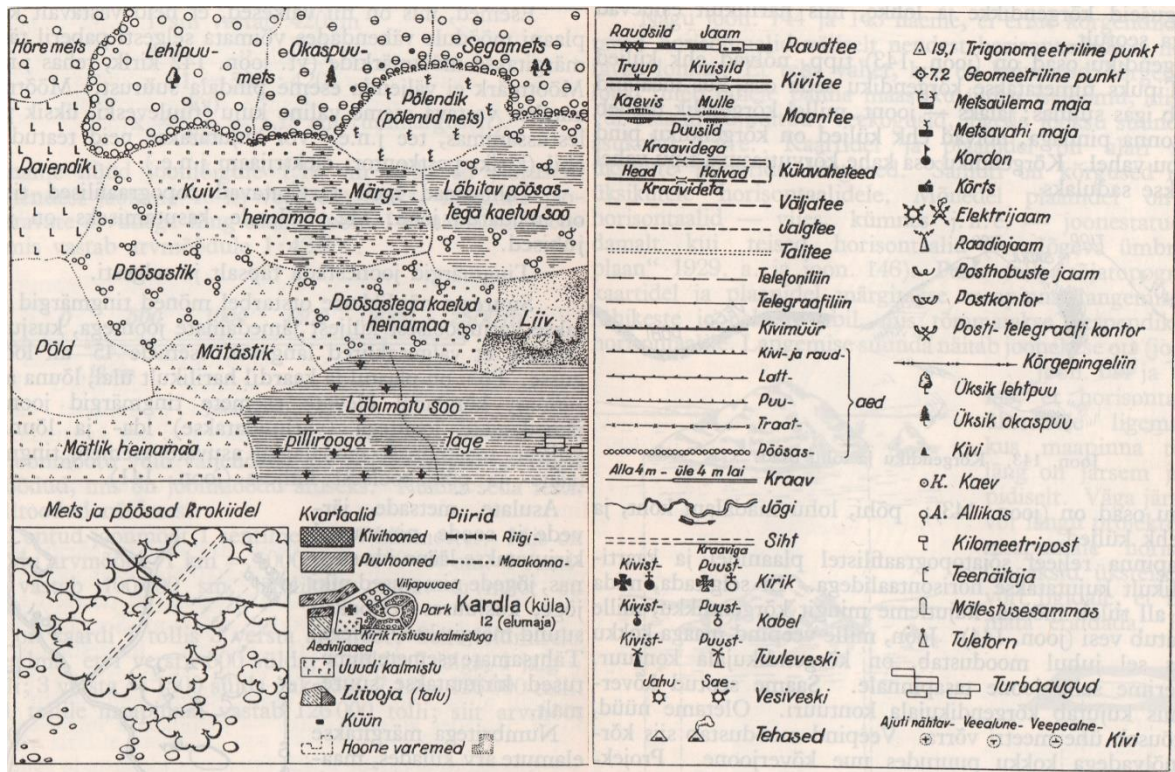
Wolfe, B.B., Edwards, T.W.D., Elgood, R.J. ja Beuning, K.R.M. (2001). Carbon and oxygen isotope analysis of lake sediment cellulose: methods and applications. Teoses Last, W. M. ja Smol, J. P. (toim.), *Tracking Environmental Change Using Lake Sediments. Volume 2: Physical and Geochemical Methods*, lk. 373–400. Kluwer Academic Publishers.

Wu, J. ja Shen, J. (2010). Paleoenviromental and paleoclimatic changes in Lake Xingkai inferred from stable carbon and nitrogen isotopes of bulk organic matter since 28 ka BP. *Acta Sedimentologica Sinica*, 28, 365–372.

Xu, H., Ai, L., Tan, L. ja An, Z. (2006). Stable isotopes in bulk carbonates and organic matter in recent sediments of Lake Qinghai and their climatic implications. *Chemical Geology*, 235(3-4), 262–275. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2006.07.005>

Lisa 1. Eesti Vabariigi 1:200 000 topograafilise kaardi leppemärgid

Eesti Vabariigi 1:200 000 topograafilise kaardi leppemärgid on koostanud Traksmaa jt (1933).



Lisa 2. Anorgaanilisest süsinikust vabanemise meetodid erinevate autorite puhul

Autorid	Schubert ja Nielsen, 2000	Harris jt, 2001	Ryba ja Burgess, 2002	Kennedy jt, 2005	Komada jt, 2008	Walther jt, 2010	Brodie jt, 2011	Craven jt, 2013
Meetod	Happeaur: 36% HCl 72 h Happepesu: 10% HCl	Happeaur: 37% HCl 6 h - 96 h Happepesu: 0,5 M HCl	Happeaur: 1 M HCl 18 h Happepesu: 1 M HCl	Happeaur ja happepesu: 1 M, 2 M ja 6 M HCl, 6% H ₂ SO ₃ ja 1 M H ₃ PO ₄	Happeaur: 1M HCl 6 h Kapselmeetod: 1 M HCl	Happeaur: 8-32 h 37% HCl	Happeaur, happepesu, kapselmeetod: 5%, 10%, 20% ja 36% HCl, 6% H ₂ SO ₃ ja 6% ja 98% H ₃ PO ₄	Happeaur: 12 M HCl 9 h Happepesu: 0,5 M HCl
Järeldused	Happeaur: üle 33% karbonaatainet ei eemalda Happepesu: väikesed kõrvalkalded isotoopväärtes	Happeaur: 6h piisav karbonaatide eemaldamiseks, ei mõjuta isotoopväärtesid Happepesu: seid isotoopväärtesid Happepesu: tõstis ¹³ C ja ¹⁵ N väärtuseid	Happeaur: Nii kui happeauru happepesuga töötuse korral soovitati kasutada 2 M HCl	Soovitatakse happeauruga töötlemist. Mõlema meetodi puhul täheledata muutuseid N väärtustes - seega N isotoopväärtesid töötlemata proovist. Happeaur: ei tohiks töödelda kauem kui 24 h	Proovidele lisada tilk 1% HCl destilleeritud vee asemel (Harris jt, 2001) Lisaks muutuavad 15N väärtused väiksemaks 37% HCl töötusega	H ₂ SO ₃ ja H ₃ PO ₄ ei eemalda piisavalt karbonaate, seega soovitatakse HCl (pigem lahjendatud). Meetodina soovitatakse kapselmeetodit . Happeaur: üle 30% karbonaate ei eemalda Happepesu: orgaaniline süsinik võib kaduda. Kasutada tsentrifuugimist!	H ₂ SO ₃ ja H ₃ PO ₄ ei eemalda piisavalt karbonaate, seega soovitatakse HCl (pigem lahjendatud). Meetodina soovitatakse kapselmeetodit . Happeaur: üle 30% karbonaate ei eemalda Happepesu: orgaaniline süsinik võib kaduda. Kasutada tsentrifuugimist!	Happeaur: ei täheledata negatiivseid muutuseid. Soovitatakse Happepesu: 12 M HCl on ilmselt liiga kange - orgaanilise C ja N kadu ja selle mõju isotoopväärtes