

Pro gradu –tutkielma

**UV-säteilyn vaikutukset kasvuun sekä klorofyllin ja
fenolisten yhdisteiden määrään rauduskoivun
(*Betula pendula*) taimilla**

Tuulia Venäläinen



Jyväskylän yliopisto

Bio- ja ympäristötieteiden laitos

Ympäristötieteet

31.5.2008

JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO, Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta

Bio- ja ympäristötieteiden laitos
Ympäristötieteet

VENÄLÄINEN TUULIA, S.: UV-säteilyn vaikutukset kasvuun sekä klorofyllin ja fenolisten yhdisteiden määrään rauduskoivun (*Betula pendula*) taimilla.

Pro gradu: sivumäärä
Työn ohjaajat: Pedro Aphalo, Markku Kuitunen, Titta Kotilainen
Tarkastajat: Aimo Oikari, Markku Kuitunen
Toukokuu 2008

Hakusanat: Rauduskoivu, *Betula pendula*, UV-säteily, vaikutusspektri

TIIVISTELMÄ

Tässä pro gradu tutkielmassa tutkittiin UV-säteilyn vaikutuksia rauduskoivun (*Betula pendula*) taimien kasvuun sekä klorofyllin ja fenolisten yhdisteiden määrään yhden kasvukauden mittaisessa ulkokokeessa poistamalla UV-säteilyn tiettyjä aallonpituuksia muovikalvojen avulla. UV-säteilyn poistamiseen käytettiin kolmea kalvoa (kontrolli, polyesteri ja Rosco), joita yhdistelemällä saatiin kuusi käsittelyä. Käsittelyt olivat kontrolli (CC, kalvoyhdistelmä läpäisi sekä UV-A:sta että UV-B:stä 100%), polyesteri (PP, kalvoyhdistelmä läpäisi UV-A:sta 100% ja UV-B:stä 0%), Rosco (RR, kalvoyhdistelmä läpäisi sekä UV-A:sta että UV-B:stä 0%), kontrolli-polyesteri (CP, kalvoyhdistelmä läpäisi UV-A:sta 100% ja UV-B:stä 50%), kontrolli-Rosco (CR, kalvoyhdistelmä läpäisi sekä UV-A:sta että UV-B:stä 50%) sekä polyesteri-Rosco (PR, kalvoyhdistelmä läpäisi UV-A:sta 50% ja UV-B:stä 0%). Käsittelyllä ei ollut vaikutusta pituuskasvuun, silmujen määrään, lehtien ja varren kuivapainoon tai klorofyllin määrään. UV-B säteilyn poistaminen vaikutti juurten kuivapainoon, mutta vaikutus ei ollut lineaarinen. Yksittäisiä fenolisia yhdisteitä analysoitiin 17, joista kuuden pitoisuus pieneni UV-säteilyn poistamisen vaikutuksesta. Myrsetiineillä sekä klorogeenihapolla pitoisuus pieneni UV-B säteilyn poistamisen vaikutuksesta, kun taas kversetiineillä sekä kamferoli-3-ramnosidilla vaikutus oli sekä UV-A että UV-B säteilyllä. Fenolisten yhdisteiden kokonaismäärä ilman tanniineja ja tanniinien kokonaispitoisuus väheni UV-B säteilyä poistettaessa, ja fenolien kokonaismäärä (fenolit + tanniinit) sekä UV-A että UV-B säteilyä poistettaessa. Lisäksi UV-A ja UV-B säteilyn poistaminen vähensi fenolisista yhdisteryhmistä flavonoidien määrää ja UV-B säteilyn poistaminen klorogeenihappojen määrää. Tanniinit (51,6%) ja flavonoidit (34,7%) olivat runsaimmat yhdisteet.

UNIVERSITY OF JYVÄSKYLÄ, Faculty of Science

Department of Biological and Environmental Science
Environmental Sciences

VENÄLÄINEN TUULIA, S.: The effects of UV-radiation on growth, chlorophyll and phenolic compounds of silver birch (*Betula pendula*) seedlings.

Master of Science Thesis: sivumäärä

Supervisors: Pedro Aphalo, Markku Kuitunen, Titta Kotilainen

Inspectors: Aimo Oikari, Markku Kuitunen

May 2008

Keywords: Silver birch, *Betula pendula*, UV-radiation, action spectrum

ABSTRACT

This master's thesis studies the effects of UV-exclusion on the growth and the content of chlorophyll and phenolic compounds of silver birch (*Betula pendula*) seedlings. The study was carried out as an outdoor experiment over one growing season. We combined three different kinds of plastic films to get six treatments. The treatments were control (CC, the film transmitted 100% of both UV-A and UV-B), polyester (PP, the film transmitted 100% of UV-A and 0% of UV-B), Rosco (RR, the film transmitted 0% of both UV-A and UV-B), control-polyester (CP, the film transmitted 100% of UV-A and 50% of UV-B), control-Rosco (CR, the film transmitted 50% of both UV-A and UV-B) and polyester-Rosco (PR, the film transmitted 50% of UV-A and 0% of UV-B). UV treatments had no effect on the height, number of buds, dry weight of leaves and stem and chlorophyll content. UV-B attenuation effected on the dry weight of roots, but the effect was not linear. The concentration of six phenolic compounds from the total of 17 compounds analyzed decreased as UV radiation was attenuated. UV-B attenuation decreased the concentration of myricetins and chlorogenic acid, while both UV-A and UV-B had similar effect on quercetins and kaempferol 3-rhamnoside. The amount of phenolic compounds without tannins and total concentration of tannins decreased as UV-B was attenuated, while the total amount of phenolics (phenolics + tannins) decreased under the influence of both UV-A and UV-B. In addition the attenuation of UV-A and UV-B both decreased the amount of flavonoids as a group and UV-B attenuation decreased the amount of chlorogenic acids as a group. As a percent of all phenolics measured the amounts of tannins (51,6%) and flavonoids (34,7%) were the largest.

Sisältö

1. JOHDANTO	5
2. KLOOROFYLLI	6
3. UV-SÄTEILYN VAIKUTUKSET KASVEIHIN	9
3.1. UV-B SÄTEILYN VAIKUTUKSET KASVUUN	10
3.2. UV-B SÄTEILYN VAIKUTUKSET FOTOSYNTHEESIAKTIIVISUUTEEN.....	12
3.3. UV-B -SÄTEILYN VAIKUTUKSET PERINTÖAINEKSEEN	14
3.4. SUOJAPIGMENTIT	14
4. KASVIEN FENOLISET YHDISTEET	15
5. VAIKUTUSSPEKTRI, BSWF JA RAF	16
6. AINEISTO JA MENETELMÄT	20
6.1. TAIMET JA NIIDEN ISTUTUS	20
6.2. KALVOT.....	20
6.3. KOEALAN PYSTYTYS.....	22
6.4. KOKEEN AIKANA SUORITETUT TOIMET	23
6.5. NÄYTTEIDEN KERÄÄMINEN JA KOKEEN LOPETUS	24
6.6. NÄYTTEIDEN ANALYSOINTI	25
6.6.1. Klorofylli.....	25
6.6.2. Fenoliuutot.....	25
6.6.3. Liukenevat ja liukenemattomat tanniinit	26
6.6.4. Muut fenoliyhdisteet.....	26
6.7. TILASTOMENETELMÄT	26
7. TULOKSET	27
7.1. PITUUSKASVU, SILMUJEN MÄÄRÄ SEKÄ LEHTIEN, VARREN JA JUURTEN KUIVAPAINOT	27
7.2. KLOOROFYLLIN MÄÄRÄ LEHDISSÄ	28
7.3. FENOLIPITOISUUS LEHDISSÄ	29
8. TULOSTEN TARKASTELU	33
KIITOKSET	39
KIRJALLISUUS	40
LIITTEET	43
LIITE 1.	44
LIITE 2.	45
LIITE 3.	46

1. JOHDANTO

Ilmakehän stratosfäärissä sijaitseva otsonikerros suojaa maapallon eliökuntaa auringon haitalliselta ultraviolettisäteilyltä (UV-säteily). Otsonikerros muodostui noin 600 miljoonaa vuotta sitten (Robberecht 1989). Sen syntymisprosessia ei vieläkään tunneta, mutta erään hypoteesin mukaan atmosfäärin happipitoisuus pikkuhiljaa nousi erinäisten prosessien tuloksena, mikä lopulta mahdollisti otsonimolekyylien muodostumisen. 200 miljoonaa vuotta myöhemmin atmosfäärin otsonipitoisuus saavutti 10 %:n rajan, joka mahdollisti terrestriaalisen ekosysteemin syntymisen.

Otsonikerroksen ohenemista on havaittu jo useiden vuosien ajan. Stratosfäärin otsonia tuhoavat pääasiassa CFC-yhdisteet (kloorifluorihilivedyt), joita pääsee ilmakehään mm. vanhojen jäädytyslaitteistojen kuten jääkaappien jäädytysnesteistä (Kohen ym. 1995). Stratosfäärissä UV-säteily hajottaa CFC-yhdisteitä ja niistä vapautuu kloorimolekyylejä, jotka ovat vastuussa otsonimolekyylien tuhoutumisesta (Kohen ym. 1995). CFC-yhdisteet ovat ilmakehässä hyvin pitkäikäisiä ja onkin arvioitu, että yksi CFC-molekyyli tuhoaa elinikänsä aikana jopa 100 000 otsonimolekyyliä (Kohen ym. 1995). Myös typpioksiduulista (N_2O) foto-oksideatioreaktioiden kautta syntyvät reaktiiviset typen oksidit ovat osallisina otsonin tuhoutumisessa (Robberecht 1989). Typpioksiduulia syntyy luonnollisesti bakteerien aineenvaihdunnassa sekä ihmisen toiminnan tuloksena esimerkiksi lentoliikenteen päästöistä.

Ultraviolettisäteilyksi sanotaan säteilyä, jonka aallonpituus nanometreissä on alle 400 (Björn 2002a). UV-säteily voidaan jakaa kolmeen osaan aallonpituuden perusteella (Björn 2002a). UV-A säteilyn aallonpituus on 315–400, UV-B:n 280–315 ja UV-C:n alle 280 nm (Kohen ym. 1995). Näistä kolmesta biologisesti kaikkein haitallisinta on viimeksi mainittu UV-C säteily lyhimmän aallonpituutensa vuoksi. Mitä lyhyemmän aallonpituuden säteily omaa, sen helpommin se pääsee eliön kudokseen, ja sen haitallisempaa se on. Auringon emittoimasta UV-C säteilystä kaikki kuitenkin pysähtyy otsonikerrokseen ja näin ollen siitä ei ole maapallon kasveille ja muille eliöille haittaa (Kohen ym. 1995). Sen sijaan UV-A ja UV-B säteilystä osa pääsee otsonikerroksen läpi ja nimenomaan UV-B säteilyn määrä tulee lisääntymään otsonikadon myötä.

Fotobiologia on tieteenala, joka tutkii auringonsäteilyn ja ympäristön vuorovaikutuksia. Se tutkii miten ympäristön olosuhteet ja ominaisuudet vaikuttavat säteilyn pääsemiseen ekosysteemin eri tasoille, ja mitä vaikutuksia säteilyllä on yksilöön ja sitä kautta koko ekosysteemiin (Robberecht 1989). Kun kyseessä on terrestriaalinen ekosysteemi ja nimenomaan kasvit, vaikuttaa kasvuston kerroksellisuus ja lehvästön tiheys auringonsäteilyn kulkeutumiseen ympäristössä. Säteily voi muuttua hyvinkin merkittävästi kasvuston läpi kulkiessaan. Tästä johtuen kasvin asema kasvustossa määrittelee sen käytettävissä olevan säteilyn laadun ja määrän. Pohjakerroksen kasvit saavat luonnollisesti vähiten säteilyä ja ovat siksi sopeutuneet vähäiseen säteilyn määrään.

Yksi kasvien sopeutumismuoto suurelle UV-säteily määrälle altistumisessa on säteilyä absorboivien suojapigmenttien tuottaminen (Robberecht 1989). Kasvien suojapigmenteistä puhuttaessa tarkoitetaan fenoleita, joihin kuuluu runsaasti kemialliselta rakenteeltaan erilaisia yhdisteitä kuten flavonoidit ja tanniinit. Fenoliset yhdisteet muodostavat erittäin tehokkaan suojan UV-säteilyyn, ja nimenomaan UV-B säteilyyn, haitallisia vaikutuksia vastaan.

Tässä pro-gradu tutkielmassa tutkittiin UV-säteilyn vaikutuksia rauduskoivun (*Betula pendula*) taimien kasvuun sekä klorofyllin ja fenolisten yhdisteiden määrään yhden kasvukauden mittaisessa ulkokokeessa poistamalla UV-säteily tiettyjä aallonpituuksia muovikalvojen avulla. Hypoteesinä tutkimuksessa oli fenolisten yhdisteiden pitoisuuden pieneneminen UV-säteilyä poistettaessa. Taimien kasvussa ja klorofyllin määrässä ei odotettu tapahtuvan mitään muutoksia, koska kyseessä oli lyhytaikainen koe. Tutkimuksen tavoitteena oli verrata koivuntaimien vasteita luontaiseen UV-A ja UV-B säteilyyn. Tämä edesauttaa olemassa olevien otsonikadon simulointikokeissa käytettävien vaikutusspektrien oikeintulkittamista ja käyttämistä.

2. KLOROFYLLI

Kasveille fotosynteesin kannalta tärkein osa auringosta tulevaa säteilyä on näkyvän valon aallonpituusalueella eli 400–700 nm ja sitä kutsutaan fotosynteettisesti aktiiviseksi säteilyksi, PAR:ksi (photosynthetically active radiation) (Björn 2002a). Kasvibiologian kannalta myös aallonpituusalueella 700–750 nm esiintyvä FR-säteily (far-red light, pitkä-punainen) on tärkeää (Björn 2002a).

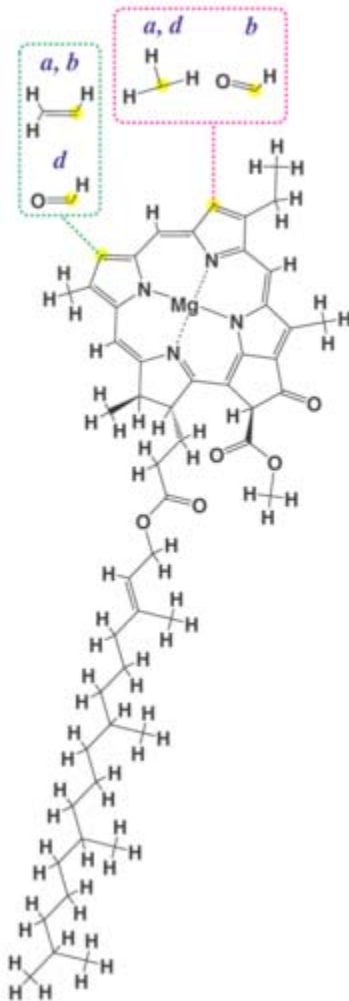
Fotosynteesi on elämän perusta. Se on prosessi, jossa kasvit tuottavat vedestä ja hiilidioksidista sokereita ja happea auringon valosta saadun energian avulla. Fotosynteesiä tapahtuu kaikissa kasvin vihreissä osissa, mutta lehti, ja nimenomaan sen mesofyllisolut, ovat sokerin muodostuksen päätapatumapaikka (Campbell ym. 1999). Mesofyllisolut koostuvat kloroplasteista, jotka sisältävät fotosynteesikoneiston. Yhdessä mesofyllisolussa on 20-30 kloroplastia.

Klorofylli on vihreä pigmentti, jota löytyy kloroplastien tylakoidikalvoilta (Campbell ym. 1999). Pigmentiksi kutsutaan molekyyliä, joka absorboi auringon säteilyä näkyvää valoa (400–700 nm). Fotosyntetisoivilla organismeilla on useita eri pigmenttejä, jotka absorboivat auringon säteilyä eri aallonpituuksilla. Esimerkkinä mainittakoon karotenoidit ja klorofylli, joista ensin mainittu on vastuussa esimerkiksi porkkanoiden oranssista väristä. Klorofylli absorboi punaista ja sinistä valoa, jotka ovat fotosynteesin kannalta tärkeimmät valon aallonpituusalueet. Juuri klorofylli saa aikaan lehtien ja muiden kasvin vihreiden osien värin heijastamalla fotosynteesin kannalta vähemmän tärkeää vihreää valoa.

Eri pigmentit ovat järjestäytyneet kloroplastien tylakoidikalvoille antennikomplekseiksi kanavoidakseen absorboimaansa säteilyä edelleen fotosynteesiin (Campbell ym. 1999). Antennikompleksi muodostuu klorofylli a- ja

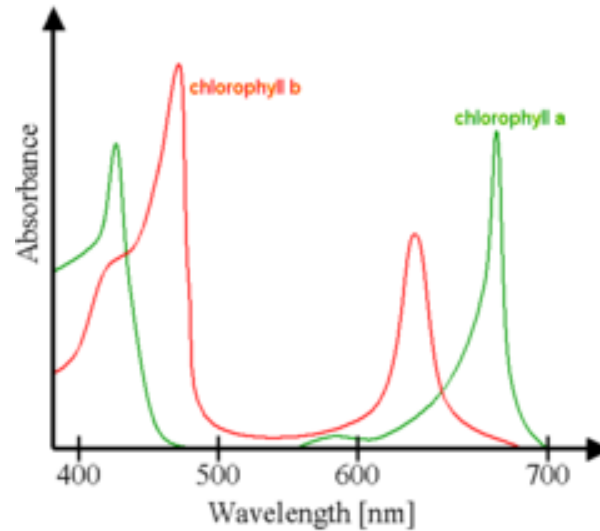
b- sekä karotenoidipigmenteistä. Kaikki edellä mainitut pigmentit toimivat valopartikkeleiden eli fotonien ohjaajina, mutta klorofylli a voi suoraan osallistua valoreaktioihin ja siten sitä löytyy myös antennikompleksin reaktiokeskuksesta (Campbell ym. 1999). Pigmenttien määrä vaihtelee eri organismeilla, esimerkiksi kehittyneemmällä kasveilla on 200-300 klorofyllimolekyyliä ja fotosyntetisoivilla bakteereilla 20-30 klorofyllimolekyyliä reaktiokeskusta kohti (Taiz & Zeiger 1998).

Eukaryooteilla esiintyviä klorofyllipigmenttejä on neljä: klorofylli a, b, c ja d (Taiz & Zeiger 1998). Näistä ainoastaan klorofylli a ja b:tä tavataan kehittyneemmällä siemenkasveilla, sammalilla sekä saniaisilla. Klorofylli c:tä löytyy mm. ruskolevällä ja klorofylli d:tä mm. punalevällä ja syanobakteereilla. Klorofylli a ja b eroavat toisistaan kemiallisilta rakenteiltaan ainoastaan yhden funktionaalisen ryhmän perusteella (Kuva 1.). Klorofylli a:lla porfyriinirengaassa funktionaalisenä ryhmänä on metyyliryhmä (-CH₃), kun klorofylli b:llä samassa kohdassa on aldehydi-ryhmä (-CHO). Porfyriinirengas toimii molekyylin valoa absorboivana osana (Campbell ym. 1999).



Kuva 1. Klorofyllin rakenne. Kuvassa on merkitty hiilet, joista näkee klorofylli a:n , b:n ja d:n erot. Klorofylli a:n ja b:n ero on ainoastaan yhdestä hiilestä lähtevä funktionaalinen ryhmä: klorofylli a:lla hiilestä lähtee metyyli ryhmä ja b:llä aldehydiryhmä. Lähde: Wikipedia 2007.

Kuten jo edellä mainittiin, eri pigmenttimolekyylit absorboivat auringonsäteilyä eri aallonpituuksilla. Absorptiospektristä nähdään pigmentin absorboiman säteilyn määrä tietyllä aallonpituudella (Campbell ym. 1999) (Kuva 2.). Fotosynteesissä tärkeässä roolissa olevien pigmenttien absorptiospektreistä saadaan selville mitkä valon aallonpituudet toimivat parhaiten sokerinvalmistusprosessissa (Campbell ym. 1999). Tämä voidaan selvittää myös vaikutusspektrin avulla, joka mittaa säteilyn eri aallonpituuksien vaikutusta organismin biologiseen toimintaan (Taiz & Zeiger 1998). Voidaan esimerkiksi verrata valon aallonpituuden suhdetta fotosynteesiaktiivisuuteen, jolloin saadaan selville fotosynteesissä parhaiten toimivat aallonpituudet.



Kuva 2. Klorofylli a:n ja b:n absorptiospektrit. Lähde: Wikipedia 2007.

3. UV-SÄTEILYN VAIKUTUKSET KASVEIHIN

Vasteet UV-säteilyyn ja vaikutusten suuruus vaihtelevat kasvilajeittain. Jotkin lajit ovat toisia selvästi herkempiä, kun taas toiset saattavat kestää hyvinkin suuria säteilymääriä (Tevini 1993a). Esimerkiksi monien viljelykasvien on todettu olevan herkkiä UV-säteilylle (Robberecht 1989). UV-B säteilyllä on kasveihin monenlaisia vaikutuksia, lähinnä kasvuun ja fysiologiaan liittyviä. Helpoimmin havaittavia muutoksia UV-B säteilylle altistuneella kasvulla ovat lehtien kellastuminen (Sullivan 2005) sekä lehtien käpristyminen (Jansen ym. 1998). Lehtien käpristyminen minimoi haitalliselle säteilylle altistuvaa lehtipinta-alaa (Jansen ym. 1998). Lisäksi mm. kasvin pituuskasvussa, kuiva- ja tuorepainossa, lehtipinta-alassa, kukkien lukumäärässä sekä fotosynteesiaktiivisuudessa on havaittu muutoksia (Tevini 1993a; Tegelberg ym. 2001; de la Rosa ym. 2003; Flint & Caldwell 2003a; Flint ym. 2003; Flint ym. 2004; Julkunen-Tiitto ym. 2005; Sullivan 2005). Kaikki edellä mainitut asiat voivat edelleen vaikuttaa kasvin ekologiseen kilpailukykyyn sekä herbivoriaan, ja siten koko ekosysteemiin (Tevini 1993a; Flint ym. 2003; Flint ym. 2004; Julkunen-Tiitto ym. 2005). Tulevaisuudessa lisääntyvä UV-B säteilyn määrä ei kuitenkaan tule suoranaisesti vaikuttamaan kasviekosysteemin primaarituotantoon, vaan sen lajisuhteisiin eri kasvien vaihtelevaan säteilyherkkyyteen perustuen (Robberecht 1989; Caldwell ym. 1998). Kasvilajisuhteiden muutokset vaikuttavat myös muihin trofiatasoihin.

UV-B säteily voi vaikuttaa myös kasvin ravintotalouteen (Caldwell ym. 1998). Ravinteiden otto ja niiden kertyminen kasvin eri osiin voivat muuttua UV-B altistuksessa. Toisaalta myös ravinteiden saatavuus voi vaikuttaa vasteiden ilmenemiseen. Ravinteiden puutteessa kasvit eivät ole niin herkkiä UV-B säteilyn haitallisille vaikutuksille (Tevini & Teramura 1989). Rauduskoivulla fenolisten yhdisteiden määrän huomattiin jopa olevan suurempi vähempiravinteisissa

kasvuolosuhteissa (de la Rosa ym. 2001). Lisäksi Lavolan ym. (1997) tutkimuksessa ravinteiden huono saatavuus ei vaikuttanut kasvien kykyyn akkumuloida fenolisia yhdisteitä eikä niiden kykyyn sopeutua UV-säteilyn määrän muutoksiin.

Luonnossa useat eri stressitekijät esiintyvät yleensä yhtä aikaa. UV-säteilyn suuri määrä yhdistettynä muihin kasvin elinkykyisyyteen vaikuttaviin ympäristötekijöihin, kuten ravinteiden tai veden saatavuuteen, voi johtaa vaikutuksiin, jotka eroavat pelkän UV-säteilyn aiheuttamista vaikutuksista (Robberecht 1989; Caldwell ym. 1998). Stressitekijät useimmiten aiheuttavat yhdessä joko pienemmän tai suuremman vasteen verrattuna niiden yksittäisiin vaikutuksiin, mutta myös vastakkainen vaikutus on mahdollinen (Phoenix ym. 2001). UV-B säteilyn vaikutuksia on tutkittu yhdistettynä mm. vesistressiin, lisääntyneeseen kosteuteen, lisääntyneeseen hiilidioksidipitoisuuteen sekä ravinteiden saatavuuteen (Caldwell ym. 1998; Phoenix ym. 2001).

UV-B säteilyn vaikutuksia tutkittaessa merkittävään asemaan nousevat pitkäaikaiset eli useamman kasvukauden ajan kestävät tutkimukset (Julkunen-Tiitto ym. 2005). Ne eivät ainoastaan parhaiten vastaa luonnonoloja, vaan myös huomioivat hitaasti kasvavien lajien, kuten puiden, akkumuloituvat vauriot. Lehtipuiden tapauksessa UV-B säteilyllä ei luultavasti tule olemaan suoranaista akuuttia vaikutusta kasvuun tai biomassaan, koska lehdet karisevat vuosittain, vaurioituneet mukaan luettuna. Merkittävintä on resurssien lisääntynyt kohdentaminen nimenomaan puolustautumiseen, mistä johtuen muutokset kasvussa tulevat ilmenemään vasta useiden vuosien päästä. Koska lehtipuilla UV-säteily pääsee tunkeutumaan lehden solurakenteisiin helpommin kuin havupuiden tapauksessa, on niiden todettu olevan herkempiä UV-B säteilyn pitkäaikaisille vaikutuksille.

3.1. UV-B säteilyn vaikutukset kasvuun

Pitkäaikaisen UV-B altistuksen usein havaittuja vaikutuksia ovat varren pituus- ja paksuuskasvun väheneminen (Tegelberg ym. 2001; Julkunen-Tiitto ym. 2005). Joillakin lajeilla on havaittu myös muutoksia oksien lukumäärässä. Esimerkiksi lännenambrapuulla (*Liquidambar styraciflua*) oksien määrä nousi lisääntyneen UV-B säteilyn vaikutuksesta (Sullivan ym. 1994). Syynä kasvun muutokseen on luultavasti säteilyn ja kasvua säätelevän kasvihormonin (IAA, indolietikkahappo) väliset vuorovaikutukset, mitkä saavat aikaan muutoksia solujen jakautumisessa ja pitenemisessä (Tevini 1993a; Caldwell ym. 1998). IAA hajoaa UV-säteilyn vaikutuksesta, mikä vähentää solujen kasvua (Tevini 1993a; Caldwell ym. 1998). Kasvien kasvun väheneminen vaikuttaa myös yksilön asemaan populaatiossa (Tevini 1993a). Varsikasvun väheneminen vaikuttaa aluksi kasvin kykyyn kilpailla valosta. Valon saannin vähetessä muiden vahvempien yksilöiden varjostaessa lyhyempiä kasveja, myös kasvin muut toiminnot heikkenevät ja lopulta vaikuttavat fotosynteesiin.

Varren paksuuskasvun vähenemistä on havaittu rauduskoivun (*Betula pendula*) taimilla pitkäaikaisen UV-B altistuksen tuloksena (Tegelberg ym. 2001). Hunt & McNeil (1999) mittasivat muiden vasteiden ohella *Nothofagus solandrin* (pyökkilaji) ja *Griselinia littoralis* (eteläisellä pallonpuoliskolla esiintyvä lehtipuulaji) taimien varren paksuutta yhden kasvukauden kestävässä kokeessa. Näillä lajeilla vaikutusta varren paksuuskasvuun ei havaittu, mutta toisaalta rauduskoivullakin vaikutus näkyi vasta kolmantena kasvukautena.

Pituuskasvun vähenemistä on havaittu useilla lajeilla havu- ja lehtipuista aina ruohokasveihin ja sammaliin asti. Sammalista esimerkiksi rahkasammalen pituuskasvu voi häiriintyä UV-B säteilyaltistuksessa (Ballare ym. 2001). Myös kanervalla (*Calluna vulgaris*), mustikalla (*Vaccinium myrtillus*), saniaisilla (mm. *Blechnum penna-maria*), soijapavulla (*Glycine max*) sekä tarhapavulla (*Phaseolus vulgaris*) pituuskasvu vähenee UV-B säteilyn vaikutuksesta (Sullivan & Teramura 1990; Björn ym. 1997; Saile-Mark & Tevini 1997; Ballare ym. 2001; Phoenix ym. 2001). Oleanterilla (*Nerium oleander*) pituuskasvun vähenemistä on tapahtunut säteilyaltistuksen ja veden puutteen yhteisvaikutuksesta (Björn ym. 1997). Juolukalla (*Vaccinium uliginosum*) ja puolukalla (*Vaccinium vitis-idaea*) UV-B ja lisääntynyt kosteus erillisinä tekijöinä vähensivät pituuskasvua, mutta yhdistettynä lisäsivät sitä (Phoenix ym. 2001). Pohjois-Amerikassa on tutkittu sikäläisten puulajien herkkyyttä UV-säteilylle, ja ainakin joillakin havupuulajeilla pituuskasvun vähenemistä on havaittu (Sullivan 2005).

Myös lehtipinta-alan vähenemistä (Björn ym. 1997; Saile-Mark & Tevini 1997; Ballare ym. 2001; de la Rosa ym. 2003) ja toisaalta lehtien paksuuntumista (Björn ym. 1997; Kostina ym. 2001; Phoenix ym. 2001; Julkunen-Tiitto ym. 2005) voi ilmetä UV-säteilylle altistetuilla kasveilla. Lehtien kokonaispinta-alan väheneminen liittyy usein lehtien lukumäärän muutoksiin. Esimerkiksi pensaskasvit *Phlomis fruticosa* L. (Björn ym. 1997) ja *Tetroncium magellanicum* (Ballare ym. 2001) vähensivät UV-B säteilyaltistuksessa lehtien tuotantoa, mikä johti lehtien kokonaispinta-alan pienenemiseen. Vuoristoissa tavattavalla pyökkilajilla *Nothofagus solandrilla* taas keskimääräinen lehtien koko suureni ja lehtien lukumäärä pieneni, mistä johtuen kokonaisala ei muuttunut (Hunt & McNeil 1999).

Lehtien tuotannon vähentäminen voi liittyä kasvin puolustautumiseen: lehtipinta-alan pieneneminen pitkittää UV-B:n pääsyä lehden solurakenteisiin (de la Rosa ym. 2003). Samoin lehtien paksuuntuminen vähentää solukkoon pääsevän säteilyn määrää (Julkunen-Tiitto ym. 2005). Joillakin runsaaseen säteilymäärään sopeutuneilla lajeilla lehtien pinta on karvainen tai vahapeitteinen (esim. *Argyroxiphium sandwicense* ja *Dudleya brittonii*) (Robberecht 1989). Puolustautumisella on kuitenkin myös kääntöpuolensa. Lehdessä tapahtuvat anatomiamuutokset vähentävät UV-B säteilyn pääsyä solurakenteisiin lähinnä lisäämällä lehden pinnan heijastuvuutta (Robberecht 1989). Tämä saa aikaan myös fotosynteesille merkittävän näkyvän valon heijastumista pois lehden pinnalta, mikä edelleen näkyy fotosynteesin ja kasvun vähenemisenä.

Joillakin lajeilla lisääntynyt UV-B säteily näkyy juurikasvun vähenemisenä tai juuri/verso -suhteen (puhutaan myös verso/juuri -suhteesta) muuttumisena (Ballare ym. 2001; de la Rosa ym. 2003; Julkunen-Tiitto ym. 2005). Juuri/verso -suhteen muuttuminen johtuu juurten lisääntyneestä kasvusta ja/tai versokasvun vähenemisestä. Lännenambrapuulla (*Liquidambar styraciflua*) juuri/verso -suhde nousi UV-B altistuksessa (Sullivan ym. 1994). Tammella (*Quercus robur*) taas juurten kuivapaino pieneni sekä UV-A että UV-B säteilyn vaikutuksesta, mutta juuri/verso -suhteeseen kummallakaan ei ollut vaikutusta (Newsham ym. 1999).

Globaalin ilmastonmuutoksen myötä atmosfäärin hiilidioksidipitoisuus nousee, mikä yhdessä UV-B säteilyn kanssa vaikuttaa eliöihin (Julkunen-Tiitto ym. 2005). Kasvien tapauksessa suurimmat vaikutukset näkyvät nimenomaan kasvussa (Julkunen-Tiitto ym. 2005). Yleisesti voidaan sanoa, että UV-B säteilyn ja hiilidioksidin vaikutukset kasvuun ovat vastakkaiset, eli säteily inhiboi kasvua ja hiilidioksidi indusoi sitä (Caldwell ym. 1998; Caldwell ym. 2003; Julkunen-Tiitto ym. 2005). Joillakin lajeilla hiilidioksidin myötä lisääntynyt kasvu ei häiriinny UV-B altistuksessa (Tevini 1993a). Toisaalta UV-B säteilyn aiheuttama kasvun inhiboituminen ei välttämättä ilmene niin vahvana kohonneessa hiilidioksidipitoisuudessa (Caldwell ym. 1998). Tästä johtuen esimerkiksi mustikan (*Vaccinium myrtillus*) ja kanervan (*Calluna vulgaris*) tapauksissa UV-B säteilyn ja kohonneen hiilidioksidipitoisuuden välillä ei havaittu vuorovaikutusta (Björn ym. 1997).

3.2. UV-B säteilyn vaikutukset fotosynteesiaktiivisuuteen

Fotosynteesiaktiivisuuden vähenemistä UV-B säteilyaltistuksen seurauksena on todettu useilla lajeilla (Tevini 1993a; Julkunen-Tiitto ym. 2005; Sullivan 2005). Muun muassa lännenambrapuulla (*Liquidambar styraciflua*) fotosynteesi mitattuna hapen tuotantona väheni ensimmäisenä kasvukautena (Sullivan ym. 1994), kun taas välimeren pensaskasveihin kuuluvalla *Cistus creticus*lla fotosynteesikapasiteetti ei muuttunut UV-altistuksessa (Stephanou & Manetas 1998). Soijapavulla (*Glycine max*) UV-B säteily vähentää fotosynteesiaktiivisuutta ja kasvua, mutta veden puutteessa vasteet eivät ilmene (Sullivan & Teramura 1990). Luultavasti vesistressi vähentää fotosynteesiaktiivisuutta ja kasvua niin merkittävästi, että UV-B säteilyn vaikutukset peittyvät.

Säteilyn vaikutus fotosynteesiaktiivisuuteen perustuu entsyymien, pigmenttien ja ilmarakojen toiminnan sekä aineenvaihduntareaktioiden häiriintymiseen (Tevini 1993a). Lisäksi lehtien typpipitoisuuden pieneneminen johtaa fotosynteesitoiminnan vähenemiseen (Hunt & McNeil 1999). UV-säteilyn on todettu häiritsevän myös suoraan fotosynteesikoneistoa inaktivoimalla fotosysteemi II:n toimintaa, hajottamalla fotosysteemi II:n ytimen muodostavat D1 ja D2 proteiinit, heikentämällä tylakoidimembraania, vähentämällä Rubiscon ja muiden fotosynteesitisten entsyymien aktiivisuutta, vähentämällä fotosynteesitisten pigmenttien määrää, häiritsemällä fotosynteesitisten geenien toimintaa sekä muuttamalla kloroplastien rakennetta (Saile-Mark & Tevini 1997; Jansen ym. 1998;

Sullivan 2005). Ilmarakojen toimintahäiriöt voivat johtaa lisääntyvään transpiraatioon ja sitä myötä vesistressiin kasvissa (Tevini 1993a). Muutokset lehden rakenteessa ja vahapinnassa ovat mahdollisia, mikä myös vaikuttaa kasvin vesitalouteen (Tevini 1993a).

Toisaalta fotosynteesiaktiivisuuden väheneminen voi liittyä myös hiilivarastojen kohdentamiseen UV-B säteilyltä suojaaviin prosesseihin (Sullivan ym. 1994; Laakso ym. 2000; Tegelberg ym. 2001). Näillä prosesseilla tarkoitetaan lähinnä kasvuun liittyviä UV-säteilyaltistuksessa havaittavia vasteita, mutta myös suojaavien pigmenttien lisääntymistä lehtien pintakerroksissa. Esimerkiksi lehtipinta-alan, lehtien keskimääräisen koon tai lehtien lukumäärän pienentämisestä saatava energia käytetään UV-säteilyltä suojautumiseen. Kasvit siis allokoivat hiiltä säteilyltä suojaaviin prosesseihin fotosynteettisen pinta-alan kustannuksella, mikä saattaa johtaa fotosynteesin vähenemiseen.

UV-B säteilyn vaikutukset fotosynteettisten pigmenttien määrään vaihtelevat lajeittain. Useimmissa tutkimuksissa lajeina on käytetty monivuotisia ja hitaasti kasvavia lajeja. Lisäksi vaikutukset pigmenttien määrässä tuntuvat ilmenevän suurelta osin käsittelyissä, joissa UV-säteilyyn on yhdistettynä joku toinen stressitekijä. Rauduskoivun (*B. pendula*) (Tegelberg ym. 2001), *Nothofagus solandrin* (pyökkilaji) (Hunt & McNeil 1999) ja *Griselinia littoralis* (eteläisellä pallonpuoliskolla esiintyvä lehtipuulaji) taimilla (Hunt & McNeil 1999) sekä *Cistus creticus*:lla (Välimeren alueen pensaskasvilaji) (Stephanou & Manetas 1998) ja kanervalla (*C. vulgaris*) (Björn ym. 1997) ei havaittu merkittäviä muutoksia niin klorofyllin kuin karotenoidienkaan määrässä UV-B säteilylle altistettaessa. Mustikalla (*V. myrtillus*) sekä klorofylli a:n ja b:n, että karotenoidien määrä väheni kasvin altistuessa samalla kohonneelle hiilidioksidipitoisuudelle (Björn ym. 1997). Karotenoidien suhde klorofylliin kasvoi UV-B säteilyn ja lisääntyneen kosteuden yhteiskäsittelyssä *Dittrichia viscosa*lla, kun taas *Phlomis fruticosalla* suhde kasvoi pelkälle UV-säteilylle altistettaessa (Björn ym. 1997). Lännenambrapuulla (*Liquidambar styraciflua*) klorofylli b:n pitoisuus väheni ensimmäisenä kasvukautena UV-B säteilylle alistettaessa (Sullivan ym. 1994).

UV-B säteilyn vaikutukset kasvissa ovat vahvasti riippuvaisia fotosynteettisesti aktiivisen säteilyn eli PAR:n määrästä. Vähäisen PAR:n ja lisääntyneen UV-säteilyn yhteisvaikutus voi olla kasville kohtalokas ja johtaa jopa kasvin kuolemiseen (Tevini 1993a). Lehvästön tiheydellä on suuri vaikutus PAR:n määrään ja siten kasvuston fotosynteesiaktiivisuuteen (Flint ym. 2003). Mitä tiheämpi kasvusto, sitä vähemmän fotosynteesin kannalta tärkeää säteilyä pääsee alemmille kasvustoille. Lehvästön tiheyden kasvaessa pienetkin muutokset PAR:n määrässä voivat olla hyvin merkittäviä fotosynteesiaktiivisuuden kannalta. Varjoisten kasvupaikkojen kasvit ovat luultavasti herkempiä UV-B säteilylle (Tevini 1993a). Toisaalta nämä kasvit ovat tottuneet vähäiseen valoon eivätkä altistu niin suurelle määrälle ultraviolettisäteilyä.

3.3. UV-B -säteilyn vaikutukset perintöainekseen

DNA absorboi UV-B säteilyä. Säteilyn absorptio saa aikaan DNA:n dimerisaatioreaktion, missä syntyy syklobutaanipyrimidiini dimeerejä (CPD) ja pyrimidiini-pyrimidinonidimeerejä (Jansen ym. 1998; Mazza ym. 1999). Näistä CPD:ien syntyminen on yleisin UV-säteilyn indusoima dimerisaatioreaktio (Björn & McKenzie 2002). Virheellisiä dimeerejä ei pystytä lukemaan, mikä johtaa koodauksen estymiseen.

Kasveilla on kyky korjata perintöaineksessa tapahtuneita virheitä, mikä on tärkeä ominaisuus lisääntyneeseen UV-B säteilymäärään sopeuduttaessa (Jansen ym. 1998). Joillakin lajeilla CPD:n korjauskapasiteetti on huono ja edes tehokkaat UV-säteilyä absorboivat yhdisteet kasvin lehden solukossa eivät estä UV-vaurioita (Ballare ym. 2001). Myös korjausprosessin reaktiot ovat valosta riippuvaisia. Prosessissa fotolyaasi-entsyymit, joilla on kyky sitoa ja hajottaa dimeerejä, peruuttavat virheellisten dimeerien syntymiseen johtavan reaktion ja korjaavat DNA:n (Tevini 1993a; Tevini 1993b; Jansen ym. 1998). Fotolyaasi-pitoisuuden nousua UV-B säteilyaltistuksessa on havaittu mm. pavuilla (Tevini 1993a). Korjausreaktiot tapahtuvat tehokkaimmin sinisen valon ja UV-A säteilyn (315–400 nm) aallonpituuksilla (Jansen ym. 1998).

DNA-vauriot voivat vaikuttaa kasvin kasvuun ja useiden geenien säätely on UV-B säteilystä riippuvaista (Caldwell ym. 1998). Esimerkiksi UV-B säteily aktivoi lehtien solukoissa olevien pigmenttien tuotannosta vastuussa olevat geenit ja pigmenttien pitoisuus kasvaa (Caldwell ym. 1998). Caldwell ym. (1998) tulkitsevat, että UV-B säteilyn aiheuttamat vasteet fotosynteesissä, kasvussa ja kasvien kehityksessä liittyvät kaikki geenien aktiivisuuden muutoksiin. Myös Mazzan ym. (1999) kauralla (*Hordeum vulgare*) tekemät kokeet indikoivat DNA-vaurioiden ja kasvussa tapahtuvien muutosten yhteyttä toisiinsa.

3.4. Suojapigmentit

Kasvit puolustautuvat UV-B säteilyä vastaan suojapigmenttien eli fenoleiden avulla, joiden pitoisuus kasvin lehtien pintakerroksessa kasvaa UV-B altistuksessa (Tevini 1993a; Tegelberg ym. 2001; Flint ym. 2003; Flint ym. 2004; Julkunen-Tiitto ym. 2005; Sullivan 2005). Lisäksi UV-B altistus yhdistettynä johonkin muuhun stressitekijään voi saada aikaan fenolisten yhdisteiden akkumuloitumisen. Esimerkiksi veden puutteessa elävillä soijapavuilla (*G. max*) säteilyä absorboivien pigmenttien määrä lisääntyi (Caldwell ym. 1998). Fenoliset yhdisteet voivat vähentää UV-B säteilyn pääsyä kasvisolurakenteisiin jopa usealla kymmenellä prosentilla, mutta vain tiettyyn rajaan asti (Robberecht 1989). Kun UV-B säteilyn määrä ylittää kynnyksarvon, ei kasvi enää pysty puolustautumaan säteilyn haitallisilta vaikutuksilta.

UV-säteilyä absorboivien aineiden suuret pitoisuudet kasvien lehdissä voivat vaikuttaa myös herbivoriaan (Tevini 1993a; Julkunen-Tiitto ym. 2005). Kasvinsyöjähyönteiset valitsevat tarkasti ravintokasvinsa ja tähän vaikuttavat mm.

ravinnon sisältämät kemialliset aineet (Julkunen-Tiitto ym. 2005). Jotkin herbivori-lajit kykenevät jopa tunnistamaan suosimansa kasvin flavonoidien perusteella (Julkunen-Tiitto ym. 2005).

4. KASVIEN FENOLISET YHDISTEET

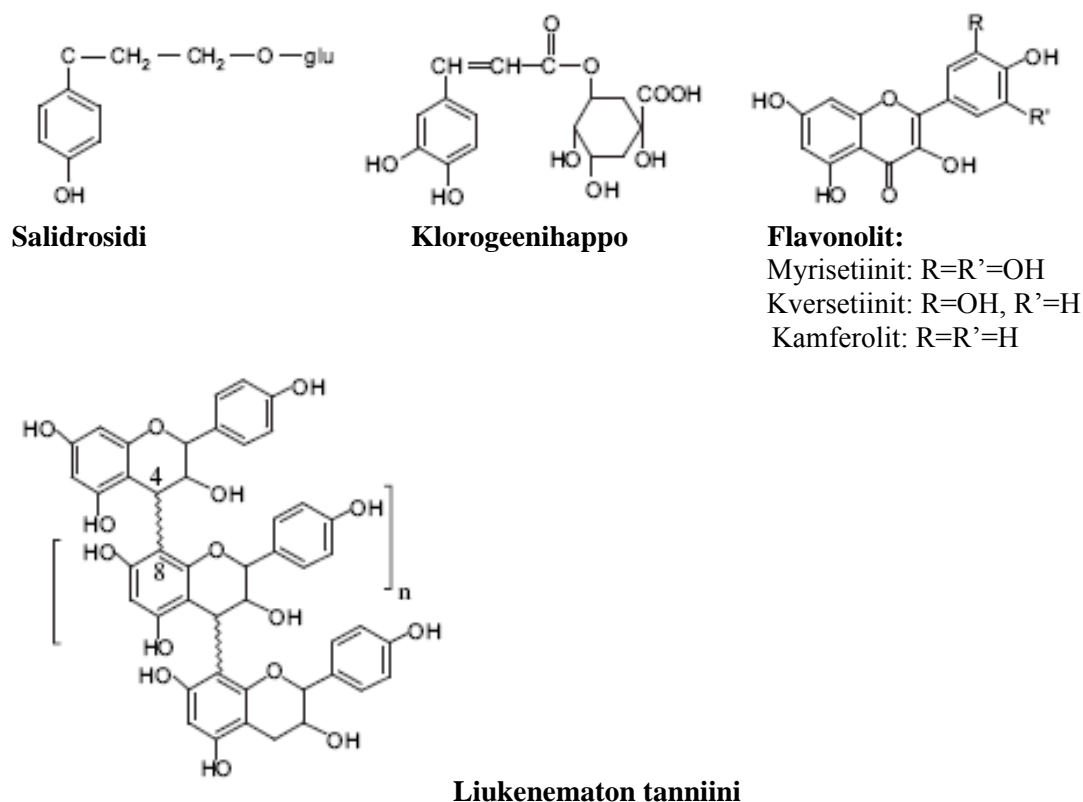
Fenolit ovat yhdisteitä, jotka sisältävät kemiallisessa rakenteessaan fenoliryhmän (Taiz & Zeiger 1998) (Kuva 3.). Fenoliryhmällä tarkoitetaan bentseenirengasta, johon on liittynyt hydroksyyli-ryhmä (-OH). Kemiallisesti fenoliset yhdisteet on hyvin laaja-alainen ryhmä. Siihen kuuluu niin vesiliukoisia kuin veteen liukenemattomiakin yhdisteitä. Kasvit tuottavat fenoliyhdisteitä metaboliensa sivutuotteena eli ne eivät ole tärkeitä kasvien primaarisen aineenvaihdunnan kannalta (Taiz & Zeiger 1998). Sen sijaan fenoleilla on muita tärkeitä rooleja, kuten esimerkiksi kasvin puolustautuminen herbivoreja sekä patogeenejä vastaan (Taiz & Zeiger 1998). Osa yhdisteistä osallistuu UV-säteilyn haittavaikutusten ehkäisemiseen.

Fenoleita muodostuu usean eri biokemiallisen reitin kautta, mutta kaksi yleisintä ovat sikimihappo- ja malonihappo -reitit (Taiz & Zeiger 1998). Näistä ensin mainittu on tärkeämpi kehittyneempien kasvien kannalta. Sikimihapporeitti on saanut nimensä suoraan välituotteen, eli sikimihapon mukaan. Siinä kasvien perusmetabolian tuloksena syntyvät yksinkertaiset prekursorit (esim. fosfoenolipyruvaattihappo glykolyysistä) muuntuvat useiden kemiallisten reaktioiden kautta aromaattisiksi aminohapoiksi. Kasveissa yleisimmin esiintyvien fenoliyhdisteiden prekursorina toimii fenyylialaniini. Reaktiossa fenyylialaniinista saadaan ensin kanelihappoa ammonium-ryhmän eliminaation tuloksena ja useiden vaiheiden kautta syntyy lopulta flavoneja, isoflavoneja, flavonoleja sekä tanniineja.

Flavonit, isoflavonit ja flavonolit kuuluvat flavonoideihin, joka on yksi suurimmista fenoliyhdisteryhmistä (Taiz & Zeiger 1998). Kasvien väripigmentit ja hedelmien ym. kasvituotteiden maku on peräisin flavonoideista (Loponen 1998). Flavonoidin kemiallinen perusrakenne sisältää kaksi bentseenirengasta, jotka yhdistyvät kolmesta hiilestä muodostuvalla hiilisillalla. Sekä sikimihappo- että malonihapporeittiä tarvitaan flavonoidien muodostumiseen: perusrakenteeseen kuuluva toinen bentseenirengas hiilivetyketjuineen saadaan fenyylialaniinista sikimihapporeitin kautta ja toinen bentseenirengas saadaan kolmen asetaattimolekyylin yhdistymisellä malonihapporeitillä. Flavonit ja flavonolit absorboivat UV-B säteilyä ja siten suojelevat kasvia säteilyn haitallisilta vaikutuksilta. Kasvissa yhdisteet kerääntyvät lähinnä lehtien epidermaalikerrokseen, mutta niitä on löydetty myös kukista. Useiden flavonien ja flavonolien määrän kasvissa onkin todistettu kasvavan UV-B säteilylle altistettaessa (esim. Rozema ym. 1997; Lavola 1998; Mazza ym. 2000).

Tanniinit ovat toinen suuri fenoliyhdisteryhmä. Kasvit tuottavat tanniineja puolustautuakseen herbivoreja vastaan (Taiz & Zeiger 1998). Ne vaikuttavat kasvin makuun ja ovat myös myrkyllisiä (Taiz & Zeiger 1998). Tanniinien merkitystä UV-

puolustautumisessa ei vielä ole kyetty todistamaan, mutta epäillään että niilläkin on siinä osansa. Tanniinit jaetaan kahteen ryhmään: liukenemattomiin ja liukeneviin (Taiz & Zeiger 1998). Liukenemattomat tanniinit eivät nimensä mukaisesti liukene veteen helposti. Kemiallisessa rakenteessaan ne sisältävät useita flavonoidiyksiköitä polymerisoituneena (Kuva 3.). Liukenevat tanniinit taas ovat molekyylikooltaan pienempänä laaja-alaisempi yhdisteryhmä ja sisältävät mm. fenoliyhdisteitä ja sokereita.



Kuva 3. Muutaman fenoliyhdisteen kemiallinen rakenne. Lähde: Julkunen-Tiitto ym. 2005.

Suojapigmenttien määrä kasvin solukossa vaihtelee lajeittain, populaatioittain ja jopa yksilöittäin (Lavola 1998; Julkunen-Tiitto ym. 2005). Myös kasvuympäristö voi vaikuttaa yhdisteiden määrään (Lavola 1998). Joillakin lajeilla fenolisia yhdisteitä on luonnostaan suuria määriä, mistä hyvä esimerkki on koivu (Lavola 1998). Koivu kestää UV-B säteilyä todella hyvin ja tämän on ehdotettu perustuvan juuri yksilöiden ja populaatioiden välisiin suuriin eroihin suojapigmenttien määrässä ja laadussa (Julkunen-Tiitto ym. 2005). Tästä johtuen laji myös sopeutuu helposti ympäristön säteily määrän muutoksiin.

5. VAIKUTUSSPEKTRI, BSWF JA RAF

Vaikutusspektri (engl. action spectrum) on käsitteenä hyvin vanha. Siitä puhuttiin jo 1800-luvulla, kun huomattiin kasvien kasvun riippuvan säteilyn

taajuudesta (Grossweiner 1989). Vaikutusspektri mittaa säteilyn eri aallonpituuksien vaikutusta organismin biologiseen toimintaan (Taiz & Zeiger 1998). Se saadaan mittaamalla tietyn biologisen vasteen ilmentymiseen tarvittava fotonien määrä säteilyn eri aallonpituuksissa (Grossweiner 1989). Vaikutusspektristä nähdään millä valon aallonpituudella on eliöön suurin vaikutus eli millä valon aallonpituudella tutkittu vaste ilmenee voimakkaimmin (Kohen ym. 1995). Lähes poikkeuksetta vasteet ilmenevät voimakkaimmin UV-säteilyn lyhyillä aallonpituuksilla, mistä johtuen useimmat vaikutusspektrit ovat alaspäin viettäviä kuvaajia (vasteet pienenevät aallonpituuden kasvaessa) (Kohen ym. 1995; Caldwell & Flint 1997).

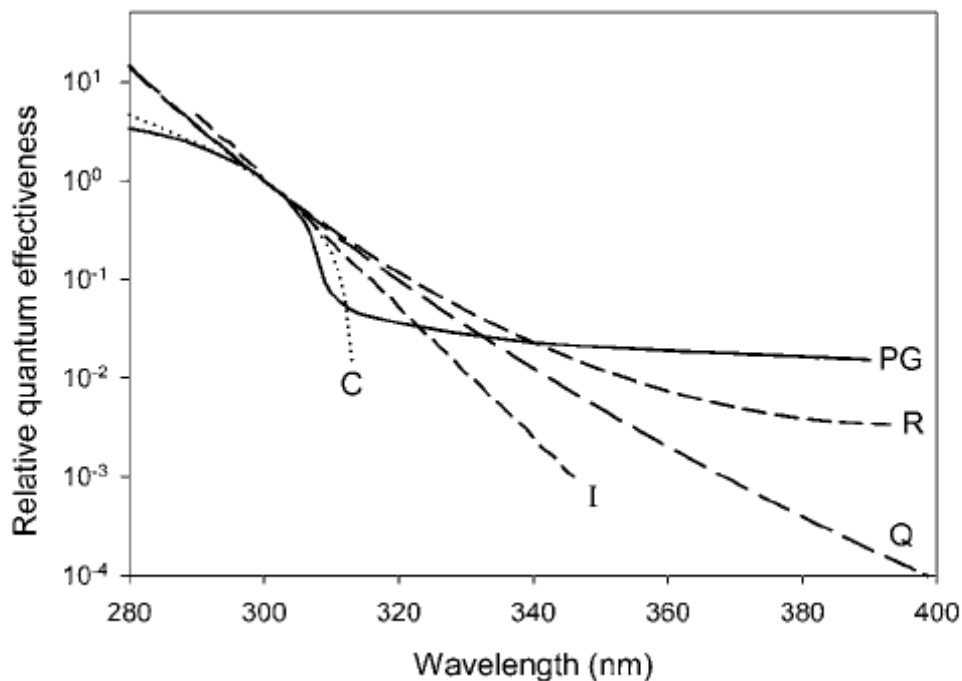
1700-luvun lopulla T.W. Engelmann laati ensimmäisen vaikutusspektrin käyttämällä apunaan prismaa, yhteyttäviä leväpopulaatioita ja happea tarvitsevia bakteereita (Taiz & Zeiger 1998). Prismalla hän hajotti auringonsäteilyn eri aallonpituuksiin. Säteilyn eri taajuudet vaikuttivat leväpopulaation fotosynteesiin eri tavalla: osa levistä tuotti enemmän happea, osa vähemmän. Koealtaaseen istutettu bakteerikanta hakeutui sinne missä happea muodostui ja näin saatiin selville klorofyllin absorboimien punaisen ja sinisen valon rooli fotosynteesin voimavarana. Engelmann oli myös ensimmäinen, joka ymmärsi UV-säteilyä absorboivien kasvin puolustautumiseen osallistuvien pigmenttien (fenoliset yhdisteet ym.) olemassaolon (Björn 2002b). Sitten vaikutusspektrejä on laadittu useita eri lajeille ja eri vasteille, ja niiden väliset erot voivat olla hyvinkin suuria (Caldwell & Flint 1997).

Vaikutusspektri yhdistetään BSWF-käsitteeseen (biological spectral weighting function), joka on biologinen painotuskerroin. BSWF kokoa eri vaikutusspektreistä saatavan tiedon siten, että sitä voidaan soveltaa tietyille lajeille, joissain tapauksissa jopa useammalle lajille. Kuten vaikutusspektrin tapauksessa, BSWF on vaikutusspektrin tapaan kuvaaja, jossa näkyy biologinen vaikutus aallonpituuden funktiona. Painotuskerrointa voidaan käyttää hyväksi otsonikadon simulointikokeissa, otsonikadon myötä lisääntyneen UV-B säteilyn määrän laskemisessa sekä hetkellisten UV-B säteilytason muutosten arvioinnissa eri leveysasteilla (Caldwell & Flint 1997). BSWF:n avulla voidaan myös arvioida säteilyaltistus kokeissa, joissa osa auringon UV-säteilystä suodatetaan pois muovikalvojen avulla (Caldwell & Flint 1997). Otsonikadon simulointikokeissa jäljitellään tietynsuuruista otsonikatoa ja altistetaan kasvit sen aiheuttamalle lisämäärälle UV-B säteilyä. Altistaminen suoritetaan lamppujen avulla, joiden spektri ei kuitenkaan täysin vastaa luonnonvaloa (Tevini 1993a; Flint ym. 2003). BSWF-parametrejä tarvitaan lamppujen säteilyintensiteetin säätämässä oikealle tasolle, vastaamaan haluttua otsonikatoa ja sen aiheuttamaa biologisesti vaikuttavan säteilyn määrän lisääntymistä (Flint ym. 2003).

Yhtä kaikenkattavaa BSWF-parametriä ei vielä ole kehitetty (Kohen ym. 1995), eikä luultavasti koskaan tulla kehittämäänkaan johtuen mm. eliölajien välisistä eroista. On yksinkertaisesti mahdoton tehtävä kehittää yhtä ainoaa BSWF:a, joka sopisi kaikille lajeille ja samalla tuottaisi luotettavia tuloksia.

Yleisimmin käytetty BSWF on Caldwellin 1970-luvun alussa kehittämä kasvien yleinen vaste (GPR, generalized plant response) (Flint & Caldwell 2003a; Flint ym. 2003) (Kuva 4.). GPR on koottu useiden vaikutusspektrien pohjalta, joissa on tutkittu yhteensä yhdeksää eri vastetta. Sen mukaan 313 nm suuremman aallonpituuden omaavalla säteilyllä ei ole biologista merkitystä (Flint & Caldwell 2003a; Flint ym. 2003). Tämän BSWF:n huonoja puolia ovat käytettyjen vasteiden kapea-alaisuus sekä pelkän UV-B säteilyn huomioiminen (Flint & Caldwell 2003a; Flint ym. 2003). Yksikään parametrin kokoamiseen käytettyjen vaikutusspektrien vasteista ei ole kasvuun liittyvä, mikä vähentää sen luotettavuutta ainakin ennustettaessa otsonikadon vaikutuksia kasvien kasvuun. Melkein tähän päivään asti UV-säteilykokeissa on huomioitu ainoastaan UV-B säteily ja sen vaikutukset. Nyttemmin myös UV-A säteilyn vaikutuksia on ryhdytty tutkimaan ja ymmärretty, että myös UV-A säteilyn vaikutukset on huomioitava vaikutusspektrejä laadittaessa.

Flint ja Caldwell (2003a) kehittivät kokonaan uuden BSWF:n, jossa vasteena oli peltokauran (*Avena sativa*) kasvu, ja jossa huomioitiin myös UV-A aallonpituusalue (Kuva 4.). Uuden 'plant growth response' BSWF:n toimivuutta kasvun ennustamisessa testattiin ja verrattiin muihin jo julkaistuihin BSWF:ihin peltokauralla ja *Brassica rapa*lla (Flint & Caldwell 2003b). Testatuista painotuskertoimista 'plant growth response' ennusti UV-säteilyn vaikutukset kasvuun parhaiten. Lisäksi fotosynteesin inhiboitumista kuvaava BSWF ennusti kasvua melko hyvin, mutta ainoastaan ensimmäisenä kasvuvuotena.



Kuva 4. Muutamia julkaistuja BSWF-kuvaajia. C = Caldwellin 'generalized plant response', I = Ibdahin ym. laatima käyrä flavonolien akkumuloitumiselle, Q = Quaiten ym. laatima käyrä DNA vaurioille, R = lehtien fotosynteesin inhibitio *Rumex patientialla*, PG = Flintin ja Caldwellin 'plant growth response'. Lähde: Flint ym. 2004.

Flint ym. (2004) testasivat viiden julkaistun BSWF:n toimivuutta ennustettaessa fenolisten yhdisteiden pitoisuuden muutoksia UV-säteilyaltistuksessa. Kokeessa testattiin yleisen kasvivasteen (generalized plant response) ja uuden kasvien kasvuvasteen (plant growth response) lisäksi painotuskertoimia, joissa vasteina olivat flavonolien lisääntyminen, lehdissä tapahtuvan fotosynteesin inhiboiminen ja DNA vauriot. Näistä kaikki, yleistä kasvivastetta lukuunottamatta, ulottuvat UV-A säteilyn aallonpituusalueelle. UV-säteilyä absorboivien pigmenttien pitoisuuden muutoksia ennustivat parhaiten flavonolien lisääntymisen ja DNA vaurioiden painotuskertoimet, jotka olivat kaikkien testattujen parametrien välimuotoja. Yleisesti pigmenttien määrän muutosten ennustamisessa parhaiten toimivat spektrit, joissa aallonpituusalue ulottuu UV-A alueelle (Flint ym. 2004).

BSWF-parametrejä on kehitetty useille eri kasvilajeille ja vasteille, ja spektrit voivat erota toisistaan huomattavasti. Kun painotuskerrointa käytetään lamppujen säätämiseen oikealle tasolle otsonikadon simulointikokeissa, on mietittävä tapauskohtaisesti mikä julkaistusta BSWF:sta sopii parhaiten. On otettava huomioon mitä vasteita kokeessa tullaan tutkimaan, sillä esimerkiksi Flintin ja Caldwellin 'plant growth response' sopii kasvun ennustamiseen, kun taas

esimerkiksi flavonolien lisääntymisen BSWF toimii hyvin fenolisten yhdisteiden pitoisuuksien ennustamisessa (Flint ym. 2004). Flavonolien lisääntymisen BSWF:n mukaan laskettuna säteilyn intensiteetin on oltava korkeampi kuin esimerkiksi 'plant growth response' -parametrin tapauksessa (Flint ym. 2004). Usein yksi ainoa painotuserroin ei vastaa juuri sitä koetta, jota ollaan tekemässä ja monessa artikkelissa suositellaankin käyttämään useampia eri painotuskertoimia (esim. Flint & Caldwell 2003b; Flint ym. 2004).

RAF-arvo (radiation amplification factor) kertoo otsonikadon myötä lisääntyneen biologisesti merkittävän säteilyn määrän (Blumthaler 1993; Kohen ym. 1995). Se on otsonikadon ja sen myötä lisääntyneen biologisesti merkittävän UV-säteilyn suhde ja saadaan BSWF:n avulla (Blumthaler 1993; Kohen ym. 1995; Caldwell & Flint 1997). Se kertoo kuinka paljon säteilyn määrä prosentteina tulee lisääntymään, kun otsonikerros ohenee yhdellä prosentilla (Blumthaler 1993). Esimerkiksi jos RAF:n arvo on 10 aallonpituudella 300 nm, kyseisen aallonpituuden omaava säteily tulee lisääntymään 10 % otsonikerroksen ohentuessa 1 %:lla (Blumthaler 1993). Useimmiten RAF-arvot vaihtelevat välillä 1-2,5 (Kohen ym. 1995). RAF voidaan määrittää joko tietylle säteilylle, esim. UV-B säteilylle, tai laajemmalle spektrin aallonpituusalueelle (Blumthaler 1993). Mitä jyrkemmin BSWF-kuvaaja laskee suurenevan aallonpituuden funktiona, sen suurempi on RAF-arvo eli sitä enemmän biologisesti merkittävä säteily tulee lisääntymään otsonikadon myötä (Caldwell & Flint 1997).

6. AINEISTO JA MENETELMÄT

6.1. Taimet ja niiden istutus

Kokeessa käytettiin rauduskoivun taimia (*Betula pendula*) ja ne olivat peräisin Suonenjoen metsäntutkimuslaitokselta (Metla). Taimet olivat istutettaessa 1–3 cm pituisia ja ne istutettiin 262 ml:n muovisiin ruukkuihin (halkaisija 5 cm, Deepot 16, Stuewe & sons, Corvallis, Oregon). Ruukun pohjalle laitettiin kevytsoraa (pakkaaja Kekkilä Oyj, Parkano) ja ruukku täytettiin maaseoksella, joka koostui turpeesta, maasta ja hiekasta suhteessa 6:3:1. Turve oli kalkitsematonta ja lannoittamatonta luonnonturvetta (valmistaja Kekkilä Oyj, Parkano). Hiekka saatiin rakennusyrytykseltä ja maa haettiin Kuohulta (Jyväskylän maalaiskunta, noin 16 km Jyväskylästä) alueelta, missä kasvoi koivua ja leppää. Hiekasta poistettiin suurimmat kivet, ja turve ja maa siivilöitiin ennen sekoittamista, jotta maaseoksesta saatiin homogeenistä.

6.2. Kalvot

Säteily poistettiin muovikalvojen avulla. Kokeessa käytettiin kolmea erilaista kalvoa: kontrolli (polyeteeni, 04 PE-LD, 300 x 0,05mm, Etola), polyesteri (Autostat C T 5, Autotype International Limited, Wantage England, Thermoplast Oy) ja Rosco (European colour system, E+ # 226, West lighting Oy). Tässä työssä kalvoista käytetään lyhenteitä niiden englanninkielisen nimen ensimmäisen

kirjaimen mukaan eli kontrollista käytetään lyhennettä C, polyesteristä P ja Roscosta R. Kontrollikalvo päästää UV-säteilyä lävitseen kaikilla aallonpituuksilla, kun taas polyesteri suodattaa pois UV-B säteilyn (aallonpituus 280–315 nm) ja Rosco sekä UV-B että UV-A säteilyn (UV-A aallonpituus 315–400 nm).

Kokeessa oli kuusi eri käsittelyä, jotka saatiin yhdistelemällä kalvoja. Kaikkiin käsittelyihin kalvot leikattiin samalla tavalla teippaamalla aluskalvon päälle 1,5 cm:n leveitä liuskoja 1,5 cm:n välein (Kuva 5.). Käsittelyt olivat kontrolli (CC), polyesteri (PP), Rosco (RR), kontrolli-polyesteri (CP), kontrolli-Rosco (CR) ja polyesteri-Rosco (PR). Esimerkiksi CC:n tapauksessa sekä aluskalvo että siihen teipatut liuskat ovat kontrollikalvoa, kun taas CP-käsittelyssä aluskalvo on kontrollia ja liuskat polyesteriä. Täten kahta eri kalvoa yhdistelemällä saadaan 50 %:n altistus tietylle UV-säteilyn aallonpituudelle. Käsittelyt ja altistus eri käsittelyissä on esitetty taulukossa 1.



Kuva 5. Esimerkki UV-säteilyn poistamiskokeessa käytetyistä kalvoista. Kalvokehys oli kooltaan 100x80 cm ja koekasveina käytettiin rauduskoivun taimia (*B. pendula*).

Taulukko 1. UV-säteilyn poistamiskokeessa käytetyt kalvohdistelmät, niiden lyhenteet ja läpi pääsevän säteilyn määrä. Prosenttiluvut ovat suhteellisia arvoja ja 100 % vastaa 80–90% auringosta pääsevän säteilyn määrää.

Kalvo	Lyhenne	Läpi pääsevän säteilyn määrä
Kontrolli	CC	100 % UV-A, 100 % UV-B
Kontrolli-Polyesteri	CP	100 % UV-A, 50 % UV-B
Kontrolli-Rosco	CR	50 % UV-A, 50 % UV-B
Polyesteri	PP	100 % UV-A, 0 % UV-B
Polyesteri-Rosco	PR	50 % UV-A, 0 % UV-B
Rosco	RR	0 % UV-A, 0 % UV-B

6.3. Koealan pystytys

Koeala perustettiin Jyväskylän yliopiston kiinteistölle. Alueelle pystytettiin 30 puukehikkoa, jotka muodostuivat neljästä maahan upotetusta puukepistä ja niihin narulla kiinnitetystä kalvokehiksestä. Kehikot olivat kooltaan 100x80 cm ja yksi puukehikko edusti yhtä koeruutua. Koeala jaettiin viiteen blokkiin siten, että yksi blokki sisälsi kuusi koeruutua, yhden jokaista kuutta käsittelyä varten. Toistoja kokeessa oli viisi. Käsittelyt satunnaistettiin eri koeruutuihin. Puukehikot pystytettiin eteläsuuntaisesti, jotta vuorokauden voimakkain UV-säteily osuisi kasveihin suoraan ja yhtäaikaaisesti kaikkiin koeruutuihin. Koeruutujen etäisyys toisistaan oli noin metrin.

Ruukut taimineen aseteltiin puukehikoiden alle telineisiin. Yhteen telineeseen mahtui 25 ruukkuja ja yhteen koeruutuun laitettiin kaksi telinettä. Jokaiseen koeruutuun laitettiin yhteensä 43 taimia, eli kahdesta telineestä jäi tyhjäksi yhteensä 7 paikkaa (Kuva 6.). Kasvit aseteltiin jokaisen koeruudun tapauksessa telineisiin samalla tavalla. Viiteen koeruutuun ruukkuja riitti ainoastaan 42 taimelle. Koko koealalla taimia oli yhteensä 1285 kappaletta.

	<u>X</u>	X	X	X	X	X	X	X	
X	X	1	2	3	8	9	10	11	X
	X	M	M	4	7	M	M	13	
X	12	M	M	5	6	M	M	X	X
	X	X	X	X	X	X	X		

Kuva 6. Rauduskoivun taimien asetteleminen telineisiin koeruuduissa. X tarkoittaa reunataimia, M mittataimia ja X paikkaa, joka jätettiin tyhjäksi viidessä 42 taimen koeruudussa. Numeroidut taimet ovat fenolinäytteiden keräämiseen käytetyt taimet.

Kalvokehukset aseteltiin taimien yläpuolelle noin 20 asteen kulmaan ja 10–15 cm:n korkeudelle korkeimman kasvin kärjestä. Kalvojen etäisyys taimiin pidettiin samana koko kokeen ajan. Puukehikot pystytettiin ja ruukut täytettiin kevytsoralla ja maaseoksella 26.-27.6.2006. Lopulta koeala ympäröitiin kanaverkolla.

Ajan myötä kalvot kuluvat ja niiden läpi pääsevän UV-säteilyn määrä muuttuu. Tästä johtuen varsinaisten koeruutujen lisäksi pystytettiin kaksi puukehikkoa kalvojen testausta varten. Testikoeruutujen avulla selvitettiin tarvitseeko kalvoja vaihtaa kokeen aikana.

Koealan toisella reunustalla sijaitsevan rakennuksen vaikutusta kokeen tuloksiin testattiin (mm. fenolien määrään ja fenolilehtien kuivapainoon), mutta tilastollisesti merkitsevää vaikutusta ei havaittu.

6.4. Kokeen aikana suoritettut toimet

Kasvien pituuskasvua seurattiin kesän ajan. Kasvumittauksia varten yhtä koeruutua kohden valittiin kahdeksan yksilöä. Jokaisessa koeruudussa mitattavat taimet valittiin samalta kohdalta. Kasvumittaus tehtiin kaksi kertaa viikossa ja kasvista mitattiin päävarren pituus. Pituus mitattiin mullan pinnalta kärkisilmun alareunaan asti. Kasvumittauksia tehtäessä pidettiin samalla kirjaa kasvien yleiskunnosta. Kaikki normaalista poikkeavat havainnot, kuten värimuutokset lehdissä kirjattiin ylös. Ensimmäinen pituuskasvun mittaus tehtiin 29.6.2006 ja viimeinen 7.8.2006.

Taimia lannoitettiin kaksi kertaa viikossa veteen liuotettavalla Superex-lannoitteella (Superex 6, Kekkilä yhtiöt, Eurajoki, Suomi). Lannoite sisälsi typpeä (223 g kg^{-1}), fosforia (40 g kg^{-1}), kaliumia (186 g kg^{-1}), magnesiumia (2 g kg^{-1}), rikkiä (3 g kg^{-1}), mangaania (970 mg kg^{-1}), rautaa (1800 mg kg^{-1}), booria (270 mg kg^{-1}), sinkkiä (230 mg kg^{-1}), kuparia (140 mg kg^{-1}), molybdeeniä (20 mg kg^{-1}) ja kobolttia (10 mg kg^{-1}). Lannoitetta annettiin jokaiselle taimelle 15 ml. Sen määrän laskemisessa otettiin huomioon mm. taimen arvioitu kasvunopeus (engl. estimated relative growth rate, RGR) ja lannoituskertojen väliin jäävät päivät. Tässä kokeessa arvioitu kasvunopeus oli 1,15 eli 15% päivässä. Kasvuennusteen paikkansapitävyys tarkistettiin kokeen alussa. Lannoittamisen lisäksi taimia kasteltiin aina tarpeen mukaan.

Kokeen käynnistymisestä noin viikon ajan kuolleet taimet vaihdettiin uusiin. Mittataimet vaihdettiin lähimpiin reunakasveihin (näin taimi oli alusta asti altistunut käsittelylle ja minimoitiin kasvin vaihdosta syntyvä mahdollinen virhe lopullisissa tuloksissa) ja reunakasvien tilalle otettiin kokonaan uudet taimet. Mittataimia vaihdettiin ainoastaan kaksi ja reunakasveja yhteensä 35 kappaletta.

Kalvojen kunto testattiin kesä-heinäkuun vaihteessa leikkaamalla testikoeruutujen kalvoista pienet palat. Kalvojen läpi pääsevän UV-säteilyn määrä mitattiin spektrofotometrillä (Shimadzu, UV-visible recording spectrophotometer UV-240, Graphicord). Kalvojen kunnossa ei ollut tapahtunut merkittäviä muutoksia, joten kalvoja ei vaihdettu.

6.5. Näytteiden kerääminen ja kokeen lopetus

Viimeiset pituuskasvun mittaukset mittataimista suoritettiin 7.8., jolloin kasveista laskettiin myös silmujen määrä. Silmuiksi laskettiin kaikki päärangasta lähtevät lehdet, sekä yksittäiset että ryhmässä olevat. Myös oksien lukumäärä laskettiin, mutta yhdessäkään taimessa ei vielä tässä vaiheessa ollut selviä oksia. Näytteet kerättiin 8.-11.8.2006, blokki kerrallaan.

Fenolianalyysejä varten jokaisesta ruudusta valittiin kymmenen taimea mittataimien ympäriltä. Näytekasvit valittiin jokaisessa ruudussa samasta kohdasta ja numeroitiin numeroilla 1–10 (Kuva 6.). Osa näytetäimistä oli liian huonokuntoisia (esim. lyhytkasvuisia tai jopa kuolleita) näytteenottoon, joten ne korvattiin lähimmällä reunataimella. Korvaavat reunataimet valittiin jokaisessa ruudussa samasta kohdasta symmetrisesti ja numeroitiin juoksevasti sen mukaan, miten niitä ilmeni. Tässä kokeessa näytetäimiä oli korvattava ainoastaan kolmessa tapauksessa. Korvaamiseen käytetyt reunataimet numeroitiin numeroilla 11–13 (Kuva 6.). Ennen fenolilehtien keräämistä, näytetäimien pituus mitattiin.

Fenolilehdeksi valittiin lähimpänä kärkeä oleva täysikasvuinen lehti. Jokaisesta näytteiden keräämiseen valitusta taimesta otettiin yksi lehti. Näin ollen yhdestä koeruudusta tuli yhteensä kymmenen lehteä. Lehtiruoti leikattiin irti ja lehdet ja ruodit kuivattiin lämpökaapissa 30 °C:een lämpötilassa viiden vuorokauden ajan, jonka jälkeen niiden kuivapaino mitattiin. Lopullisia analyysejä varten kuivatut lehdet säilöttiin pakastimessa (-20 °C).

Näytteet klorofyllianalyysejä varten otettiin samoista kymmenestä taimesta, joista fenolinäytteetkin kerättiin. Lehtiä otettiin kaksi yhtä taimea kohti, varren ylä- ja alaosasta. Ylemmäksi lehdeksi valittiin fenolien analysointiin otetun lehden alapuolinen lehti. Varren alaosasta taas otettiin kasvin vanhin, mutta suhteellisen normaalikokoinen lehti. Jokaisesta lehdestä leikattiin kiekko (halkaisija 0,55 cm ja pinta-ala 0,24 cm²) tavallisella paperireijittäjällä ja mitattiin kiekkojen kokonaistuorepaino (10 kiekkoa/näyte). Toisin sanoen jokainen klorofyllinäyte koostui kymmenestä lehdestä leikatuista lehtikieloista. Leikatut lehdet laitettiin takaisin paperipusseihin ja kuivattiin kuivapainon punnitsemista varten. Kuivausolosuhteet olivat samat kuin fenolilehtien tapauksessa (30 °C, 5 vrk). Lehdistä leikattiin myös lehtiruodit, joista mitattiin kuivapaino. Lehtikielot laitettiin 25 ml:n tuikepulloihin, joihin lisättiin 12 ml dimetyyliformamidia (DMF). Tuikepullot peitettiin foliolla valon aiheuttamien hajoamisreaktioiden estämiseksi ja laitettiin ravistelijaan 11 päiväksi. Tuikepulloja pidettiin lisäksi kylmähuoneessa (4 °C) ravistelun ajan.

Kun näytteet fenoli- ja klorofyllianalyyseihin oli kerätty, mitattiin näytetäimien pituus vielä kertaalleen ja kerättiin ne kokonaisina paperipusseihin (vko 33). Ruukku multineen laitettiin muovipussiin ja pakastimeen juuribiomassan määrittystä varten. Laboratoriossa kasveista leikattiin lehdet irti, ja mitattiin tuore- ja kuivapaino varrelle ja lehdille erikseen. Kuivausolosuhteet olivat samat kuin fenoli- ja klorofyllilehtien tapauksessa (30 °C, 5 vrk). Lehdet leikattiin irti siten, että

lehtiruodit jäivät varteen kiinni. Näytetaimien viimeisen pituuskasvumittauksen yhteydessä tarkistettiin taimien yleiskunto ja kirjattiin ylös kaikki normaalista poikkeava.

Varsinaisten näytteiden lisäksi muutamasta koeruudusta otettiin testinäytteitä analyysiharjoitusta varten. Testinäytteet otettiin reunataimista. Lehtiä otettiin sekä klorofylli- että fenolianalyyseihin. Klorofyllin analysointiin näytteitä kerättiin yhteensä kymmenestä ruudusta, kahdesta ruudusta blokkia kohden. Näytteistä leikattiin lehtikiekot kuten normaalinäytteiden tapauksessa ja mitattiin kiekkojen tuorepaino. Osalle kiekkoista tehtiin DMF-käsittely ja osa laitettiin lämpökaappiin kiekkojen kuivapainon määrittystä varten. Kuivapainoa tarvittiin varsinaisten näytteiden lopullisessa klorofyllimäärän laskemisessa. Kuivapaino mitattiin myös leikatuista lehdistä ja lehtiruodeista. Fenolinäytteiden tapauksessa testilehtiä kerättiin yhteensä kymmenen kappaletta, kaksi lehteä blokkia kohden.

Kaikki tuore- ja kuivapainojen punnitukset tehtiin analyysivaa'alla (AG 204, Mettler Toledo).

6.6. Näytteiden analysointi

6.6.1. Klorofylli

Klorofyllin määrä lehtinäytteissä analysoitiin spektrofotometrillä (Shimadzu, UV-visible recording spectrophotometer UV-240, Graphicord) mittaamalla absorbanssi aallonpituuksilla 750, 663,8 sekä 646,8 nm. Klorofylli a absorboi valoa enemmän aallonpituudella 663,8 ja vastaavasti klorofylli b aallonpituudella 646,8. Aallonpituutta 750 nm käytettiin referenssinä ja varmistamaan näytteiden puhtaus.

6.6.2. Fenoliuutot

Näytteet otettiin pakastimesta prosessointia edeltävänä päivänä ja laitettiin sulamaan eksikaattoriin. Uuttoprosessi aloitettiin leikkaamalla lehtinäytteistä samankokoiset palat samasta paikasta. Palanen leikattiin lehtisuonien välistä. Samasta koeruudusta kerätyt kymmenen näytettä yhdistettiin yhdeksi kokoomänäytteeksi silppuamalla ne ensin paperiveitsen avulla pienemmäksi, ja lopulta hienontamalla lehtisilppu jauhemaiseksi huumareessa. Näytettä punnittiin muoviputkiin 20 mg.

Punnituksen jälkeen muoviputkiin lisättiin 1 ml metanolia (HPLC grade). Näyte homogenoitiin turrexilla (Janke & Kunkel, IKA-Labortechnik Ultra-Turrax T 25) 45 sekunnin ajan. Jokaisen näytteen välissä turrexissa käytettiin pesuputkea, jossa oli 0,5 ml metanolia, sekä huuhdeltiin laite tislattulla vedellä ja lopuksi vielä metanolilla. Näyteputki laitettiin jäähauteeseen 15:ksi minuutiksi, jonka jälkeen saos erotettiin liuksesta sentrifugoimalla 2 minuutin ajan (Sanyo, Harrier 18/80). Kierroksia sentrifuugissa oli 3000 rcf ja lämpötila 4 °C. Fuugauksen jälkeen neste siirrettiin muovipipetillä toiseen putkeen ja sakalle toistettiin edellä kuvattu metanoliuutto yhteensä viisi kertaa (metanolin lisäys, homogenointi sekä fuugaus).

Viimeisen fuugauksen jälkeen sekä fuugatun putken neste että nesteet homogoinnissa käytetyistä pesuputkista yhdistettiin samaan muoviputkeen ja fuugaus suoritettiin vielä kerran. Tästä saatu liuos siirrettiin kimax-putkeen. Muoviputkiin jäänyt sakka otettiin talteen tasapohjaiseen muoviputkeen huuhtelemalla sitä pienellä määrällä metanolia. Myös muissa vaiheissa syntyneet sakat otettiin talteen: saman näytteen sakat yhdistettiin samaan putkeen. Sakkaputket jätettiin kuivumaan vetokaappiin yön yli, jonka jälkeen ne siirrettiin pakastimeen (-20 °C). Kimax-putkista neste haihdutettiin typpivirtauksen avulla. Nesteen haihduttua putkiin lisättiin 2 ml metanolia ja käytettiin ultraäänihauhteessa noin 20 sekunnin ajan (Branson 5210). Nestettä pipetoitiin koeputkiin kaksi 0,5 ml:n erää ja yksi 0,8 ml:n erä. Typpivirtahaihdutus suoritettiin myös pienille koeputkille, jonka jälkeen putket suljettiin korkilla ja parafilmillä ja laitettiin pakastimeen.

6.6.3. Liukenevat ja liukenemattomat tanniinit

Liukenevat tanniinit analysoitiin fenoliuutoista saaduista 0,8 ml:n näytteistä ja liukenemattomat tanniinit määritettiin fenoliuutoista saaduista sakkanäytteistä. Sakan määrä punnittiin mikrova'alla, jonka jälkeen sakka murskattiin huumareissa pienemmäksi. Sakkaa punnittiin kolme 1-1,5 mg:n erää/näyte ja laitettiin kimax-putkiin. Menetelmänä käytettiin Hagermanin (1995) kehittämää butanoli-HCl testiä. Näytteistä mitattiin absorbanssi spektrofotometrillä (Shimadzu, UV-visible recording spectrophotometer UV-240, Graphicord) aallonpituudella 550 nm. Standardiliuos mittauksia varten tehtiin koetaimista kerätyistä lehtinäytteistä.

6.6.4. Muut fenolihdisteet

Fenolihdisteet analysoitiin nestekromatografilla (HPLC, high performance liquid chromatography) Joensuun yliopistossa (laite: HPLC Agilent 1100 Series, detektorina DAD eli diode array detector). Yhdisteet analysoitiin aallonpituuksilla 220, 270, 320 ja 360 nm. Analyysit tehtiin fenoliuutoista saaduista 0,5 ml:n näytteistä. Näytteisiin lisättiin 300 µl metanolia ja 300 µl tislattua vettä. Analyysissä käytetty ajoliuos sisälsi 5 ml ortofosforihappoa, 30 ml tetrahydrofuraania ja 165 ml tislattua vettä. Laitteeseen syötetty näytemäärä oli 10 µl.

6.7. Tilastomenetelmät

Kaikki kokeesta saatu data taulukoitiin Microsoft Office Excel 2003 -ohjelmalla ja tulosten tilastollinen käsittely tehtiin R-ohjelmalla (versio 2.4.1). Kaikkien käsittelyjen kokonaisvaikutus mitattavaan biologiseen vasteeseen testattiin varianssianalyysillä (ANOVA). Tilastollisen merkitsevyyden rajan alittuessa testattiin vielä UV-A ja UV-B säteilyn vaikutus erikseen. UV-A säteilyn vaikutusta tutkittaessa analyysiin otettiin käsittelyt PP, PR ja RR, joissa UV-B:n määrä oli 0% ja UV-A:n määrä 100, 50 ja 0%. UV-B säteilyn vaikutusta testattaessa vertailtiin käsittelyjä CC, CP ja PP. Näissä UV-A:n määrä oli kaikissa 100% ja UV-B:n määrä 100, 50 ja 0%. Lisäksi tutkittiin vielä yleisesti UV-säteilyn

vaikutusta vertaamalla käsittelyjä CC, CR ja RR. Näissä UV-A:n ja UV-B:n määrät olivat aina samat (100%/100%, 50%/50% ja 0%/0%). Datamuunnoksia ei käytetty, vaan malliin lisättiin painokertoimeksi varianssifunktion potenssi (vP, power of variance function covariate) tapauksissa, joissa varianssit eivät olleet homogeeniset, mikä ilmeni mallien välisessä todennäköisyssuhdelukutestissä. Esimerkiksi muutaman yksittäisen fenolisen yhdisteen tapauksessa tarvittiin vP:ta. Tilastollisen merkitsevyyden raja oli kaikkien käsittelyjen yhdysvaikutusta testattaessa 0,05 ($p < 0,05$) ja UV-A ja UV-B säteilyn vaikutusta erikseen testattaessa 0,1 ($p < 0,1$).

7. TULOKSET

7.1. Pituuskasvu, silmujen määrä sekä lehtien, varren ja juurten kuivapainot

Taimien keskipituus kokeen päätyttyä oli 188 mm ja silmujen määrä vaihteli välillä 8–12 kpl/taimi. UV-käsittelyn vaikutusta taimien pituuskasvuun ja silmujen määrään testattiin ANOVA:lla mediaanin perusteella. Testissä otettiin huomioon kaikki yksittäiset havainnot eli yhden koeruudun kaikkien kymmenen taimen pituudet on käsitelty erikseen. Käsittelyllä ei ollut vaikutusta niin taimien pituuteen (ANOVA $p=0,34$, $F=1,2$, $df=5$ ja 20) kuin silmujen määräänkään (ANOVA $p=0,31$, $F=1,3$, $df=5$ ja 20).

Juurten kuivapaino kaikissa käsittelyissä oli keskimäärin 0,559 g. UV-B säteilyn poistamisella oli vaikutus juurten kuivapainoon, mutta vaikutus ei ollut lineaarinen (Taulukko 2.). Lineaarisuutta testattiin laskemalla lineaarinen ja kvadraattinen p -arvo. Tässä tapauksessa kvadraattinen p -arvo täytti tilastollisen merkitsevyyden ehdon ($p < 0,05$), joten pääteltiin ettei UV-B säteilyn vaikutus juurten kuivapainoon ollut lineaarinen. Juurten kuivapainoja tarkastelemalla huomataan, että käsittelyssä CP arvo on suurempi kuin kontrollissa (Liite 1.). Muissa käsittelyissä kuivapaino on kontrollia pienempi. UV-säteilyn poistamisella ei ollut vaikutusta koko taimen, lehtien ja varren kuivapainoihin eikä niiden välisiin suhteisiin (Taulukko 2.). Koko taimen lehtien kuivapainon keskiarvoa laskettaessa on otettu huomioon fenolilehtien ja klorofyllilehtien kuivapainot. Samoin varren kuivapainossa on otettu huomioon fenoli- ja klorofyllilehtien lehtiruotien kuivapainot.

Taulukko 2. UV-säteilyn vaikutus rauduskoivun lehtien, varren ja juurten kuivapainoon (kp) sekä niiden välisiin suhteisiin (df=5 ja 19). Arvoista ylempi on p -arvo ja alempi F-arvo. Ensimmäisen sarakkeen ANOVA-tulos on kaikkien käsittelyjen yhdysvaikutus ja seuraavissa sarakkeissa on eritelty UV-A (käsittelyt PP, PR, RR, katso Taulukko 1.) ja UV-B (käsittelyt CC, CP, PP, katso Taulukko 1.) säteilyn vaikutus. UV-B säteilylle on esitetty erikseen lineaarinen ja kvadraattinen p -arvo.

	ANOVA p, F	ANOVA p, F		
		UV-A	UV-B	
			lineaarinen	kvadraattinen
Koko taimen kp.	0,56 0,8			
Lehtien kp.	0,76 0,52			
Varren kp.	0,73 0,56			
Juurten kp.	0,046 2,3	0,20 1,88	0,0996 3,47	0,022 8,06
Lehtien kp/ Koko taimen kp	0,72 0,58			
Varren kp/ Koko taimen kp	0,07 2,4			
Juurten kp/ Koko taimen kp	0,13 2,0			
Juuri/Verso -suhde	0,16 1,8			

7.2. Klorofyllin määrä lehdissä

Käsittelyjen vaikutusta testattiin klorofylli a:n ja b:n kokonaismäärään sekä klorofylli a:n ja b:n suhteeseen ala- (vanhat lehdet) ja ylälehdillä (nuoret lehdet) erikseen. Taulukosta 3. voidaan havaita, että klorofyllin kokonaismäärä ja a/b -suhde oli suurempi nuoremmista ylälehdissä. Säteilyn poistamisella ei kuitenkaan ollut tilastollisesti merkitsevää vaikutusta klorofyllin määrään tai suhteeseen lehdissä (Taulukko 3.). Klorofylli a/b-suhde oli selvästi suurempi kolmannen blokin CP-käsittelyssä ylälehdillä, joten tulos jätettiin pois sekä tilastollisissa testeissä että keskihajontaa ja keskiarvoa laskiessa.

Taulukko 3. Klorofyllin kokonaismäärä lehden pinta-alaa kohti (mg/cm²) ja a/b-suhde ± keskivirhe käsittelyittäin ja todennäköisyysarvot ANOVASTA (vapausasteet 5 ja 19). ANOVA-tulos on kaikkien käsittelyjen yhdysvaikutus. CC = kontrolli, CP = kontrolli-polyesteri, CR = kontrolli-Rosco, PP = polyesteri, PR = polyesteri-Rosco, RR = Rosco (katso Taulukko 1.).

		Chl a+b		Chl a/b	
		ylä	ala	ylä	ala
ANOVA	<i>p</i>	0,34	0,08	0,29	0,52
	F	1,2	2,3	1,4	0,9
CC	Ka. ± SE	43,6±1,8	43,8±2,2	3,82±0,06	3,48±0,06
CP	Ka. ± SE	42,4±1,9	38,7±1,4	3,85±0,03	3,49±0,04
CR	Ka. ± SE	40,8±1,5	40,1±1,3	3,81±0,05	3,49±0,10
PP	Ka. ± SE	40,7±1,4	37,7±1,8	3,85±0,06	3,43±0,07
PR	Ka. ± SE	43,0±2,3	40,5±2,3	3,91±0,05	3,57±0,07
RR	Ka. ± SE	40,5±1,5	37,0±1,4	3,89±0,05	3,46±0,07

7.3. Fenolipitoisuus lehdissä

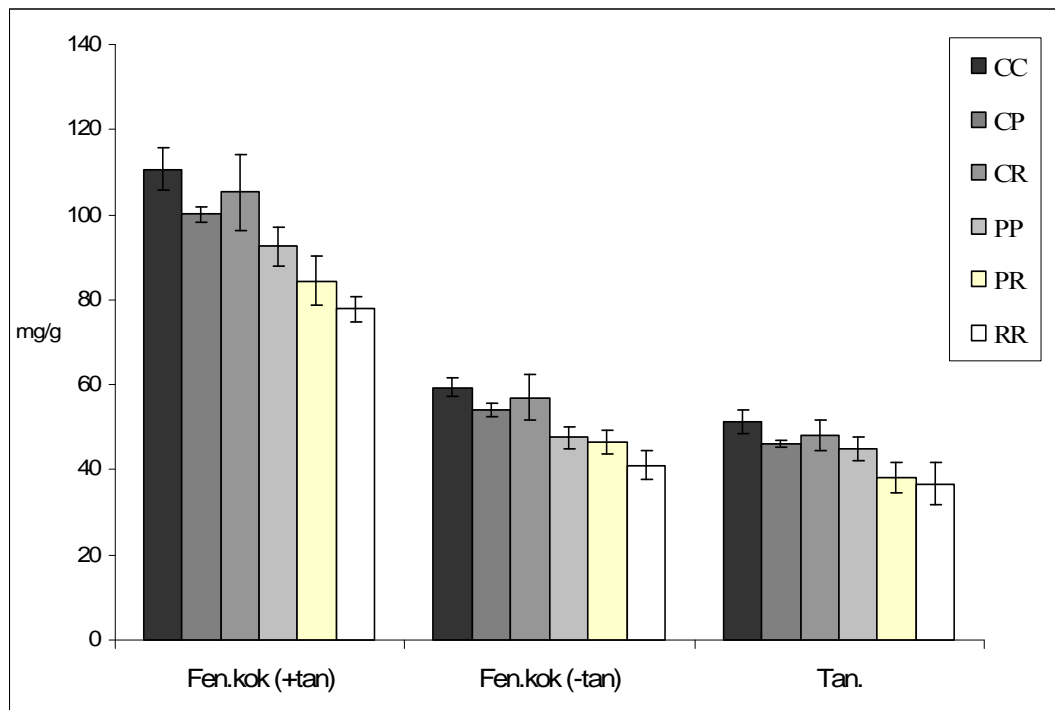
Käsittelyjen vaikutuksia testattiin fenolien kokonaismäärään (sisältäen tanniinit), fenolisten yhdisteiden määrään ilman tanniineja ja tanniinien kokonaismäärään. Fenolien kokonaispitoisuus (tanniinit mukaanluettuna) vaihteli noin 80 ja 110 mg/g:n välillä käsittelystä riippuen (Liite 2. ja Kuva 7.). Tästä fenolisten yhdisteiden osuus oli hieman suurempi kuin tanniinien. Sekä UV-A että UV-B säteilyn poistaminen vähensi fenolien kokonaispitoisuutta (tanniinit mukaanluettuna), kun taas fenolisten yhdisteiden kokonaismäärä ilman tanniineja väheni ainoastaan UV-B säteilyn poistamisen vaikutuksesta (Taulukko 4.).

Tanniinien kokonaispitoisuus näytteessä oli noin 40–50 mg/g (Liite 2. ja Kuva 7.). Tanniinien kokonaismäärä pieneni UV-B säteilyä poistettaessa (Taulukko

4.). Tanniinituloksia testattaessa kaikissa tapauksissa havainnoista poistettiin neljännen blokin CR-käsittelyn tulokset, koska ne poikkesivat selvästi muista tuloksista. Lisäksi tanniinituloksista jätettiin pois käsittelyt IV RR ja IV PR, koska liukenemattomien tanniinien uuttovaiheessa näistä käsittelyistä hävisi näytettä.

Taulukko 4. UV-säteilyn vaikutus fenolien ja tanniinien kokonaismäärään rauduskoivun lehdissä. Arvoista ylempi on p -arvo ja alempi F-arvo. Ensimmäisen sarakkeen ANOVA-tulos on kaikkien käsittelyjen yhdysvaikutus ja seuraavissa sarakkeissa on eritelty UV-A (käsittelyt PP, PR, RR, katso Taulukko 1.) ja UV-B (käsittelyt CC, CP, PP, katso Taulukko 1.) säteilyn vaikutus. ¹Kokonaisten fenolien tanniinit mukaan luettuna (df=5 ja 19), ²kokonaisten fenolien ilman tanniineja (df=5 ja 17), ³kokonaisten tanniinien (df=5 ja 17).

	ANOVA p, F	ANOVA p, F	
		UV-A	UV-B
Fen. kok. (+tan) ¹	<0,0001 10,1	0,0232 8,4	0,0018 19,0
Fen. kok. (-tan) ²	<0,0001 7,9	0,12 3,0	<0,0001 45,0
Tan. kok. ³	0,03 3,3	0,13 2,9	0,05 5,2



Kuva 7. Kokonaisfenolien ja tanniinien pitoisuuksien keskiarvot (mg/g) käsittelyittäin \pm keskivirhe. CC = kontrolli, CP = kontrolli-polyesteri, CR = kontrolli-Rosco, PP = polyesteri, PR = polyesteri-Rosco, RR = Rosco (katso Taulukko 1.).

Fenolilehdistä määritettiin tanniinien lisäksi yhteensä 17 yksittäisen fenoliyhdisteen pitoisuudet. Määrällisesti myrisetiini-3-ramnosidia ja kversetiini-3-ramnosidia oli näytteissä eniten: yli 10 mg/g (Liite 3.). Muiden yhdisteiden pitoisuudet olivat luokkaa 0,5–3 mg/g. UV-säteilyn poistaminen vähensi yhteensä kuuden yhdisteen konsentraatiota (Taulukko 5.). Näistä kolmeen vaikutti ainoastaan UV-B säteily (myrisetiini-3-galaktosidi, myrisetiini-3-ramnosidi ja klorogeenihappo). Sekä UV-A että UV-B säteilyn poistamisen vaikutus näkyi kolmen yhdisteen tuloksissa (kversetiini-3-galaktosidin, kversetiini-3-ramnosidin ja kamferoli-3-ramnosidin).

Yksittäiset fenoliyhdisteet jaettiin vielä viiteen ryhmään (kanelihapot, flavonoidit, fenoliset glykosidit, klorogeenihapot ja fenyylialaniinit) ja testattiin säteilyn vaikutusta fenoliryhmien pitoisuuksiin. UV-A ja UV-B säteilyn poistaminen vähensi flavonoidien (Taulukko 5.) ja UV-B säteilyn poistaminen puolestaan klorogeenihappojen pitoisuuksia (Taulukko 6.).

Taulukko 5. UV-säteilyn vaikutukset rauduskoivun taimien fenolisiin yhdisteisiin lehdistä (vapausasteet 5 ja 20). Arvoista ylempi on *p*-arvo ja alempi F-arvo. Ensimmäisen sarakkeen ANOVA-tulos on kaikkien käsittelyjen yhdysvaikutus ja seuraavissa sarakkeissa on eritelty UV-A (käsittelyt PP, PR, RR, katso Taulukko 1.) ja UV-B (käsittelyt CC, CP, PP, katso Taulukko 1.) säteilyn vaikutus.

	ANOVA <i>p</i> , F	ANOVA <i>p</i> , F	
		UV-A	UV-B
Flavonoidit	<0,0001 9,4	0,08 3,8	<0,0001 52,1
Katekiini	0,27 1,39		
Myrisetiini-3-galaktosidi	0,01 4,0	0,51 0,5	0,02 8,2
Myrisetiini-3-glukosidi +3-glukuronidi	0,28 1,38		
Myrisetiini-3-ramnosidi	0,02 3,4	0,17 2,3	0,08 4,0
Kversetiini-3-galaktosidi	<0,0001 10,3	0,095 3,5	0,002 17,9
Kversetiini-3-ramnosidi	<0,0001 20,0	0,04 5,8	<0,0001 46,5
Kamferoli-3-ramnosidi	<0,0001 19,4	0,02 7,3	<0,0001 137,2
Metyyliapigeniini	0,23 1,5		
Dikumaroli Astrakaliini	0,78 0,49		

Taulukko 6. UV-säteilyn vaikutukset rauduskoivun taimien fenolisiin yhdisteisiin lehdissä (vapausasteet 5 ja 20). Arvoista ylempi on *p*-arvo ja alempi F-arvo. Ensimmäisen sarakkeen ANOVA-tulos on kaikkien käsittelyjen yhdysvaikutus ja seuraavissa sarakkeissa on eritelty UV-A (käsittelyt PP, PR, RR, katso Taulukko 1.) ja UV-B (käsittelyt CC, CP, PP katso, Taulukko 1.) säteilyn vaikutus.

	ANOVA <i>p</i> , F	ANOVA <i>p</i> , F	
		UV-A	UV-B
Kanelihapot	0,38 1,12		
pOH kanelihapon johdannaiset	0,33 1,24		
pOH kanelihapon johdannaiset 1	0,48 0,93		
pOH kanelihappo- glukosidi 2	0,44 1,01		
Kanelihapon johdannaiset	0,08 2,35		
Fenoliset glykosidit	0,11 2,10		
Salidrosidin kaltaiset	0,19 1,66		
Salidroside	0,18 1,72		
Klorogeenihappo	<0,0001 6,95	0,94 0,006	0,004 14,4
Fenyylialaniini	0,08 2,35		

8. TULOSTEN TARKASTELU

UV-säteilyn poistamisella ei ollut vaikutusta rauduskoivun taimien pituuskasvuun, silmujen määrään tai lehtien ja varren kuivapainoon. Juurten kuivapainoon sen sijaan vaikutti UV-B säteilyn poistaminen, mutta vaikutus ei ollut tilastollisessa tarkastelussa lineaarinen. Käsittelyn CP (katso Taulukko 1.) taimilla

juurten kuivapaino oli suurempi kuin kontrollissa, muissa käsittelyissä UV-B:n poistamisen vaikutus oli päinvastainen. On mahdollista, että UV-B säteilyn epälineaariseen vaikutukseen vaikuttaa UV-A ja UV-B säteilyn määrän suhteet. Kun molempia säteilyjä pääsi saman verran läpi (50/50, 100/100 ja 0/0%) tai kun UV-A:sta osa pääsi läpi ja UV-B:stä ei yhtään (100/0, 50/0), UV-B säteilyn poistamisen vaikutus näkyi juurten kuivapainon pienemisenä. Käsittelyssä CP taas UV-A pääsi läpi 100%:sti, mutta UV-B:stä osa suodatettiin pois (50%).

Juurten kuivapainon suhteen tulos oli hivenen yllättäväkin, sillä useimmissa koivulajeilla tehdyissä yhden kasvukauden mittaisissa kokeissa säteily ei ole vaikuttanut mihinkään edellä mainituista vasteista (Lavola ym. 1997; Tegelberg ym. 2001; de la Rosa ym. 2001). Eräässä kokeessa rauduskoivun taimien verso/juuri -suhde pieneni UV-B säteilyn vaikutuksesta, mutta juurten kuivapainoon käsittelyllä ei ollut merkitsevää vaikutusta (de la Rosa ym. 2003). Taimia ei lannoitettu kokeen aikana, joten ne elivät vähäravinteisissa oloissa. Ravinteiden puutteessa voisi olettaakin, että kasvi allokoii energian juurten kasvuun maksimoidakseen ravinteiden oton. Tevinin & Teramuran (1989) mukaan vähäravinteisissa oloissa kasvit eivät ole niin herkkiä UV-B säteilyn haitallisille vaikutuksille kuin normaaliravinteisissa oloissa, joten on mahdollista että edellä mainitussa kokeessa verso/juuri -suhteen pieneminen johtuikin ravinteiden puutteesta eikä UV-B säteilystä. Toisaalta koe kuvastaa todellista luonnossa vallitsevaa tilannetta, sillä koivuthan usein elävät vähäravinteisissa ympäristöissä.

Toisessa kokeessa rauduskoivun verson kasvu kiihtyi UV-B säteilyn vaikutuksesta, mistä johtuen juuri/verso -suhde pieneni (Lavola ym. 2000). Kahdesta edellä mainitusta kokeesta on itse asiassa saatu päinvastaiset tulokset, vaikka molemmissa suhde on pienentynyt. Toisessa kokeessa puhutaan verso/juuri -suhteesta eli juurten kasvu on kiihtynyt tai verson kasvu vähentynyt (de la Rosa ym. 2003). Toisessa taas puhutaan juuri/verso -suhteesta ja kerrotaan, että suhteen pieneminen johtui versokasvun kiihtymisestä (Lavola ym. 2000). Jälkimmäisessä tapauksessa kasvit altistuivat myös hiilidioksidille, joten versokasvun kiihtyminen on voinut johtua lisääntyneestä hiilidioksidipitoisuudesta. Meidän tutkimuksessa UV-säteilyllä ei ollut vaikutusta myöskään lehtien, varren tai juurten ja koko taimen välisiin suhteisiin. Tegelbergin ym. (2001) tutkimuksessa sen sijaan rauduskoivun lehtien kuivapainon suhde verson kuivapainoon pieneni UV-B käsittelyssä toisena kasvukautena.

UV-säteilyn vaikutuksia eri koivulajeihin on tutkittu runsaasti etenkin Suomessa. Tegelbergin ym. (2001) tutkimuksessa rauduskoivun taimilla pituuskasvun hidastuminen lisääntyneen UV-B säteilyn vaikutuksesta ilmeni vasta kolmannella kasvukaudella, kun taas yhden kasvukauden kestäneessä tutkimuksessa rauduskoivun taimien kasvu ei estynyt säteilyaltistuksessa lainkaan (de la Rosa ym. 2003). On esitetty, että resurssien lisääntyneen allokoointi puolustukseen näkyy vasta myöhemmillä kasvukausilla ja siitä aiheutuvat haitalliset vaikutukset akkumuloituvat vuosien myötä (mm. Tegelberg ym. 2001; Julkunen-Tiitto ym. 2005). Meidän kokeessa UV-säteilyä poistettiin, joten

pituuskasvussa olisi voinut näkyä lisääntymistä, jos koetta olisi jatkettu pidempään. Herkemmillä monivuotisilla lajeilla muutokset voivat näkyä jo ensimmäisenä kasvukautena. Esimerkiksi pyökkilajilla *Nothofagus solandri* UV-B säteilyn poistaminen lisäsi pituuskasvua yli 20%:lla yhden kasvukauden aikana (Hunt & McNeil 1999).

Joillakin kasveilla fenolisia yhdisteitä voi olla jo luonnostaan suuri määrä tai esimerkiksi jonkin muun stressitekijän vaikutuksesta. Lavolan (1998) mukaan koivun taimilla fenolisia yhdisteitä on luonnostaan paljon. Tämä voi olla yksi selitys, miksi rauduskoivun taimilla yhden kasvukauden mittainen UV-B altistus tai poisto ei ole saanut aikaan suuria muutoksia kasvussa niin tässä kuin muissakaan kokeissa: fenoliset yhdisteet ovat suojanneet taimia tehokkaasti.

Kasvu ja fotosynteesiaktiivisuus liitetään usein toisiinsa. Mutta mikä on fotosynteesin ja kasvussa näkyvien muutosten yhteys? Vaikuttaako UV-B säteily fotosynteesiaktiivisuuteen vähentämällä kasvua vai häiriintyykö kasvu fotosynteesiaktiivisuuden vähenemisen myötä? On mahdollista, että fotosynteesin vähenemistä kompensoidaan esimerkiksi kasvattamalla oksien lukumäärää ja mahdollisesti myös lehtipinta-alaa. Tähän johtopäätökseen tulivat Sullivan ym. (1994) lännenambrapuulla (*L. styraciflua*) tehtyjen kokeidensa perusteella. Toisena kasvuvuonna kasvin fotosynteesiaktiivisuus ei eronnut käsittelyiden välillä, mikä mahdollisesti liittyy edellisen vuoden mukaan määräytyviin olemassa oleviin kasvuresursseihin. Toisin sanoen edellinen kasvukausi määrää seuraavan vuoden kasvuun käytettävät resurssit. Sullivan ym. (1994) kuitenkin muistuttavat, että fotosynteesin ja kasvun yhteys ei ole niin yksiselitteinen. Päinvastoin, fotosynteesin nopeus tai fotosynteettinen kapasiteetti harvoin korreloi kasvun kanssa. Myös Jansen ym. (1998) mainitsevat, että biomassan väheneminen ei välttämättä ole syy fotosynteesin vähenemiseen. Meidän kokeessa varren tai lehtien biomassassa ei muuttunut säteilyn vaikutuksesta. Myöskään fotosynteettisten pigmenttien määrään UV-säteilyllä ei ollut vaikutusta. Voisi kai siten päätellä, että tässä kokeessa fotosynteesiaktiivisuudessa ei ole tapahtunut muutoksia. Mutta kuten edellä juuri mainittiin, fotosynteesin ja kasvun välillä ei välttämättä ole selvää yhteyttä. Toisaalta UV-B säteilyn aiheuttamat vasteet sekä fotosynteesissä että kasvussa voivat liittyä geenien aktiivisuuden muutoksiin (Caldwell ym. 1998). Esimerkiksi kauralla (*Hordeum vulgare*) tehtyjen kokeiden mukaan DNA-vauriot ja kasvussa tapahtuvat muutokset ovat yhteydessä toisiinsa (Mazza ym. 1999). Loppujen lopuksi fotosynteesiaktiivisuuden ja UV-B säteilyn vuorovaikutuksia ei ole juurikaan tutkittu kenttäoloissa, joten siltä saralta lisätutkimuksia kaivattaisiin.

Myöskään UV-säteilyn vaikutuksia klorofyllin määrään ei ole liialti tutkittu (etenkään koivulajeilla). Tegelbergin ym. (2001) tutkimuksessa rauduskoivun taimien pitkäaikainen altistuminen lisääntyneelle UV-B säteilylle ei vaikuttanut niin klorofyllin kokonaismäärään tai klorofylli a:n ja b:n määrään, kuin klorofylli a:n ja b:n suhteeseenkaan. Klorofyllimolekyylit on erikoistunut näkyvän valon tiettyjen aallonpituusalueiden absorboimiseen (Kuva 2.). Sekä klorofylli a:lla että b:llä absorptiohuiput ovat yli 400 nm:n, kun taas UV-A:n ja -B:n aallonpituus on

selvästi alle 400 nm:n. Klorofyllimolekyyli ei siis edes absorboi UV-säteilyä, joten suorat vaikutukset klorofyllin määrään eivät ole todennäköisiä. Epäsuoria vaikutuksia UV-säteilyllä sen sijaan voi olla ja klorofyllin määrän muuttuminen UV-altituksessa esimerkiksi DNA-vaurioiden myötä on mahdollista. Muun muassa lituruoholla (*Arabidopsis thaliana*) klorofyllin biosynteesiä säätelevät geenit aktivoituivat UV-B altituksessa (Hectors ym. 2007). Muutamalla lajilla vaikutuksia klorofyllin määrään on havaittu, mutta näissä kokeissa kasvit altistettiin UV-säteilyn lisäksi jollekin toiselle stressitekijälle (Björn ym. 1997). Sen sijaan lännenambrapuulla (*Liquidambar styraciflua*) klorofylli b:n pitoisuus muuttui vasteena lisääntyneelle UV-B säteilylle (Sullivan ym. 1994).

Tässä tutkimuksessa niin UV-A kuin -B säteilyn poistaminen vähensi fenolien kokonaismäärää (fenolit + tanniinit). Fenolisten yhdisteiden kokonaismäärä ilman tanniineja ja tanniinien kokonaispitoisuus väheni UV-B säteilyä poistettaessa. Tanniinit (51,6 %) ja flavonoidit (34,7 %) olivat runsaimmat yhdisteet. Muiden ryhmien osuus vaihteli viiden ja kahden prosentin välillä. Muissakin *B. pendulan* taimilla tehdyissä kokeissa fenoliryhmien pitoisuussuhteet ovat olleet samanlaiset: tanniineja hieman enemmän kuin fenoleita (mm. de la Rosa ym. 2001; Tegelberg ym. 2001). UV-säteilyn vaikutuksia testattiin myös fenolisiin yhdisteryhmiin (flavonoidit, kanelihapot, fenoliset glykosidit, klorogeenihapot ja fenyylialaniinit). Fenoliryhmistä flavonoidit ja klorogeenihapot osoittivat herkkyyttä UV-säteilyn määrän muutoksille. Flavonoidien pitoisuus väheni sekä UV-A että UV-B säteilyn poistamisen vaikutuksesta, klorogeenihapoilla vaikutusta oli ainoastaan UV-B säteilyn poistamisella. Flavonoidit ovat kaikista fenolisista yhdisteistä juuri niitä, jotka parhaiten absorboivat UV-B säteilyä ja toimivat ensisijaisesti kasvin UV-puolustuksessa (Lavola ym. 1997). Useassa tutkimuksessa ne ovatkin runsain fenoliyhdisteryhmä UV-B altistuneella kasvilla (Lavola ym. 1997; Lavola 1998; Lavola ym. 2000; de la Rosa ym. 2001; Tegelberg ym. 2001). Tässäkin tutkimuksessa viisi kuudesta yhdisteestä, joiden pitoisuus laski UV-säteilyä poistettaessa, oli juuri flavonoideja. Klorogeenihapot sen sijaan eivät aina indusoidu UV-säteilyn vaikutuksesta. Viidestä tapauksesta kahdessa rauduskoivun taimilla klorogeenihapon pitoisuus nousi UV-B altituksessa (Lavola ym. 1997; Lavola 1998; Lavola ym. 2000; de la Rosa ym. 2001; Tegelberg ym. 2001).

Tanniinien osuutta kasvien UV-puolustuksessa on epäilty jo jonkin aikaa. Tämä perustuu siihen, että tanniinit absorboivat UV-B säteilyn aallonpituutta huonosti verrattuna muihin fenolisiin yhdisteisiin (Tegelberg ym. 2001). On useita tapauksia, joissa UV-B säteilyllä ei ole ollut vaikutusta tanniinien pitoisuuteen rauduskoivulla (Lavola ym. 1997; de la Rosa ym. 2001; Tegelberg ym. 2001), mutta toisaalta myös muutama tapaus, joissa vaikutus on havaittu (Lavola 1997; Lavola ym. 2000). Myös nyt tehdyssä kokeessa UV-B säteilyn poistaminen vähensi tanniinien pitoisuutta, joten niillä on ainakin jonkinasteinen rooli puolustauduttaessa UV-säteilyä vastaan.

Rauduskoivulla tehdyissä fenolisiin yhdisteisiin ja UV-säteilyyn liittyvissä kokeissa on kaikissa löytynyt jotakuinkin samoja yksittäisiä fenolisia yhdisteitä

(Lavola ym. 1997; Lavola 1998; Lavola ym. 2000; de la Rosa ym. 2001; Tegelberg ym. 2001). Meidän kokeessa UV-säteilyn poistaminen vähensi kuuden yhdisteen pitoisuuksia (myrisetiinin ja kversetiinin 3-galaktosidit ja 3-ramnosidit, kamferoli-3-ramnosidi sekä klorogeenihappo). Yhdisteistä myrisetiineillä sekä klorogeenihapolla pitoisuus pieneni UV-B säteilyn poistamisen vaikutuksesta. Loput kolme yhdistettä vähenivät sekä UV-A että UV-B säteilyä poistettaessa. Lavolan ym. (1997) yhdessä kokeessa neljän yhdisteen pitoisuus nousi UV-B altistuksessa, ja kolme näistä oli samoja yhdisteitä kuin meidän kokeessa indusoituneet (kversetiini-3-ramnosidi, myrisetiini-3-galaktosidi ja klorogeenihappo). Toisessa Lavolan ym. (2000) kokeessa samoja indusoituneita yhdisteitä löytyi neljä (myrisetiinin ja kversetiinin 3-galaktosidit sekä kversetiinin ja kamferolin 3-ramnosidit). Samoin Lavolan (1998) omassa tutkimuksessa edellä mainituista kuudesta yhdisteestä UV-B säteily vaikutti neljän pitoisuuteen (myrisetiinin ja kversetiinin 3-galaktosidit sekä myrisetiinin ja kversetiinin 3-ramnosidit). Eräässä myöskin kasvihuoneessa suoritettussa kokeessa UV-B säteily lisäsi edellä mainituista yhdisteistä kolmen pitoisuutta (kversetiini-3-galaktosidi sekä kversetiinin ja kamferolin 3-ramnosidit) (de la Rosa ym. 2001). Ulkona suoritettussa UV-B altistuskokeessa pitoisuus nousi samaisista kuudesta yhdisteestä ainoastaan kahdella ensimmäisenä kasvukautena (myrisetiinin ja kamferolin 3-ramnosidit) (Tegelberg ym. 2001). Kaikissa näissä kokeissa yhteisenä tekijänä on pitoisuuden nousu UV-B säteilyn määrän kasvaessa. Meidän kokeessa taas vaikutus yhdisteiden pitoisuuksiin oli päinvastainen, koska UV-B säteilyä poistettiin.

Tässä kokeessa kanelihappojen pitoisuus ei muuttunut UV-säteilyn vaikutuksesta, mutta useissa tutkimuksissa niiden pitoisuus on noussut UV-B altistetuilla koivuilla (Lavola 1998; Lavola ym. 2000; de la Rosa ym. 2001; Kostina ym. 2001). Kostinan ym. (2001) kokeessa suurin osa kanelihapoista indusoidu UV-B säteilyn sijaan UV-A säteilyn vaikutuksesta. Toisin kuin kanelihappojen pitoisuus, koivujen apigeniinin johdannaisten ja katekiinin pitoisuudet näyttävät harvoin muuttuvan UV-säteilyn vaikutuksesta (Lavola ym. 1997; Lavola ym. 2000; Kostina ym. 2001; Tegelberg ym. 2001). Yksi poikkeus katekiinin tapauksessa on kuitenkin Kostinan ym. (2001) koe, jossa yhdisteen pitoisuus nousi UV-B altistuksessa.

Fenolisten yhdisteiden akkumuloituminen on yleinen vaste kasvin altistuessa UV-B säteilylle (mm. Sullivan 2005). Kaikki kasveissa esiintyvät fenoliset yhdisteet eivät kuitenkaan indusoidu (Lavola ym. 2000) ja meidänkin kokeessa 17 määritetystä yhdisteestä ainoastaan kuuden pitoisuus laski UV-säteilyä poistettaessa. Laji vaikuttaa siihen, mitkä yhdisteen kerääntyvät kasvisoluksoon (Lavola 1998). Esimerkiksi UV-B altistetuilla *B. resiniferan* taimilla lehtien solukoihin kerääntyi fenolihappoja, kun taas rauduskoivulla akkumuloitui flavonoideja (Lavola 1998). Myös tässä kokeessa tilastollisesti merkitsevät erot näkyivät pääosin flavonoidien pitoisuuksissa. Flavonoidikoostumus ei kuitenkaan eroa altistetuilla ja ei-altistetuilla kasveilla (Lavola 1998). Eli yksittäiset yhdisteet ovat jotakuinkin samoja saman lajin taimilla, oli kyseessä sitten UV-B säteilylle altistunut kasvi tai ei. Eri yhdisteiden pitoisuussuhteet sen sijaan voivat muuttua esimerkiksi kasvin iän

tai maantieteellisten seikkojen perusteella lajin sisällä (Lavola 1998; Tegelberg ym. 2001). UV-B altistetuilla rauduskoivun taimilla myrisetiini-3-ramnosidi ja kversetiini-3-ramnosidi olivat runsaimpia flavonoideja yhden vuoden ikäisissä taimissa, kun taas kolme vuoden ikäisillä taimilla eniten oli myrisetiini-3-galaktosidia ja kversetiini-3-galaktosidia (Tegelberg ym. 2001). Myös tässä sekä de la Rosan ym. (2001) rauduskoivulla tekemässä kokeessa runsaimmat flavonoidit olivat myrisetiini-3-ramnosidi ja kversetiini-3-ramnosidi.

Fenolisten yhdisteiden UV-B säteilyltä suojaava vaikutus voi osittain perustua niiden antioksidanttisiin ominaisuuksiin. Toisin sanoen ne pystyvät suojelemaan kasvisolukkoa UV-B säteilyn aikaansaamilta haitallisilta happiradikaaleilta (Lavola ym. 1997). Yhdisteen kemiallinen rakenne (lähinnä hydroksyyliyhmiä määrä ja asema rengasrakenteessa) määrää sen kyvyn toimia antioksidanttina (Rice-Evans ym. 1996; Rice-Evans ym. 1997; Wang ym. 1997). Parhaiten UV-B säteilyltä suojaavat yhdisteet, joilla on hydroksyyliyhmiä B-renkaan kolmannessa ja neljännessä hiilessä (orto-asemassa) (Rice-Evans ym. 1997; Wang ym. 1997). Myös hydroksyyliyhmiä A-renkaan viidennessä ja seitsemännessä hiilessä (meta-asema) lisäävät yhdisteen antioksidanttisia ominaisuuksia (Rice-Evans ym. 1997). Joissain tapauksissa C-renkaan toisen ja kolmannen hiilen välinen kaksoissidos vaikuttaa antioksidanttisiin ominaisuuksiin (Rice-Evans ym. 1997). Yleisesti sanottuna hydroksyyliyhmiä suuri määrä koknaisuudessaan lisää fenolisen yhdisteen antioksidanttisia ominaisuuksia (Cao ym. 1997). Toisaalta on myös huomattu, että kemiallisessa rakenteessaan paljon hydroksyyliyhmiä sisältävillä fenolisilla yhdisteillä absorptiomaksimi on UV-A säteilyn puolella (Lavola ym. 1997). Kversetiineillä on antioksidanttisia ominaisuuksia, minkä vuoksi ne reagoivat erityisen herkästi UV-B säteilyyn (Rice-Evans ym. 1997; Tegelberg ym. 2001). Tegelbergin ym. (2001) kokeessa juuri kversetiinit indusoituivat selvimmin UV-säteilyn vaikutuksesta ja tässäkin kokeessa kaksi kuudesta yhdisteestä, joilla pitoisuus muuttui eri käsittelyjen välillä, oli kversetiinejä.

Vaikutusspektrejä käytetään yleisesti ennustamaan UV-säteilyn aiheuttamien vasteiden suuruutta ja samaa vaikutusspektriä voidaan soveltaa usealle lajille. Flint & Caldwell (2003b) testasivat vaikutusspektrien toimivuutta kauralla (*Avena sativa*) ja *Brassica rapa*lla, joilla molemmilla havaittiin useita UV-säteilyn aiheuttamia kasvuvasteita jo ensimmäisen kasvukauden jälkeen. Kuten tässä ja monessa muussa tutkimuksessa huomattiin, rauduskoivun taimet ovat kestäviä ja UV-altistuksessa niiden kasvussa tapahtuu harvoin muutoksia ensimmäisen kasvukauden aikana. Useat vaikutusspektrit on laadittu herkkien lajien perusteella. Onko siis mahdollista että ne ennustavat luotettavasti myös kestävien lajien kuten koivun vasteita UV-säteilyn määrän noustessa? Mielestäni vaikutusspektrejä pitäisi testata myös kehittyneemmällä kasveilla ja uuden vaikutusspektrin laatiminen esim. jonkin koivulajin vasteita tutkimalla toisi tälle alalle uutta tärkeää tietoa. Myös Flint & Caldwell (2003b) suosittelivat lisätutkimuksia vaikutusspektrien testaamisen osalta ja nimenomaan eri lajeilla.

Tästä tutkimuksesta saatujen tulosten epälineaarisuus juurten kuivapainon osalta saa miettimään nykyisten vaikutusspektrien toimivuutta, ainakin ennustettaessa UV-säteilyn aiheuttaman muutoksen suuruutta juuri juurten kuivapainossa. Tulos hankaloittaa vaikutusspektrien tulkittamista ja toisaalta uusien spektrien muodostamista: Onko mahdollista tehdä luotettavaa vaikutusspekttriä ei-lineaarisen vaikutuksen pohjalta? Toisaalta vaikutus juurten kuivapainossa on todellakin ainutlaatuinen ja kuten jo edellä mainitsin, muissa kokeissa ei vastaavia havaintoja ole tehty. Tulosta täytyy siis käsitellä varoen eikä sen perusteella voi tehdä mitään suuria johtopäätöksiä.

Tämän työn yhtenä tavoitteena oli selvittää UV-A säteilyn mahdollisia vaikutuksia kasvin eri vasteisiin. UV-A säteilyn merkitys aletaan hiljalleen tiedostaa ja tämäkin tutkimus osoitti, että myös UV-B:tä pidemmän aallonpituuden omaava säteily voi vaikuttaa kasveihin. Meidän tapauksessa UV-A:n vaikutukset näkyivät fenolisten yhdisteiden pitoisuuksissa: kolmen yhdisteen kohdalla UV-B:n lisäksi myös UV-A säteilyn poistaminen pienensi pitoisuuksia. Aiemmissä vaikutusspektreissä huomioitiin ainoastaan UV-B säteily, mutta nyttemmin spektreihin on sisällytetty myös UV-A aalloitusalue. Tutkimuksemme antaa aihetta lisäselvityksiin tältä saralta ja kenties vaikutusspektrejä voidaan kehittää siten, että ne edustavat todellista tilannetta entistä paremmin. Lisäksi suurin osa UV-säteily tutkimuksista on lamppukokeita, eli UV-säteilyaltistusta on lisätty lamppujen avulla. Tässä kokeessa taas UV-säteilyaltistusta vähennettiin muovikalvoilla, mitä on tehty vähemmän. Tutkimuksemme tulokset edelleen vahvistavat käsitystä rauduskoivun vahvuuksista ja kyvystä puolustautua UV-säteilyä vastaan. Toisaalta ei pidä unohtaa, että kyseessä oli yhden kasvukauden mittainen koe. Jotkin vasteet voivat ilmetä vasta myöhemminä kasvukausina, kuten esimerkiksi Tegelbergin ym. (2001) tutkimuksessa.

Loppujen lopuksi tämän kokeen hypoteesit pitivät paikkaansa luukuun ottamatta tuloksia juurten kuivapainossa. Muutamien fenolisten yhdisteiden pitoisuus laski UV-säteilyä poistettaessa ja pituuskasvussa, taimen, lehtien tai varren kuivapainossa sekä klorofyllin määrässä ei tapahtunut muutoksia. Merkittävimmät tulokset saatiin fenolisten yhdisteiden osalta, sillä kolmen yksittäisen yhdisteen kohdalla pitoisuus laski UV-B säteilyn lisäksi UV-A säteilyä poistettaessa. Tämä tutkimus kumoo ainakin osittain käsityksen siitä, että ainoastaan auringon UV-B säteilyllä on merkitystä kasvien UV-vasteita tutkittaessa.

Kiitokset

Haluan kiittää Metsämiesten säätiötä, joka ystävällisesti myönsi minulle apurahan päättötyöni tekemiseen. Suuren kiitoksen ansaitsevat myös ohjaajani Pedro J. Aphalo, Markku Kuitunen sekä Titta Kotilainen. Kiitos Juha Ahoselle ja Tarmo Haliselle avusta kokeen perustamisessa, Leena Siitoselle avusta näytteiden käsittelyssä sekä Kati Sivanderille, joka auttoi näytteiden keräämisessä ja analysoinnissa.

Kirjallisuus

- Ballare, C.L., Rousseaux, C.M., Searles, P.S., Zaller, J.G., Giordano, C.V., Robson, T.M., Caldwell, M.M., Sala, O.E. ja Scopel, A.L. 2001: Impacts of solar ultraviolet-B radiation on terrestrial ecosystems of Tierra del Fuego (southern Argentina), an overview of recent progress. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 62: 67-77.
- Björn, L.O., Callaghan, T.V., Johnsen, I., Lee, J.A., Manetas, Y., Paul, N.D., Sonesson, M., Wellburn, A.R., Coop, D., Heide-Jorgensen, H.S., Gehrke, C., Gwynn-Jones, D., Johanson, U., Kypris, A., Levizou, E., Nikolopoulos, D., Petropoulou, Y. ja Stephanou, M. 1997: The effects of UV-B radiation on European heathland species. *Plant Ecology* 128: 253-264.
- Björn, L.O. 2002a: The nature of light and its interaction with matter. Teoksessa Björn L.O. *Photobiology, the science of light and life*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Hollanti. s. 1-35.
- Björn, L.O. 2002b: Action spectroscopy in biology. Teoksessa Björn L.O. *Photobiology, the science of light and life*. Kluwer academic publishers. Dordrecht, Hollanti. s. 97-114.
- Björn, L.O. ja McKenzie, R.L. 2002: Ozone depletion and effects of ultraviolet radiation. Teoksessa Björn L.O. *Photobiology, the science of light and life*. Kluwer academic publishers. Dordrecht, Hollanti. s. 239-263.
- Blumthaler, M. 1993: Solar UV measurements. Teoksessa Tevini M. *UV-B radiation and ozone depletion-Effects on humans, animals, plants, microorganisms and materials*. Lewis Publishers. USA. s. 71-94.
- Caldwell, M.M. ja Flint, S.D. 1997: Uses of biological spectral weighting functions and the need of scaling for the ozone reduction problem. *Plant Ecology* 128: 67-76.
- Caldwell, M.M., Björn, L.O., Bornman, J.F., Flint, S.D., Kulandaivelu, G., Teramura, A.H. ja Tevini, M. 1998: Effects of increased solar ultraviolet radiation on terrestrial ecosystems. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 46: 40-52.
- Caldwell, M.M., Ballare, C.L., Bornman, J.F., Flint, S.D., Björn, L.O., Teramura, A.H., Kulandaivelu, G. ja Tevini, M. 2003: Terrestrial ecosystems, increased solar ultraviolet radiation and interactions with other climatic factors. *Photochemical and photobiological Sciences* 2: 29-38.
- Campbell, N.A., Reece, J.B. ja Mitchell, L.G. 1999: *Biology*. 5. painos. Addison Wesley Longman, Inc. California, USA. s. 168-187.
- Cao, G., Sofic, E. ja Prior, R.L. 1997: Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radical Biology & Medicine* 22 (5): 749-760.
- de la Rosa, T.M., Julkunen-Tiitto, R., Lehto, T. ja Aphalo, P.J. 2001: Secondary metabolites and nutrient concentrations in silver birch seedlings under five levels of daily UV-B exposure and two relative nutrient addition rates. *New Phytologist* 150: 121-131.

- de la Rosa, M., Aphalo, P.J. ja Lehto, T. 2003: Effects of ultraviolet-B radiation on growth, mycorrhizas and mineral nutrition of silver birch (*Betula pendula* Roth) seedlings grown in low-nutrient conditions. *Global Change Biology* 9: 65-73.
- Flint, S.D. ja Caldwell, M.M. 2003a: A biological spectral weighting function for ozone depletion research with higher plants. *Physiologia Plantarum* 117: 137-144.
- Flint, S.D. ja Caldwell, M.M. 2003b: Field testing of UV biological spectral weighting functions for higher plants. *Physiologia plantarum* 117: 145-153.
- Flint, S.D., Ryel, R.J. ja Caldwell, M.M. 2003: Ecosystem UV-B experiments in terrestrial communities: a review of recent findings and methodologies. *Agricultural and Forest Meteorology* 120: 177-189.
- Flint, S.D., Searles, P.S. ja Caldwell, M.M. 2004: Field testing of biological spectral weighting functions for induction of UV-absorbing compounds in higher plants. *Photochemistry and Photobiology* 79 (5): 399-403.
- Grossweiner, L.I. 1989: Photophysics. Teoksessa Smith, K.C. The science of photobiology. 2. painos. Plenum Press. New York, USA. s. 1-45.
- Hagerman, A.E. 1995: Acid butanol assay for proanthocyanidins. Tannin analysis, s. 24-25. Department of chemistry, Miami University, Miami, USA.
- Hectors, K., Prinsen, E., De Coen, W., Jansen, M.A.K. ja Guisez, Y. 2007: *Arabidopsis thaliana* plants acclimated to low dose rates of ultraviolet B radiation show specific changes in morphology and gene expression in the absence of stress symptoms. *New Phytologist* 175: 255-270.
- Hunt, J.E. ja McNeil, D.L. 1999: The influence of present-day levels of ultraviolet-B radiation on seedlings of two southern hemisphere temperate tree species. *Plant Ecology* 143: 39-50.
- Jansen, M.A.K., Gaba, V. ja Greenberg, B.M. 1998: Higher plants and UV-B radiation: balancing damage, repair and acclimation. *Trends in Plant Science* 3 (4): 131-135.
- Julkunen-Tiitto, R., Häggman, H., Aphalo, P.J., Lavola, A., Tegelberg, R. ja Veteli, T. 2005: Growth and defense in deciduous trees and shrubs under UV-B. *Environmental Pollution* 137: 404-414.
- Kohen, E., Santus, R. ja Hirschberg, J.G. 1995: Photobiology. Academic press. California, USA. 506 s.
- Kostina, E., Wulff, A. ja Julkunen-Tiitto, R. 2001: Growth, structure, stomatal responses and secondary metabolites of birch seedlings (*Betula pendula*) under elevated UV-B radiation in the field. *Trees* 15: 483-491.
- Laakso, K., Sullivan, J.H. ja Huttunen, S. 2000: The effects of UV-B radiation on epidermal anatomy in loblolly pine (*Pinus taeda* L.) and Scots pine (*Pinus sylvestris*). *Plant, Cell and Environment* 23: 461-472.
- Lavola, A., Julkunen-Tiitto, R., Aphalo, P., De la Rosa, T. ja Lehto, T. 1997: The effect of u.v.-B radiation on u.v.-absorbing secondary metabolites in birch seedlings grown under simulated forest soil conditions. *New Phytologist* 137: 617-621.

- Lavola, A. 1998: Accumulation of flavonoids and related compounds in birch induced by UV-B irradiance. *Tree Physiology* 18: 53-58.
- Lavola, A., Julkunen-Tiitto, R., de la Rosa, T.M., Lehto, T. ja Aphalo, P.J. 2000: Allocation of carbon to growth and secondary metabolites in birch seedlings under UV-B radiation and CO₂ exposure. *Physiologia Plantarum* 109: 260-267.
- Loponen, J. 1998: Isolation and identification of plant phenolic compounds in birch leaves: air pollution stress and leaf phenolics. Väitöskirja, Turun yliopisto. 65 s.
- Mazza, C.A., Battista, D., Zima, A.M., Szwarcberg-Bracchitta, M., Giordano, C.V., Acevedo, A., Scopel, A.L. ja Ballare, C.L. 1999: The effects of ultraviolet-B radiation on the growth and yield of barley are accompanied by increased DNA damage and antioxidant responses. *Plant, Cell and Environment* 22: 61-70.
- Mazza, C.A., Boccalandro, H.E., Giordano, C.V., Battista, D., Scopel, A.L. ja Ballare, C.L. 2000: Functional significance and induction by solar radiation of ultraviolet-absorbing sunscreens in field-grown soybean crops. *Plant Physiology* 122: 117-125.
- Newsham, K.K., Greenslade, P.D. ja McLeod, A.R. 1999: Effects of elevated ultraviolet radiation on *Quercus robur* and its insect and ectomycorrhizal associates. *Global Change Biology* 5: 881-890.
- Phoenix, G.K., Gwynn-Jones, D., Callaghan, T.V., Sleep, D. ja Lee, J.A. 2001: Effects of global change on a sub-arctic heath: effects of enhanced UV-B radiation and increased summer precipitation. *The Journal of Ecology* 89 (2): 256-267.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. ja Paganga, G. 1996: Structure – Antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology & Medicine* 20 (7): 933-956.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. ja Paganga, G. 1997: Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science* 2 (4): 152-159.
- Robberecht, R. 1989: Environmental photobiology. Teoksessa Smith, K.C. The science of photobiology. 2. painos. Plenum Press. New York, USA. s. 135-154.
- Rozema, J., Chardonnes, A., Tosserams, M., Hafkenscheid, R. ja Bruijnzeel, S. 1997: Leaf thickness and UV-B absorbing pigments of plants in relation to an elevational gradient along the Blue Mountains, Jamaica. *Plant Ecology* 128: 151-159.
- Saile-Mark, M. ja Tevini, M. 1997: Effects of solar UV-B radiation on growth, flowering and yield of central and southern European bush bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Ecology* 128: 115-125.
- Stephanou, M. ja Manetas, Y. 1998: Enhanced UV-B radiation increases the reproductive effort in the Mediterranean shrub *Cistus creticus* under field conditions. *Plant Ecology* 134: 91-96.
- Sullivan, J.H. ja Teramura, A.H. 1990: Field study of the interaction between solar ultraviolet-B radiation and drought on photosynthesis and growth in soybean. *Plant Physiology* 92: 141-146.
- Sullivan, J.H., Teramura, A.H. ja Dillenburg, L.R. 1994: Growth and photosynthetic responses of field-grown sweetgum (*Liquidambar styraciflua*; Hamamelidaceae) seedlings to UV-B radiation. *American Journal of Botany* 81 (7): 826-832.

- Sullivan, J.H. 2005: Possible impacts of changes in UV-B radiation on North American trees and forests. *Environmental Pollution* 137: 380-389.
- Taiz, L. ja Zeiger, E. 1998: *Plant physiology*. 2. painos. Sinauer Associates, Inc. Massachusetts, USA. s. 155-193 ja 347-376.
- Tegelberg, R., Julkunen-Tiitto, R. ja Aphalo, P.J. 2001: The effects of long-term elevated UV-B on the growth and phenolics of field-grown silver birch (*Betula pendula*). *Global Change Biology* 7: 839-848.
- Tevini, M. 1993a: Effects of enhanced UV-B radiation on terrestrial plants. Teoksessa Tevini M. UV-B radiation and ozone depletion-Effects on humans, animals, plants, microorganisms and materials. Lewis Publishers. USA. s. 125-153.
- Tevini, M. 1993b: Molecular biological effects of ultraviolet radiation. Teoksessa Tevini M. UV-B radiation and ozone depletion-Effects on humans, animals, plants, microorganisms and materials. Lewis Publishers. USA. s. 1-15.
- Tevini, M. ja Teramura, A.H. 1989: UV-B effects on terrestrial plants. *Photochemistry and Photobiology* 50: 479-487.
- Wang, H., Cao, G. ja Prior, R.L. 1997: Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 45: 304-309.
- Wikipedia 2007: Lehtivihreä. Suomen kielinen wikipedia-sivusto. Päivitetty 7.5.2007. <http://fi.wikipedia.org/wiki/Lehtivihre%C3%A4> (23.5.2007).

Liitteet

Liite 1. Lehtien, varren ja juurten kuivapainojen keskiarvot sekä niiden väliset suhteet ± keskivirhe käsittelyittäin.

Liite 2. Fenolien ja tanniinien kokonaispitoisuuksien keskiarvot ± keskivirhe käsittelyittäin.

Liite 3. Yksittäisten fenoliyhdisteiden pitoisuuksien keskiarvot (mg/g) ± keskivirhe käsittelyittäin.

Liite 1. Lehtien, varren ja juurten kuivapainojen keskiarvot sekä niiden väliset suhteet \pm keskivirhe käsittelyittäin. CC = kontrolli, CP = kontrolli-polyesteri, CR = kontrolli-Rosco, PP = polyesteri, PR = polyesteri-Rosco, RR = Rosco (katso Taulukko 1.).

	CC	CP	CR	PP	PR	RR
Taimi Ka.(g) \pm SE	1,55 \pm 0,044	1,65 \pm 0,064	1,47 \pm 0,107	1,48 \pm 0,048	1,51 \pm 0,095	1,51 \pm 0,061
Lehdet Ka.(g) \pm SE	0,641 \pm 0,026	0,664 \pm 0,030	0,612 \pm 0,044	0,630 \pm 0,024	0,630 \pm 0,033	0,629 \pm 0,014
Varsi Ka.(g) \pm SE	0,334 \pm 0,024	0,347 \pm 0,017	0,325 \pm 0,030	0,351 \pm 0,017	0,317 \pm 0,025	0,332 \pm 0,011
Juuret Ka.(g) \pm SE	0,576 \pm 0,060	0,636 \pm 0,085	0,529 \pm 0,067	0,503 \pm 0,068	0,564 \pm 0,085	0,550 \pm 0,074
Lehdet/Taimi	0,414 \pm 0,019	0,406 \pm 0,026	0,419 \pm 0,020	0,427 \pm 0,026	0,421 \pm 0,026	0,420 \pm 0,022
Varsi/Taimi	0,216 \pm 0,015	0,212 \pm 0,015	0,221 \pm 0,012	0,238 \pm 0,017	0,210 \pm 0,013	0,222 \pm 0,015
Juuret/Taimi	0,370 \pm 0,033	0,382 \pm 0,040	0,360 \pm 0,030	0,335 \pm 0,036	0,369 \pm 0,037	0,359 \pm 0,037
Juuri/verso -suhde	0,605 \pm 0,082	0,644 \pm 0,101	0,576 \pm 0,072	0,520 \pm 0,079	0,605 \pm 0,092	0,579 \pm 0,088

Liite 2. Fenolien ja tanniinien kokonaispitoisuuksien keskiarvot \pm keskivirhe käsittelyittäin. CC = kontrolli, CP = kontrolli-polyesteri, CR = kontrolli-Rosco, PP = polyesteri, PR = polyesteri-Rosco, RR = Rosco (katso Taulukko 1.).

Käsittely	Fen.kok. (+tan) Ka.(mg/g) \pm SE	Fen.kok. (-tan) Ka.(mg/g) \pm SE	Tan.kok. Ka.(mg/g) \pm SE
CC	102,0 \pm 4,8	50,3 \pm 5,0	51,2 \pm 2,8
CP	91,7 \pm 1,9	45,6 \pm 4,2	46,1 \pm 0,9
CR	91,5 \pm 6,8	45,7 \pm 7,8	45,9 \pm 3,4
PP	84,6 \pm 4,4	39,6 \pm 5,2	44,9 \pm 2,9
PR	81,6 \pm 2,9	38,8 \pm 4,7	41,2 \pm 2,2
RR	71,5 \pm 4,2	34,0 \pm 5,8	39,9 \pm 4,9

Liite 3. Yksittäisten fenoliyhdisteiden pitoisuuksien keskiarvot (mg/g) \pm keskivirhe käsittelyittäin. CC = kontrolli, CP = kontrolli-polyesteri, CR = kontrolli-Rosco, PP = polyesteri, PR = polyesteri-Rosco, RR = Rosco (katso Taulukko 1.).

	CC	CP	CR	PP	PR	RR
Katekiini	0,56 $\pm 0,04$	0,50 $\pm 0,06$	0,43 $\pm 0,05$	0,43 $\pm 0,06$	0,47 $\pm 0,05$	0,41 $\pm 0,03$
Myrisetiini- 3-galaktosidi	2,30 $\pm 0,20$	2,23 $\pm 0,13$	2,14 $\pm 0,31$	1,66 $\pm 0,18$	1,71 $\pm 0,15$	1,50 $\pm 0,17$
Myrisetiini- 3-glukosidi +3-glukuronidi	0,70 $\pm 0,08$	0,42 $\pm 0,18$	0,48 $\pm 0,08$	0,58 $\pm 0,04$	0,49 $\pm 0,03$	0,44 $\pm 0,04$
Myrisetiini- 3-ramnosidi	17,2 $\pm 1,40$	17,2 $\pm 0,70$	17,0 $\pm 1,8$	15,1 $\pm 0,84$	14,5 $\pm 0,78$	13,1 $\pm 1,21$
Kversetiini- 3-galaktosidi	1,97 $\pm 0,14$	1,67 $\pm 0,15$	1,44 $\pm 0,16$	1,09 $\pm 0,16$	1,04 $\pm 0,14$	0,67 $\pm 0,18$
Kversetiini- 3-ramnosidi	11,3 $\pm 0,86$	8,76 $\pm 0,50$	8,97 $\pm 0,46$	6,93 $\pm 0,53$	6,86 $\pm 0,50$	5,45 $\pm 0,37$
Kamferoli- 3-ramnosidi	1,67 $\pm 0,04$	1,39 $\pm 0,09$	1,36 $\pm 0,10$	1,00 $\pm 0,07$	0,96 $\pm 0,07$	0,76 $\pm 0,07$
Metyyliapigeniini	0,33 $\pm 0,04$	0,31 $\pm 0,03$	0,28 $\pm 0,02$	0,39 $\pm 0,03$	0,34 $\pm 0,04$	0,29 $\pm 0,02$
Dikumaroli astrakaliini	0,99 $\pm 0,11$	0,88 $\pm 0,07$	1,0 $\pm 0,12$	0,98 $\pm 0,08$	1,09 $\pm 0,10$	0,95 $\pm 0,15$

Liite 3 (jatkuu). Yksittäisten fenoliyhdisteiden pitoisuudet (mg/g) \pm keskivirhe käsittelyittäin. CC = kontrolli, CP = kontrolli-polyesteri, CR = kontrolli-Rosco, PP = polyesteri, PR = polyesteri-Rosco, RR = Rosco (katso Taulukko 1.).

	CC	CP	CR	PP	PR	RR
pOH kanelihapon johdannaiset	0,82 $\pm 0,05$	0,76 $\pm 0,06$	0,72 $\pm 0,07$	0,75 $\pm 0,06$	0,72 $\pm 0,06$	0,63 $\pm 0,07$
pOH kanelihapon johdannaiset 1	0,49 $\pm 0,04$	0,49 $\pm 0,06$	0,51 $\pm 0,03$	0,46 $\pm 0,05$	0,43 $\pm 0,05$	0,43 $\pm 0,05$
pOH kanelihappo-glukosidi 2	2,85 $\pm 0,18$	2,68 $\pm 0,08$	2,72 $\pm 0,16$	2,59 $\pm 0,16$	2,80 $\pm 0,13$	2,50 $\pm 0,16$
Kanelihapon johdannaiset	0,83 $\pm 0,04$	0,75 $\pm 0,02$	0,80 $\pm 0,04$	0,70 $\pm 0,05$	0,75 $\pm 0,05$	0,67 $\pm 0,06$
Salidrosidein kaltaiset	2,74 $\pm 0,20$	2,97 $\pm 0,23$	2,80 $\pm 0,18$	3,05 $\pm 0,29$	2,75 $\pm 0,30$	2,41 $\pm 0,17$
Salidrosidei	0,74 $\pm 0,16$	0,53 $\pm 0,09$	0,38 $\pm 0,13$	0,36 $\pm 0,04$	0,32 $\pm 0,03$	0,35 $\pm 0,07$
Klorogeenihappo	2,83 $\pm 0,12$	2,36 $\pm 0,10$	2,88 $\pm 0,42$	2,05 $\pm 0,21$	2,22 $\pm 0,24$	2,06 $\pm 0,11$
Fenyylialaniini	2,02 $\pm 0,17$	1,69 $\pm 0,12$	1,76 $\pm 0,60$	1,59 $\pm 0,22$	1,29 $\pm 0,17$	1,41 $\pm 0,22$