

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA BIOLOGIJO

Tadeja TROŠT, univ. dipl. biol.

**VPLIV POVEČANEGA UV-B SEVANJA NA AKTIVNOST SMREKE
(*Picea abies*) IN TVORBO ZAŠČITNIH SNOVI**

MAGISTRSKO DELO

**EFFECTS OF ENHANCED UV-B RADIATION ON NORWAY SPRUCE (*Picea
abies*) ACTIVITY AND PRODUCTION OF PROTECTIVE COMPOUNDS**

MASTER THESIS

Ljubljana, 2000

Naloga je bila opravljena na Oddelku za biologijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani in na Nacionalnem inštitutu za biologijo. Poskus je bil postavljen v Botaničnem vrtu Univerze v Ljubljani.

Senat Biotehniške fakultete je potrdil temo in naslov magistrske naloge ter za mentorico imenoval doc. dr. Alenko Gaberščik.

Mentorica: doc. dr. Alenka Gaberščik.

Komisija za oceno in zagovor: predsednik: prof. dr. Andrej Martinčič

član: doc. dr. Alenka Gaberščik

član: prof. dr. Franc Batič

Datum zagovora: 30. marec 2000

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

| | |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ŠD | Md |
| DK | 581.1:551.521.17(043.2)=863 |
| KG | smreka (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.) / UV-B sevanje / fotokemična učinkovitost / fotosinteza / ETS / UV-B absorbirajoče snovi / fotosintezna barvila / visokogorsko rastišče / kalitev |
| KK | |
| AV | TROŠT, Tadeja |
| SA | GABERŠČIK, Alenka ment. |
| KZ | 1000 Ljubljana, SLO, Večna pot 111 |
| ZA | Univ. v Ljubljani, Biotehniška fak., Odd. za biologijo |
| LI | 2000 |
| IN | VPLIV POVEČANEGA UV-B SEVANJA NA AKTIVNOST SMREKE (<i>Picea abies</i>) IN TVORBO ZAŠČITNIH SNOVI |
| TD | magistrska naloga |
| OP | X, 86 s., 29 gr., 0 sl., 3 tab., 0 pril., 205 ref. |
| IJ | SL |
| JI | sl / en |
| AI | V nalogi smo ugotavljali vpliv UV-B sevanja (z močjo, ki ustreza 17% zmanjšanju ozonske plasti) na smreko (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.). Spremljali smo fotosintezno aktivnost, fotokemično učinkovitost fotosistema II, dihalni potencial, vsebnost UV-B absorbirajočih snovi, fotosinteznih barvil ter kalitev. Dodatno UV-B sevanje v teku ene vegetacijske sezone ni imelo jasnega negativnega vpliva na rastline. Merjeni parametri so pokazali veliko variabilnost, torej je odgovor smreke precej specifičen za posamezno rastlino. Značilne razlike med tretiranjem z dodatnim UV-B sevanjem in pod zunanjim UV-B smo izmerili na mladih iglicah v prvih tednih razvoja, ko zaščitne snovi in mehanizmi še niso popolnoma razviti. Značilne razlike smo izmerili tudi pozimi, ko je prišlo do sinergističnega delovanja UV-B sevanja, nizkih temperatur in fiziološke suše, ter deloma poleti, ko je bila jakost UV-B sevanja največja. Izrazit odgovor smo ugotovili pri smrekah, ki rastejo v visokogorju in so izpostavljene velikim odmerkom UV-B sevanja ter drugim stresnim dejavnikom, vendar ne vemo, kolikšen delež prilagoditev in poškodb se razvije zaradi posameznega stresnega dejavnika. |

KEY WORDS DOCUMENTATION

- ND** Mt
- DC** 581.1:551.521.17(043.2)=863
- CX** Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) / UV-B radiation / photochemical efficiency / photosynthesis / ETS / UV-B absorbing compounds / chlorophyll contents / germination / high altitude plants
- CC**
- AU** TROŠT, Tadeja
- AA** GABERŠČIK, Alenka supervisor
- PP** 1000 Ljubljana, SLO, Večna pot 111
- PB** Univ. of Ljubljana, Biotechnical Fac., Dep. of Biology
- PY** 1997
- TI** EFFECTS OF ENHANCED UV-B RADIATION ON NORWAY SPRUCE (*Picea abies*) ACTIVITY AND PRODUCTION OF PROTECTIVE COMPOUNDS
- DT** master thesis
- NO** X, 86 p., 29 graph., 0 fig., 3 tab., 0 app., 205 ref.
- LA** SL
- AL** sl / en
- AB** This study reports on the one-year impact of UV-B radiation (simulating UV-B, which correlates 17% ozone depletion) on Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.). The examined parameters were germination, photosynthetic activity, photochemical efficiency, potential electron transport activity and content of UV-B absorbing and photosynthetic pigments. The seedlings response to enhanced UV-B exhibited a high individual variability. The results show no clear negative effect of enhanced UV-B radiation on Norway spruce seedlings. UV-B significantly modified a response of some-week-old needles, which do not dispose of fully developed protective mechanisms. A significant decrease of seedlings activity under supplemental UV-B was measured in winter period, which indicates detrimental effect of UV-B combined with a low temperature and water stress and partly in summer, when doses of UV-B are highest. At high altitudes, where plants are exposed to an interaction of many stress factors, the additional UV-B effect to Norway spruce could be considered harmful.

KAZALO VSEBINE

| | |
|-----------------------------------------------------------------------|-------------|
| KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA | III |
| KEY WORDS DOCUMENTATION | IV |
| KAZALO VSEBINE | V |
| KAZALO TABEL | VIII |
| KAZALO GRAFOV | IX |
| OKRAJŠAVE IN SIMBOLI | XI |
| | |
| 1 UVOD | 1 |
| | |
| 2 PREGLED OBJAV | 3 |
| | |
| 2.1 ATMOSFERA | 3 |
| 2.1.1 SPREMEMBE V SESTAVI ATMOSFERE | 3 |
| 2.1.2 PRODIRANJE UV SEVANJA SKOZI ATMOSFERO | 4 |
| 2.2 BIOLOŠKA UČINKOVITOST UV-B SEVANJA | 5 |
| 2.3 VPLIV UV SEVANJA NA RASTLINE | 5 |
| 2.3.1 STAREJŠE RAZISKAVE | 5 |
| 2.3.2 PRODIRANJE UV SEVANJA SKOZI RASTLINSKO TKIVO | 6 |
| 2.3.3 NEPOSREDNI VPLIV UV SEVANJA NA CELIČNO ULTRASTRUKTURO | 7 |
| 2.3.3.1 Nukleinske kisline | 7 |
| 2.3.3.2 Proteini | 7 |
| 2.3.3.3 Celične membrane | 8 |
| 2.3.3.4 Citoskelet | 8 |
| 2.3.3.5 Celični organeli | 8 |
| 2.3.4 POSREDNI VPLIV UV SEVANJA NA CELIČNO ULTRASTRUKTURO | 8 |
| 2.3.5 VPLIV UV SEVANJA NA BIOKEMIJSKE IN FIZIOLOŠKE PROCESSE RASTLINE | 9 |
| 2.3.5.1 Fotosinteza | 9 |
| 2.3.5.2 Celično dihanje | 10 |
| 2.3.6 VPLIV UV SEVANJA NA RAST IN RAZVOJ RASTLINE | 11 |
| 2.3.7 ZAŠČITNI MEHANIZMI | 12 |
| 2.3.7.1 UV-B absorbirajoče snovi | 12 |
| 2.3.7.2 Fotosintezna barvila | 14 |
| 2.3.7.3 Epikutikularni voski | 14 |

| | | |
|------------|--------------------------------------------------------|-----------|
| 2.3.7.4 | Zaščitne snovi | 15 |
| 2.3.7.4.1 | Fitoaleksini | 15 |
| 2.3.7.4.2 | Antioksidanti | 15 |
| 2.3.7.4.3 | Poliamini | 16 |
| 2.3.7.5 | Popravljanje poškodovane DNK | 16 |
| 2.4 | INTERAKCIJE UV SEVANJA IN OKOLJSKIH DEJAVNIKOV | 16 |
| 2.4.1 | SEVANJE | 17 |
| 2.4.2 | TEMPERATURNE RAZMERE | 18 |
| 2.4.3 | VSEBNOST OGLJIKOVEGA DIOKSIDA | 18 |
| 2.4.4 | RAZPOLOŽLJIVA VODA | 19 |
| 2.4.5 | HRANILA | 19 |
| 2.5 | VPLIV UV-B SEVANJA NA DREVESNE VRSTE | 20 |
| 2.6 | VPLIV UV-B SEVANJA NA EKOSISTEM | 21 |
| 3 | MATERIAL IN METODE DE LA | 22 |
| 3.1 | POSKUSNE RASTLINE | 22 |
| 3.2 | POSKUSNE RAZMERE | 22 |
| 3.2.1 | SEJANKE SMREKE | 22 |
| 3.2.2 | KALITEV | 25 |
| 3.2.3 | SMREKE Z VISOKOGORSKEGA RASTIŠČA | 25 |
| 3.3 | MERITVE IN ANALIZE | 25 |
| 3.3.1 | FIZIOLOŠKE MERITVE | 26 |
| 3.3.1.1 | Fotosintezna aktivnost | 26 |
| 3.3.1.2 | Fotokemična učinkovitost fotosistema II | 26 |
| 3.3.2 | BIOKEMIJSKE ANALIZE | 28 |
| 3.3.2.1 | Dihalni potencial | 28 |
| 3.3.2.2 | Vsebnost fotosinteznih pigmentov | 29 |
| 3.3.2.3 | Vsebnost UV-B absorbirajočih snovi | 30 |
| 3.4 | STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV | 30 |
| 3.5 | MESTA VZORČENJA | 31 |
| 4 | REZULTATI | 33 |
| 4.1 | VPLIV POVEČANEGA UV-B SEVANJA NA KALITEV | 33 |
| 4.1.1 | DINAMIKA KALITVE | 33 |
| 4.1.2 | MORFOLOŠKE ZNAČILNOSTI KALIC | 34 |
| 4.1.3 | VSEBNOST KLOOROFILOV | 34 |
| 4.1.4 | VSEBNOST UV-B ABSORBIRAJOČIH SNOVI | 35 |
| 4.2 | VPLIV POVEČANEGA UV-B SEVANJA NA SEJANKE SMREKE | 35 |
| 4.2.1 | NETO FOTOSINTEZA | 35 |
| 4.2.2 | FOTOKEMIČNA UČINKOVITOST FOTOSISTEMA II | 36 |

| | | |
|------------|--------------------------------------------------------|-----------|
| 4.2.3 | DIHALNI POTENCIAL | 41 |
| 4.2.4 | VSEBNOST KLOROFILOV | 42 |
| 4.2.5 | VSEBNOST UV-B ABSORBIRAJOČIH SNOVI | 45 |
| 4.3 | AKTIVNOST SMREKE NA VISOKOGORSKEM RASTIŠČU | 48 |
| 4.3.1 | FOTOKEMIČNA UČINKOVITOST FS II | 48 |
| 4.3.2 | DIHALNI POTENCIAL | 49 |
| 4.3.3 | VSEBNOST KLOROFILOV | 50 |
| 4.3.4 | VSEBNOST UV-B ABSORBIRAJOČIH SNOVI | 50 |
| 5 | RAZPRAVA | 52 |
| 5.1 | UV-B SEVANJE IN KALITEV | 52 |
| 5.2 | VPLIV POVEČANEGA UV-B SEVANJA NA SEJANKE SMREKE | 54 |
| 5.2.1 | NETO FOTOSINTEZA | 54 |
| 5.2.2 | FOTOKEMIČNA UČINKOVITOST FS II | 55 |
| 5.2.3 | DIHALNI POTENCIAL | 57 |
| 5.2.4 | VSEBNOST KLOROFILOV | 58 |
| 5.2.5 | VSEBNOST UV-B ABSORBIRAJOČIH SNOVI | 59 |
| 5.3 | AKTIVNOST SMREKE NA VISOKOGORSKEM RASTIŠČU | 61 |
| 5.3.1 | FOTOKEMIČNA UČINKOVITOST FS II | 62 |
| 5.3.2 | DIHALNI POTENCIAL | 63 |
| 5.3.3 | VSEBNOST KLOROFILOV | 63 |
| 5.3.4 | VSEBNOST UV-B ABSORBIRAJOČIH SNOVI | 64 |
| 5.4 | ZAKLJUČEK | 66 |
| 6 | POVZETEK | 67 |
| 7 | SUMMARY | 70 |
| 8 | ZAHVALA | 73 |
| 9 | VIRI | 74 |

KAZALO TABEL

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1. Povprečno mesečno povečanje biološko aktivnega dela sevanja UV-B _{BE} pod tretiranjem z dodatnim UV-B sevanjem napram tretiranju pod zunanjimi razmerami. | 23 |
| Tabela 2. Povprečne mesečne razlike biološko aktivnega dela sevanja UV-B _{BE} , izračunane po modelu Björn & Murphy (1993), med Ljubljano in Grintovcem ter med Kamniško Bistrico in Grintovcem. | 31 |
| Tabela 3. Dolžina, suha teža in specifična suha teža pri kalicah smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. | 34 |

KAZALO GRAFOV

| | | |
|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Graf 1. | Zunanji in dodatni odmerki biološko učinkovitega UV-B _{BE} sevanja na poskusni ploskvi v Botaničnem vrtu Univerze v Ljubljani. | 24 |
| Graf 2. | Povprečni dnevni odmerki fotosintezno aktivnega dela sevanja in povprečne dnevne temperature na poskusni ploskvi v Botaničnem vrtu Univerze v Ljubljani. | 24 |
| Graf 3. | Teoretične vrednosti odmerkov biološko učinkovitega UV-B _{BE} sevanja na Grintovcu, v Kamniški Bistrici in v Ljubljani (BJÖRN & MURPHY, 1993). Podana so tudi mesečna povprečja dejanskih izmerjenih vrednosti UV-B _{BE} sevanja v Ljubljani. | 32 |
| Graf 4. | Delež kalečih semen smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. | 33 |
| Graf 5. | Skupna vsebnost klorofilov a in b (a) in razmerje vsebnosti klorofilov a in b (b) pri kalicah smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. | 34 |
| Graf 6. | Relativne integrirane vrednosti UV-B absorbirajočih snovi pri valovnih dolžinah med 280 in 320 nm (a) in razmerje ekstinkcijskih vrednosti pri 290, 300 in 320 nm (b) pri kalicah smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. | 35 |
| Graf 7. | Neto fotosinteza pri sejankah smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja in svetlobne razmere. | 36 |
| Graf 8. | Potencialna fotokemična učinkovitost FS II (Fv/Fm) (a), minimalna fluorescenca klorofila temotno adaptiranega vzorca (b) in maksimalna fluorescenca klorofila temotno adaptiranega vzorca (c) pri dveletnih iglicah smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. | 37 |
| Graf 9. | Potencialna fotokemična učinkovitost FS II (Fv/Fm) (a), minimalna fluorescenca klorofila temotno adaptiranega vzorca (b) in maksimalna fluorescenca klorofila temotno adaptiranega vzorca (c) pri enoletnih iglicah smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. | 38 |
| Graf 10. | Dejanska fotokemična učinkovitost FS II (Y) pri dveletnih iglicah smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja in svetlobne razmere. | 39 |
| Graf 11. | Dejanska fotokemična učinkovitost FS II (Y) pri enoletnih iglicah smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja in svetlobne razmere. | 39 |
| Graf 12. | Nefotokemični del dušenja fluorescence klorofila a FS II (NPQ) pri dveletnih iglicah smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja in svetlobne razmere. | 40 |
| Graf 13. | Nefotokemični del dušenja fluorescence klorofila a FS II (NPQ) pri enoletnih iglicah smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja in svetlobne razmere. | 40 |
| Graf 14. | Dihalni potencial (ETS) pri dveletnih iglicah smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. | 41 |
| Graf 15. | Dihalni potencial (ETS) pri enoletnih iglicah smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. | 41 |
| Graf 16. | Skupna vsebnost klorofilov a in b pri dveletnih iglicah smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. | 43 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Graf 17. Skupna vsebnost klorofilov a in b pri dveletnih iglicah smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. | 43 |
| Graf 18. Razmerje vsebnosti klorofilov a in b pri dveletnih iglicah smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. | 44 |
| Graf 19. Razmerje vsebnosti klorofilov a in b pri enoletnih iglicah smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. | 44 |
| Graf 20. Dnevna nihanja vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi pri dveletnih (a) in enoletnih (b) iglicah smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. | 45 |
| Graf 21. Vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi pri dveletnih iglicah smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. | 46 |
| Graf 22. Vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi pri enoletnih iglicah smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. | 46 |
| Graf 23. Razmerje ekstinkcijskih vrednosti pri 290, 300 in 320 nm pri dveletnih (a) in enoletnih (b) iglicah smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. | 47 |
| Graf 24. Potencialna fotokemična učinkovitost FS II (Fv/Fm) (a), minimalna fotokemična učinkovitost temotno adaptiranega vzorca (Fo) (b) in maksimalna fotokemična učinkovitost temotno adaptiranega vzorca (Fm) (c) pri enoletnih, dveletnih in triletnih iglicah smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), z rastišč na 2100 m in 600 m nadmorske višine. | 48 |
| Graf 25. Dejanska fotokemična učinkovitost FS II (Y) pri enoletnih, dveletnih in triletnih iglicah smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), z rastišč na 2100 m in 600 m nadmorske višine. | 49 |
| Graf 26. Dihalni potencial (ETS) pri enoletnih, dveletnih in triletnih iglicah smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), z rastišč na 2100 m in 600 m nadmorske višine. | 49 |
| Graf 27. Skupna vsebnost klorofilov a in b (a) in razmerje vsebnosti klorofilov a/b (b) pri enoletnih, dveletnih in triletnih iglicah smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), z rastišč na 2100 m in 600 m nadmorske višine. | 50 |
| Graf 28. Vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi pri enoletnih, dveletnih in triletnih iglicah smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), z rastišč na 2100 m in 600 m nadmorske višine. | 51 |
| Graf 29. Razmerje ekstinkcijskih vrednosti pri 290, 300 in 320 nm pri enoletnih, dveletnih in triletnih iglicah smreke (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.), z rastišč na 2100 m in 600 m nadmorske višine. | 51 |

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

| | |
|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| D1, D2 | polipeptida v FS II |
| Du | Dobsonova enota za debelino ozonske plasti v standardnih razmerah, v milicimetrih |
| ETS | potencialna aktivnost elektronskega transportnega sistema v mitohondrijih |
| Fm | maksimalna fluorescenca klorofila a FS II temotno adaptiranega vzorca |
| Fms | maksimalna fluorescenca klorofila a FS II osvetljenega vzorca |
| Fo | minimalna fluorescenca klorofila a FS II temotno adaptiranega vzorca |
| Fs | minimalna fluorescenca klorofila a FS II osvetljenega vzorca |
| Fv | variabilna fluorescenca temotno adaptiranega vzorca |
| Fv/Fm | potencialna fotokemična učinkovitost FS II |
| FS I, FS II | fotosistem I, fotosistem II |
| ISTA | International Seed Testing Association |
| kl a, kl b | klorofil a, klorofil b |
| NPQ | nefotokemični del dušenja fluorescence klorofila a FS II |
| PAR | fotosintezno aktivni del spektra sevanja (400 do 700 nm) |
| PPFD | gostota fotonskega fluksa fotosintezno aktivnega dela sevanja ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) |
| Q _A | plastokinon, akceptor elektronov v verigi elektronskega transporta FS II |
| qN | nefotokemični del dušenja fluorescence klorofila a FS II |
| qP | fotokemični del dušenja fluorescence klorofila a FS II |
| Rubisco | ribuloze bifosfat karboksilaza / oksidaza, encim Calvinovega cikla |
| ss | suha teža |
| UV-A | ultravijolično sevanje A (320 do 400 nm) |
| UV-B | ultravijolično sevanje B (280 do 320 nm) |
| UV-C | ultravijolično sevanje C (200 do 280 nm) |
| UV-B _{BE} | biološko aktivno ultravijolično sevanje B |
| Y | dejanska fotokemična učinkovitost FS II |

Okrajšave za skupine rastlin

| | |
|-------|--------------------------------------------------------------------------------|
| UV-B- | rastline, izpostavljene razmeram na prostem, vendar pretežno brez UV-B sevanja |
| UV-B | rastline, izpostavljene razmeram na prostem, z dodatnim UV-A sevanjem |
| UV-B+ | rastline, izpostavljene razmeram na prostem z dodatnim UV-B in UV-A sevanjem |

1 UVOD

Zemeljsko površje zadnjih dvajset let ponovno prejema čedalje večje odmerke ultravijoličnega (UV) sevanja. UV-B spekter sevanja je neposredno povezan s tanjšo plastjo ozona v atmosferi, tanjšanje ozonske plasti pa je predvsem rezultat povečane emisije halogenih spojin v ozračje. Podatke o debelini ozonskega plašča od leta 1950 dalje sistematično zbirajo na številnih merilnih postajah po svetu, po letu 1979 pa tudi preko satelitov (MADRONICH in sod., 1998). Opazovanja potrjujejo, da jakost UV-B sevanja na zemeljskem površju narašča s tanjšanjem ozonske plasti. Ob upoštevanju priporočil za varovanje ozonskega sloja naj bi se tanjšanje ozonske plasti nadaljevalo približno do leta 2000, naslednjih petdeset (sedemdeset) let pa naj bi bilo potrebnih za obnovitev stanja izpred tridesetih let.

Raziskave vplivov UV sevanja so usmerjene predvsem v preučevanje vplivov na človekovo zdravje ter na poškodbe ali spremembe, ki nastajajo na rastlinah. UV sevanje neposredno in posredno vpliva na številne biološke in kemijske procese. Vpliv UV sevanja na nivoju celice se lahko odraža kot kompleksna sprememba na nivoju ekosistema. Spremembe biokemijskih procesov se pogosto izrazijo v spremenjeni rasti in razvoju organa ali organizma, lahko vodijo v spremenjeno kompetitivno ravnotežje med vrstami, afiniteto rastline za herbivore in patogene, dekompozicijo ter kroženje nutrientov, kar vpliva na strukturo in dinamiko ekosistema.

Poskusi so pokazali, da ima povečano UV sevanje na rastline različen vpliv, odvisno od občutljivosti organizma. Nekatere rastline so zelo občutljive, medtem ko so druge odpornejše ali pa UV sevanje celo pozitivno vpliva na njihovo rast in razvoj. Prilagojenost na povečane intenzitete UV sevanja temelji na UV absorpcijskih sposobnostih rastline in učinkovitosti popravljalnih mehanizmov. Rastline tudi različno odgovarjajo na povečano UV sevanje v različnih okoljskih razmerah. Globalno spreminjanje podnebja izraža tendenco naraščanja temperature in vsebnosti CO₂ v ozračju. V raziskavah vplivov UV sevanja na rastline zato namenjajo posebno pozornost vplivu UV sevanja v interakciji z drugimi podnebnimi dejavniki.

Večjo pozornost namenjajo vplivu UV sevanja na ekosistem v zadnjih letih, z raziskavami delovanja UV na višje rastline pa so pričeli pred dobrimi dvajsetimi leti (JOHNSTON, 1971; CRUTZEN, 1972), v času ko so se pojavili prvi podatki o tanjšanju ozonske plasti.

Blizu šeststo originalnih člankov navaja rezultate poskusov, v katerih so višje rastline izpostavljali povečanemu UV sevanju. Pomanjkljivost večine poskusov je, da so jih izvedli v laboratoriju, kjer je gostota fluksa fotosintezno aktivnega spektra sevanja (PPFD) tako majhna, da ne omogoča učinkovitega popravljanja poškodb. UV sevanje, ki so ga uporabili, pa po intenziteti in spektralni sestavi precej odstopa od sevalnih razmer v naravi. Večji del raziskav obravnava zelnate in kmetijske rastline. Redki so poskusi na drevesnih vrstah, kjer je pomemben tudi kumulativni vpliv UV sevanja.

Rastline, izpostavljene povečanemu UV sevanju, sintetizirajo snovi z absorpcijskim vrhom v UV delu spektra, kar zmanjša prodiranje sevanja v rastlinsko tkivo. UV-B absorbirajoče snovi so polifenoli, pri nižjih rastlinah so enostavno zgrajeni, pri višjih so čedalje bolj kompleksni in učinkoviti. Polifenoli imajo številne fiziološke in ekološke funkcije (transdukcija signalov, reprodukcija, simbioza, kemična obramba). Ena od hipotez pravi, da so fenolovi derivati v zgodnji evolucijski zgodovini, ko je bila ozonska plast tanka in UV sevanje močno, omogočili rastlinam prehod iz vode na kopno. Rastline ob povečanem UV sevanju poleg UV-B absorbirajočih snovi izgrajujejo tudi druge zaščitne snovi in razvijejo popravljalne mehanizme, ki se odražajo na biokemijskem, fiziološkem, anatomskem in morfološkem nivoju.

Objekt naše raziskave je smreka (*Picea abies* (L.) Karst.). Gozdni ekosistemi pokrivajo dve tretjini Slovenije, smreka pa je poleg bukve najbolj razširjena drevesna vrsta. V sedemdesetih letih so v evropskih gozdovih opazili začetke propadanja gozdov, povečano osutost dreves ter rumenenje listov. V nalogi želimo ugotoviti, ali je tudi povečano UV-B sevanje eden od stresnih dejavnikov, ki negativno vplivajo na rast in razvoj smreke.

Smreka naj bi bila glede na raziskave na iglavcih relativno odporna na UV-B sevanje. Rastline, ki uspevajo na večjih zemljepisnih širinah in višjih nadmorskih legah, tako kot smreka v Sloveniji, so izpostavljene večjim intenzitetam UV sevanja kot rastline nižinskega pasu, zato so praviloma bolj odporne na povečano UV sevanje. Tudi avtohtone vrste so pogosto bolj odporne kot alohtone rastlinske vrste. Vpliv povečanih intenzitet UV-B sevanja na aktivnost smreke in tvorbo zaščitnih snovi poskušamo raziskati v magistrski nalogi.

2 PREGLED OBJAV

2.1 ATMOSFERA

2.1.1 SPREMEMBE V SESTAVI ATMOSFERE

Okoljski problem, ki je v zadnjih desetletjih pritegnil precej pozornosti, je tanjšanje ozonske plasti v stratosferi in vpliv tanjšanja na biosfero. Ozon se v največji množini tvori v zgornjem delu stratosfere (10-40 km), predvsem nad ekvatorjem, kjer je intenziteta UV sevanja največja. Od tod z zračnim transportom potuje proti zemeljskim polom. Debelina ozonske plasti okrog zemeljske oble ni povsod enaka. Spreminja se z geografsko širino in letnim časom ne glede na dodatne antropogene vplive. Ozonska plast je v povprečju najdebelejša med tridesetim in šestdesetim vzporednikom, na severni polobli doseže največjo debelino pozno pozimi in zgodaj spomladi. Debelina ozonske plasti dnevno niha za 10 do 20% in mesečno za 5 do 10% (JOSEFSSON, 1996).

Ozonska plast, stisnjena pod tlakom 101,3 kPa in pri temperaturi 0°C, bi merila 2 do 4 mm. Debelina v navedenih razmerah stisnjene ozonske plasti, izražena v milicentimetrih, je enota za ozonsko plast, imenovana Dobsonova enota (Du).

Ozon v stratosferi nastaja, ko UV sevanje z valovno dolžino manjšo od 242 nm prekine kisikovo vez v molekuli O₂ in sproščen atomarni kisik reagira z drugo molekulo O₂. Sinteza ozona je v normalnih razmerah v ravnotežju z razgradnjo ki, tako kot sinteza, poteka s pomočjo energije kratkovalovnega UV sevanja. Prve fotokemične reakcije, pri katerih ob sodelovanju dušikovih oksidov (NO_x) pride do razgradnje ozona, je odkril Crutzen (1972). Kasneje sta Molina in Rowland (1974) dokazala, da k razgradnji prispevajo tudi klorofluorogljiki (CFC). K razgradnji ozona prispevajo še drugi halogeni ogljikovi. Molekule, ki sodelujejo pri razgradnji ozona, se po vsakem ciklu sprostijo in vstopijo v nov cikel razgrajevanja ozona.

Po zadnjih predvidevanjih naj bi tanjšanje ozonske plasti doseglo višek okrog leta 2000, za obnovev stanja izpred trideset let pa bo potrebnih nadaljnjih petdeset let (HOFMANN, 1996; PRATHER in sod., 1996). Najbolj izrazito, 70% stanjšanje ozonske plasti, so izmerili nad Antarktiko v letih 1993 in 1994, v naslednjih letih pa se stanje ni več slabšalo (JONES & SHANKLIN, 1995). Stanjšanje ozonske plasti so izmerili tudi na mnogih drugih območjih. Maksimalno zmanjšanje ozonske plasti srednjih geografskih širin severne poloble naj bi pozimi doseglo med 12 in 13% ter poleti med 6 in 7% (MADRONICH in sod., 1995). Napovedovanje dogodkov dodatno otežuje efekt tople grede, ki ima morda pozitiven povratni vpliv na tanjšanje ozonske plasti (AUSTIN in sod., 1992).

2.1.2 PRODİRANJE UV SEVANJA SKOZI ATMOSFERO

Ultravijolično sevanje nespremenjeno potuje od Sonca do vstopa v atmosfero, kjer se kvantitativno in kvalitativno spremeni zaradi absorpcije in razpršitve na raznovrstnih molekulah plinov in prašnih delcih. Ko sevanje doseže biosfero, je večji del kratkovalovnega UV sevanja, ki je najbolj škodljiv za žive organizme, že odstranjen. Človekove dejavnosti, ki vplivajo na sestavo atmosfere, posredno spreminjajo delež in spekter UV sevanja, ki pride na Zemljo, kar ima za žive organizme različne posledice.

UV spekter sevanja obsega valovne dolžine od 10 do 400 nm. Delimo ga v več razredov glede na valovno dolžino sevanja; v ekstremno UV (10-120 nm), daljno UV (120-200 nm), UV-C (200-280 nm), UV-B (280-320 nm) in UV-A (320-400 nm) (MADRONICH, 1993). Poleg omenjene klasifikacije obstajajo še druge.

Sevanje z valovnimi dolžinami, krajšimi od 280 nm, se absorbira v atmosferi in ne bi doseglo zemeljskega površja niti ob 90% razgradnji ozonske plasti (FREDERICK, 1993). Z razgradnjo ozona se najbolj spreminja prodiranje UV-B sevanja do biosfere, ker je absorpcija UV-B spektralnega dela v stratosferi neposredno odvisna od debeline ozonske plasti. UV-A se le neznatno absorbira v atmosferi in v veliki meri doseže zemeljsko površje. 1% povečanje UV-B sevanja je posledica 16% stanjšanja ozonske plasti v stratosferi, povečanje biološko aktivnega UV-B_{BE} sevanja pa je precej večje od 16% (RENGER in sod., 1986).

Jakost sevanja na določeni točki na Zemlji je odvisna od širine zenitnega sončnega kota, ki se spreminja z geografsko širino, letnim in dnevnim časom. Kadar je zenitni kot širši, je pot žarkov skozi atmosfero daljša in absorpcija sevanja večja. Pravilo velja za UV spekter sevanja, v manjši meri pa tudi za vidno svetlobo. Na prodiranje UV sevanja do biosfere vpliva oblačnost. Oblaki absorbirajo UV sevanje, vendar ne v tolikšni meri kot vidno svetlobo. Aerosoli, megla in troposferni ozon absorbirajo UV sevanje, kar značilno prispeva k zmanjšanju sevanja predvsem v bližini onesnaženih območij. Intenziteta UV sevanja narašča z nadmorsko višino zaradi tanjšee atmosfere ter čistejšega ozračja v primerjavi z urbanimi središči. Tudi velik odboj UV sevanja s površine poveča jakost sevanja, kar pride do izraza v gorskih predelih, kjer snežne krpe obležijo do pozne pomladi. Razpršitev sevanja se povečuje z zmanjševanjem valovne dolžine sevanja. Zmanjšanje UV sevanja v senčnih habitatih je zato manj izrazito kot upadanje vidne svetlobe.

2.2 BIOLOŠKA UČINKOVITOST UV-B SEVANJA

Merjenje intenzitete UV-B sevanja ne zadošča za neposredno sklepanje na posledice za žive organizme, ker različne valovne dolžine različno vplivajo na strukturo in procese v celicah. V pomoč pri preučevanju sprememb pri organizmih so nam UV-B akcijski spektri. UV-B akcijski spekter predstavimo s krivuljo, ki izraža relativno učinkovitost posamezne valovne dolžine pri proženju določenega biološkega odgovora (DIFFEY, 1991). Z integracijo vseh akcijskih spektrov dobimo graf skupne biološke učinkovitosti UV-B sevanja ($UV-B_{BE}$). Akcijske spektre so razvijali v različnih ekoloških razmerah, zato se med seboj razlikujejo. Najpogosteje uporabljana je krivulja biološke učinkovitosti, ki so jo razvili Thimijan in sod. (1978).

Krajše valovne dolžine UV-B spektra sevanja so pri proženju bioloških odgovorov nekajkrat bolj učinkovite od daljših valovnih dolžin. Tanjšanje ozonske plasti vpliva na večjo intenziteto celotnega UV-B spektra ter večji delež kratkovalovnega UV-B spektra sevanja, zato biološka učinkovitost UV-B s tanjšanjem ozonske plasti strmo narašča.

2.3 VPLIV UV SEVANJA NA RASTLINE

2.3.1 STAREJŠE RAZISKAVE

Prve raziskave vplivov UV sevanja na rastline so bile izvedene v laboratorijih in rastlinjakih, v kontroliranih razmerah z majhnim PPF, ki ne zadošča za potek fotoreaktivacije in drugih celičnih procesov, ki bi zmanjšali negativen vpliv sevanja na rastlino (FISCUS & BOOKER, 1995). V poskusih so poleg UV-A in UV-B uporabljali tudi UV-C spektralni del sevanja, ki zemeljskega površja ne doseže, ker se absorbira v atmosferi. Rezultati so večinoma kazali močno negativno zvezo med povečanimi intenzitetami UV sevanja in rastjo rastline (FREDERICK, 1993).

Novejši poskusi, pri katerih so rastline rasle v naravnih razmerah in bile dodatno obsevane z ustreznimi intenzitetami UV-B ter UV-A sevanja, so potrdili domnevo, da laboratorijski eksperimenti kažejo pretirano negativen vpliv UV sevanja na rastline (DUMPERT & KNACKER, 1985).

UV sevanje pri rastlini sproži procese, ki predstavljajo zaščitni odgovor in prilagoditev rastline na sevanje, ali pa procese, ki pripeljejo do poškodb celičnih struktur in inhibicije življenjskih procesov. Pod vplivom UV sevanja se lahko spremenijo celična ultrastruktura, ekspresija genov, vsebnosti različnih zaščitnih snovi in celični procesi, kar vpliva na spremenjeno rast in razvoj rastline (BJÖRN, 1998).

2.3.2 PRODİRANJE UV SEVANJA SKOZI RASTLINSKO TKIVO

Prodiranje UV sevanja skozi list lahko izmerimo s pomočjo optičnih vlaken direktno v listnem tkivu (CEN & BORNMAN, 1993), določimo s pomočjo fluorescentnega filma ali izračunamo na podlagi izmerjene refleksije in transmitance s pomočjo matematičnih modelov (SEYFRIED & FUKSHANSKY, 1983). Na prodiranje UV-B sevanja skozi rastlinsko tkivo vplivajo anatomija lista, vsebnost in porazdelitev UV-B absorbirajočih snovi in fiziološki procesi. Sinteza fenolovih snovi je vrstno in celično specifična, spreminja se z ontogenetskim razvojem rastline, sprožijo jo tudi okoljski dejavniki: svetlobni, temperaturni in vodni režim, hranila v tleh, patogeni in herbivori (SCHMELZER in sod., 1989; MARTIN & GERATZ, 1993).

Listna epidermida predstavlja prvi filter sevanju in učinkovito absorbira UV-B del spektra, medtem ko prepušča večji del PAR. Meritve pri različnih rastlinskih vrstah so pokazale, da mezofil doseže med 0 in 40% UV-B sevanja. UV-B praviloma najbolje prepuščajo zelnote dvokaličnice (od 20 do 40%), nekoliko manj trave ter listnata drevesa (od 3 do 12%) in najmanj iglavci, kjer UV-B sevanje ne prodre skozi epidermido odrasle iglice (DAY in sod., 1992). UV-A prodira globlje v list kot UV-B (BORNMAN & VOGELMANN, 1988), vendar je njegova biološka učinkovitost manjša.

Prodiranje UV-B sevanja se spreminja s starostjo lista. Epidermida odraslih listov praviloma absorbira UV-B bolje kot epidermida razvijajočih se listov, kar je povezano z večjo vsebnostjo UV-B absorbirajočih snovi pri zrelih listih (DAY in sod., 1992; DAY in sod., 1996). Odrasli listi ohranjajo relativno nespremenjen nivo flavonoidov, medtem ko UV-B inducirani flavonoidi pri mlajših listih lahko izrazito narastejo (LOIS, 1994). Vsebnost posamezne UV-B absorbirajoče spojine se spreminja s starostjo listov, kot na primer vsebnost antocianinov, ki je večja pri mladih kot pri starih listih (LEE in sod., 1987). Anatomija epidermide pri mladih listih omogoča boljšo absorpcijo UV-B sevanja kot pri starejših listih, ker jo gradijo višje celice (RUHLAND & DAY, 1996). V zgodnjih stopnjah ontogenetskega razvoja celice se UV-B absorbirajoče snovi nahajajo v citoplazmi, kasneje pa predvsem v celični steni (KARABOURNIOTSI in sod., 1998). Sintezo fenolovih snovi sprožijo tudi različni okoljski dejavniki, zato je prepustnost lista za UV-B sevanje odvisna od okolja. Listi, ki se razvijajo v senci, prepuščajo več UV-B kot sončni listi, kar je povezano z različno vsebnostjo UV-B absorbirajočih snovi in debelino epidermide (RUHLAND & DAY, 1996). Rastline, ki rastejo pri nizkih temperaturah, povečano sintetizirajo antocianine (CAMM in sod., 1993). Počasi rastoče rastline, ki težje obnovijo poškodovana tkiva, sintetizirajo večje količine sekundarnih metabolitov, med njimi tudi UV-B absorbirajočih snovi, kot hitro rastoče vrste. Sekundarni metaboliti imajo pomembno vlogo pri zaščiti rastline pred stresnimi dejavniki (BAZZAZ in sod., 1987; HERMS & MATTSON, 1992).

2.3.3 NEPOSREDNI VPLIV UV SEVANJA NA CELIČNO ULTRASTRUKTURO

2.3.3.1 Nukleinske kisline

Škodljivo delovanje UV sevanja na DNK poteka neposredno fotokemično in v manjšem obsegu posredno preko prostih radikalov. Posledica fotokemičnega delovanja je nastanek DNK lezij, predvsem pirimidinskih, timinskih in ciklobutanskih dimerov (HADA in sod., 1996). Akcijski spekter, ki inducira nastanek dimerov, ima svoj maksimum pri 280 nm (QUAITE in sod., 1992). UV-A pa preko različnih mehanizmov inducira nastanek prostih radikalov in aktiviranih oblik kisika, ki spremenijo strukturo DNK (PEAK & PEAK, 1990). Čeprav se večji del podatkov o vplivu UV na nukleinske kisline nanaša na jedrno DNK, raziskave kažejo, da je mitohondrialna DNK še bolj občutljiva kot jedrna (HRUSZKEWYCZ, 1988).

Poškodbe DNK se izražajo v zmanjšani replikaciji DNK, transkripciji RNK in sintezi proteinov, kar nadalje vpliva na biokemijske in fiziološke procese. Manj pogosto spremembe DNK privedejo do mutacij (BJÖRN, 1998). Vpliv UV sevanja na rastlinsko DNK je lahko tudi fotomorfogenetski. UV sevanje sproži prepisovanje genov za encime, ki sodelujejo pri biosintezi flavonoidov, morda pa tudi drugih stresnih proteinov (BEGGS in sod., 1985), in verjetno inhibira prepisovanje genov, ki kodirajo proteine, vključene v fotosintezo (STRID in sod., 1994).

2.3.3.2 Proteini

Povečanje UV-B sevanja neposredno fotokemično deluje na proteine, ker aromatske aminokisline dobro absorbirajo sevanje tega spektralnega dela, in posredno preko delovanja UV-B na DNK (WILSON in sod., 1995).

Aktivnost encima Calvinovega cikla, ribuloze 1,5-bifosfat karboksilaze / oksidaze (Rubisco), pada z naraščanjem UV-B sevanja (STRID in sod., 1990). Zmanjšano aktivnost pripisujemo inhibirani transkripciji mRNK za ta encim (JORDAN in sod., 1992) in neposredni fotomodifikaciji večje podenote encima, ki jo opazimo ob izpostavljenosti rastline UV-B sevanju (WILSON in sod., 1995). Zmanjšana aktivnost Rubisca je verjetno glavni vzrok za zmanjšano vsebnost topnih proteinov v celici (JORDAN in sod., 1992). Ob povečanem UV-B sevanju se pri rastlinah zmanjšajo tudi vsebnosti nekaterih ključnih proteinov fotosintezne enote, kot so D1 in D2 proteina fotosistema II ter A in B proteina fotosistema I. Do zmanjšane vsebnosti pride zaradi zmanjšane transkripcije mRNK (JORDAN in sod., 1991) ter fotodegradacije D1 in D2 proteinov (JANSEN in sod., 1996).

2.3.3.3 Celične membrane

UV sevanje pospešuje peroksidacijo lipidov celičnih membran. Peroksidacija se povečuje z naraščajočima UV-B in UV-A sevanjema (PANAGOPOULOS in sod., 1990). Ob povečanem UV-B sevanju se spremeni prepustnost membran; iztekanje K^+ ionov iz celice se poveča (MURPHY, 1983), prepustnost celične membrane za vodo se poveča (LICHTSCHEIDL-SCHULTZ, 1985). Spremeni se električni potencial celice (GALLO in sod., 1989). Delež nasičenih maščobnih kislin se poveča in nenasičenih zmanjša, kar vpliva na spremenjeno membransko fluidnost (KRAMER in sod., 1991). Pri kloroplastih lahko pride do dilatacije tilakoidnih membran (BRANDLE in sod., 1977).

2.3.3.4 Citoskelet

Citoskelet rastlinske celice gradi dinamično povezana mreža mikrotubulov, ki poleg strukturne vloge sodelujejo pri številnih celičnih procesih. Pri rastlinah, ki jih izpostavimo UV sevanju, se organizacija mikrotubulov spremeni, posamezne faze celičnega cikla, predvsem S1, G1 in G2, se podaljšajo. Predvidevajo, da je občutljivo mesto za UV-B in UV-A sevanje tubulin, ki ima veliko vsebnost aminokislin z aromatskimi obroči. Absorpcijski vrh tubulina je pri 280 nm (STAXÉN in sod., 1993).

2.3.3.5 Celični organeli

Pod vplivom UV-B sevanja pride do povečane prepustnosti celične membrane za vodo in zato do zmanjšane viskoznosti citoplazme ter spremembe v njenem gibanju. Lahko se spremeni zgradba organelov, endoplazmatski retikulum nabreka, mitohondriji postajajo kroglasti (LICHTSCHEIDL-SCHULTZ, 1985).

2.3.4 POSREDNI VPLIV UV SEVANJA NA CELIČNO ULTRASTRUKTURO

Celične makromolekule, kot so nukleinske kisline, proteini, membranski lipidi, nenasičene maščobne kisline in ogljikovi hidrati se poškodujejo ob reakcijah s prostimi radikali in aktiviranimi oblikami kisika. Vsebnost prostih radikalov v celici naraste v stresnih razmerah (DHINDSA in sod., 1981). Najpogostejše aktivirane oblike kisika so singletni kisik (1O_2), superoksid ($O_2^- \cdot$) in hidroksilni radikal ($OH \cdot$) (ABELES, 1986).

2.3.5 VPLIV UV SEVANJA NA BIOKEMIJSKE IN FIZIOLOŠKE PROCESSE RASTLINE

2.3.5.1 Fotosinteza

Zmanjšano fotosintezno aktivnost pod vplivom povečanega UV-B sevanja so pokazali poskusi v rastlinjakih in na terenu, vendar številni avtorji tudi pišejo, da UV-B sevanje na fotosintezo ne vpliva ali jo spodbuja. Sullivan in sodelavci (1993) zanikajo povečanje fotosintezne aktivnosti pod vplivom UV-B sevanja, ker ti rezultati držijo le, ko jo izražamo na enoto površine, površina lista pa se pod vplivom UV-B sevanja pogosto zmanjša. Fotosintezna aktivnost, izražena na enoto klorofila, se pod vplivom UV-B sevanja ne poveča. Različen odziv rastline je odvisen od številnih dejavnikov, kot so odpornost rastline na UV sevanje, ontogenetska stopnja razvoja in interakcije UV sevanja z drugimi dejavniki okolja (BORNMAN & TERAMURA, 1993). Predvsem v zgodnjih stopnjah razvoja rastline ali njenih organov se pod vplivom UV sevanja intenziteta fotosinteze pogosto zmanjša (TERAMURA & CALDWELL, 1981).

Pri rastlinah, izpostavljenih UV-B sevanju, pride do zmanjšane fluorescence klorofila, ki je pokazatelj fotokemične učinkovitosti fotosistema II (FS II). Iz podobnosti strukture FS I in FS II bi sklepali, da UV sevanje prizadene oba sistema v enaki meri, vendar poskusi kažejo, da je občutljiv predvsem FS II (IWANZIK in sod., 1983; BORNMAN, 1989), in le redke meritve potrjujejo občutljivost FS I (VAN in sod., 1977). Zmanjšanje neto fotosinteze je pogosto večje, kot bi pričakovali glede na zmanjšano fotokemično učinkovitost FS II ali glede na povečano stomatarno upornost. To potrjuje, da UV-B sevanje deluje na različne komponente in procese, ki so udeleženi pri fotosintezi (ŁUKASZEK & POSKUTA, 1996; KUMAR in sod., 1998).

Posamezne komponente v kloroplastu so za UV sevanje različno občutljive. UV-B sevanje deluje neposredno na reakcijski center FS II ter zmanjšuje njegovo aktivnost (YU & BJÖRN, 1996), negativno deluje na center za oksidacijo vode (RENGER in sod., 1989), vpliva na razgradnjo D1 in D2 polipeptidov v FS II, s čimer se zmanjša število in afiniteta veznih mest za kinone (BARBER, 1987; JANSEN in sod., 1996), ter deluje na kinone neposredno, tako da zmanjšuje njihovo sposobnost redukcije (BORNMAN & TERAMURA, 1993). Pod vplivom povečanega UV-B sevanja pogosto pride do zmanjšanja vsebnosti fotosinteznih barvil, klorofilov in karotenoidov čeprav poznamo tudi primere, ko vsebnost fotosinteznih barvil naraste (BORNMAN, 1989; STRID in sod., 1990; MIDDLETON & TERAMURA, 1993). Yu in Björn (1997) sta ugotovila zmanjšano fosforilacijo polipeptidov, kar vpliva na spremembe v ekspresiji genov za antenska barvila v FS II. V temotni fazi fotosinteze se zmanjša aktivnost encima Rubisca (WILSON in sod., 1995) in vsebnost organskih kislin in sladkorjev, ki nastopajo v Calvinovem ciklu (TAKEUCHI in sod., 1989). Vzorec prenosa ekscitacijske energije med gradniki fotosistema se lahko spremeni (RENGER in sod., 1986). Ob

izpostavljenosti rastline UV-B sevanju se spremeni membrana kloroplastov, kar morda prispeva k zmanjšanju fotosintezne aktivnosti (KRAMER in sod., 1991).

Zmanjšanje neto fotosinteze spremlja povečana stomatarna upornost, ki je verjetno posledica zmanjšane koncentracijskega gradienta CO₂ med zunanostjo lista in medceličnim prostorom, do katerega pride zaradi zmanjšane aktivnosti Calvinovega cikla (TERAMURA in sod., 1983). Morda tudi izhajanje K⁺ ionov iz celic spremljevalk ob izpostavljenosti rastline UV-B sevanju vpliva na zapiranje listnih rež (MURPHY, 1983). Fotosinteza je lahko zmanjšana tudi posredno, zaradi spremenjene listne anatomije, ki prepušča manj fotosintezno aktivnega dela sevanja (TERAMURA & SULLIVAN, 1994).

2.3.5.2 Celično dihanje

Poskusi kažejo, da UV-B sevanje celično dihanje pospešuje ali pa nanj ne vpliva, kar potrjuje domnevo, da ima respiracija zaščitno vlogo pri rastlinah, izpostavljenih UV-B sevanju. Rastlina z dihanjem pridobi ATP in NADH₂ za metabolne procese, ki predstavljajo zaščitni odgovor rastline na povečano UV-B sevanje (ŁUKASZEK & POSKUTA, 1996).

2.3.6 VPLIV UV SEVANJA NA RAST IN RAZVOJ RASTLINE

UV sevanje različno učinkuje na rast in razvoj rastline, kar je odvisno od zaščitnih mehanizmov in ontogenetske stopnje razvoja rastline ter od interakcije UV-B sevanja z dejavniki okolja. Variabilnost odgovorov na povečane intenzitete UV-B sevanja pri rastlinah je zato velika (BORNMAN & TERAMURA, 1993). Rast in razvoj rastline sta odvisna od jakosti UV-B sevanja. Pogosto večja jakost UV-B sevanja deluje na rast bolj negativno kot majhne intenzitete sevanja. V nekaterih poskusih pa je prišlo do inhibirane rasti pri majhni intenziteti UV-B sevanja, pri višji intenziteti UV-B sevanje na rast ni vplivalo ali jo je celo pospešilo. Majhna jakost UV-B verjetno ne sproži zaščitnega odgovora rastline, zato lahko deluje bolj uničujoče kot večja jakost UV-B sevanja (DAY & DEMCHIK, 1996). Do inhibicije rasti pri rastlinah, izpostavljenih UV-B sevanju, pogosto pride kljub nespremenjeni fotokemični učinkovitosti FS II in inteziteti neto fotosinteze, zato predvidevamo, da je vzrok za manjšo rast v spremenjenem razporejanju ogljikovodikov (GONZALEZ in sod., 1996).

Pri listih, izpostavljenih UV-B sevanju, pogosto ugotovimo zmanjšanje specifične listne površine ter povečanje specifične listne teže zaradi povečane debeline lista (MURALI in sod., 1988; ADAMSE in sod., 1994). Do povečanja specifične listne teže pride na račun spremenjene listne anatomije, povečanega števila celic palisadnega ali gobastega tkiva ali podaljšanja celic palisadnega tkiva. Odgovor je specifičen za posamezno rastlinsko vrsto in verjetno predstavlja zaščitno pred prodiranjem UV-B sevanja v list (CEN & BORNMAN, 1990; BORNMAN & VOGELMANN, 1991). Skupno število listnih rež se zaradi manjše površine lista zmanjša (TEVINI in sod., 1986). Pri redkih rastlinah pride do povečanega nalaganja epikutikularnih voskov (BASIOUNY in sod., 1978), pogosto pa se spremeni njihova kemijska sestava (GONZALEZ in sod., 1996). Redko ob izpostavljenosti rastline UV-B sevanju pride do povečanja števila listov (LARSON in sod., 1990). Občutljiv parameter za UV-B sevanje je rast stebela. Ob povečanem UV-B sevanju se zmanjša suha teža stebel ter dolžina internodijev, kar pomeni nižje rastline (TEVINI in sod., 1986; SEARLES in sod., 1995). Tudi skupna suha teža rastline se pogosto zmanjša (GONZALEZ in sod., 1996). Posebna občutljivost za UV-B sevanje se kaže v času kalitve ter v zgodnjih stopnjah razvoja mlade rastline. UV-B kalitev zavira (CALDWELL in sod., 1979; FLINT & CALDWELL, 1984), vendar so številni tudi primeri, kjer do inhibicije ne pride. Občutljiva razvojna stopnja za UV sevanje je v času prehoda rastline od vegetativne k reproduktivni obliki (TERAMURA & SULLIVAN, 1987). Po izpostavljenosti rastline UV sevanju se pogosto spremeni čas cvetenja (MURALI & TERAMURA, 1986a).

2.3.7 ZAŠČITNI MEHANIZMI

Rastline so tekom evolucije razvile raznovrstne mehanizme, ki jim pomagajo preživeti v stresnih razmerah. Stres predstavljajo različni dejavniki okolja, kot so sevanje, temperatura, voda, razpoložljiva hranila, patogeni mikroorganizmi, herbivori ali polutanti, kadar ti odstopajo od optimalnih vrednosti. Rastline se na stresne dejavnike odzivajo na biokemijski in fiziološki ravni, kar se pogosto odraža v spremenjeni anatomiji, rasti in razvoju rastline. Stresni odgovor rastline je usmerjen v preprečevanje in popravljanje poškodb zaradi stresnega dejavnika, vendar v številnih primerih ni jasno, ali ima odgovor rastline zaščitno vlogo ali pa gre za poškodbo, ki jo je povzročil stres (ROBBERECHT in sod., 1980; TEVINI & TERAMURA, 1989). Prepoznavanje zaščitnih odgovorov, ki se razvijejo pod vplivom UV-B sevanja, je zapleteno tudi zaradi kompleksnega delovanja dejavnikov okolja. Spremembe, kot so zmanjšanje listne površine, povečanje listne debeline in povečano nalaganje epikutikularnih voskov, smatramo za zaščitne modifikacije rastline pod povečanim UV-B sevanjem, čeprav odgovor ni specifičen le za povečano UV-B sevanje. V celici pride ob izpostavljenosti rastline UV-B sevanju do naraščanja vsebnosti nekaterih UV-B absorbirajočih snovi, fotosinteznih barvil, zaščitnih snovi in encimov s popravljalno vlogo (BORNMAN & TERAMURA, 1993).

2.3.7.1 UV-B absorbirajoče snovi

Flavonoidi, vodotopni fenolovi derivati in sorodne fenolove spojine, ki vključujejo flavonole, flavonone, flavone, katehine, halkone, antocianine in druge, imajo pomembno vlogo pri zaščiti rastline pred UV sevanjem. Ti sekundarni metaboliti dobro absorbirajo sevanje v UV-B delu spektra z vrhom okrog 300 nm (BORNMAN in sod., 1986; ENSMINGER & SCHÄFER, 1992) in učinkovito vežejo aktivirane oblike kisika (LONCHAMPT in sod., 1989), hidrosilne radikale (CUADRA & HARBORNE, 1996) in peroksi-radikale (TAKAHAMA, 1988). Prodiranje UV-B sevanja v list s povečevanjem vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi pada, toleranca rastline do UV-B sevanja pa pogosto narašča (DAY in sod., 1992; BRAUN & TEVINI, 1993; BORNMAN & TERAMURA, 1993; SATO & KUMAGI, 1997). Vendar povezava med vsebnostjo UV-B absorbirajočih snovi in odpornostjo rastline proti UV-B sevanju ni vedno enostavna, ker odpornost pogojujejo tudi drugi zaščitni mehanizmi (ADAMSE & BRITZ, 1996).

Flavonoidi in sorodne spojine se v celici nahajajo v vakuoli (MARKHAM, 1982), v celični steni (FRY, 1979; STRACK in sod., 1988) in kloroplastih. Flavonoidi, kovalentno vezani v celični steni, ki se z alkoholi ne ekstrahirajo, so pomembne UV-B absorbirajoče snovi pri iglavcih, pri zelnatih rastlinah pa je njihov delež zanemarljiv. Zelnote rastline pred UV-B sevanjem ščitijo topni flavonoidi v vakuoli. (DAY in sod., 1993). Flavonoide najdemo v listih, kličnih listih, stebelu

in deblu (BORNMAN & TERAMURA, 1993). Pri višjih rastlinah izmerimo največje vsebnosti flavonoidov v listni epidermidi in zgornjem mezofilu (ROBBERECHT & CALDWELL, 1978; JAHNEN & HAHLBROCK, 1988). Vsebnosti v epidermidi nihajo med 1 in 10 mM (VIERSTRA in sod., 1982).

Vsebnost topnih flavonoidov, pri rastlinah izpostavljenih polnemu sončnemu sevanju, od zore do poldneva pogosto narašča, popoldan in zvečer pa upada. Koncentracije flavonoidov pri rastlinah, ki jih ne doseže UV-B sevanje, ne nihajo (VEIT in sod., 1996). Flavonoidi se sintetizirajo v tkivih, izpostavljenih UV-B sevanju, in se praviloma ne prenašajo v sosednja tkiva (LOIS, 1994).

Sintezo flavonoidov inducirajo UV-B in UV-A sevanja ter modra in rdeča svetloba. Od omenjenih spektralnih delov sevanja je odvisen kvantitativen in kvalitativen vzorec flavonoidov v rastlini (BORNMAN & TERAMURA, 1993). Receptorji, preko katerih poteka indukcija biosinteze UV-B absorbirajočih snovi, so UV-B fotoreceptor, fitokrom in kriptokrom, receptor za UV-A in modro svetlobo. Gene za sintezo UV-B absorbirajočih snovi lahko UV sevanje aktivira tudi z neposrednim delovanjem na DNK (WELLMANN, 1975; BRUNS in sod., 1986; BJÖRN, 1998). Akcijski spektri, ki sprožijo biosintezo različnih flavonoidov, se med seboj nekoliko razlikujejo. Akcijski spekter za antocianin ima glavni absorpcijski vrh pri 290 nm in tri manjše v UV-A, modrem in rdečem delu spektra (YATSUHASHI in sod., 1982). Indukcija sinteze flavonglikozida poteka ob aktivaciji UV-B in fitokromnih receptorjev (DRUMM-HERREL & MOHR, 1981; DUELL-PFAFF & WELLMANN, 1982).

Pri rastlinah, izpostavljenih UV-B sevanju, je izražena večja aktivnost genov fenilpropanoidnega in flavonoidnega metabolizma (SCHMELZER in sod., 1988; KUBASEK in sod., 1992). V obsevanem tkivu izmerimo povečane vsebnosti encimov flavonoidne poti, in sicer kalkon sintetaze (CHS) (HAHLBROCK & SCHEEL, 1989), fenilalanin-amonij liaze (PAL), kalkon-flavonon izomeraze (CHAPPELL & HALBROCK, 1984) in 4-kumarat-CoA liaze (DOUGLAS in sod., 1987). UV-B vpliva tudi na naraščanje vsebnosti reduciranega glutationa (GSH), signalne molekule pri biosintezi flavonoidov (WINGATE in sod., 1988). Do povečane sinteze flavonoidov lahko pride ob dodajanju vodikovega peroksida, kar nakazuje, da ta spojina sodeluje pri oksidaciji flavonolov (TAKAHAMA in sod., 1989). Verjetno pri regulaciji biosinteze flavonoidov sodelujejo še drugi dejavniki.

2.3.7.2 Fotosintezna barvila

Poskusi so pokazali neposredno pozitivno korelacijo med vsebnostjo karotenoidov in fotosintezno aktivnostjo rastline (MIDDLETON & TERAMURA, 1993). Karotenoidi so del kompleksa antenskih barvil in sodelujejo pri zaščiti fotosinteznega aparata pred poškodbami zaradi prekomerne ekscitacije, in sicer z oddajanjem presežne energije sevanja v obliki toplote. Do prekomerne ekscitacije klorofila pride najprej pri rastlinah, ki so izpostavljene stresnim dejavnikom, tudi UV-B sevanju (RAU in sod., 1991; MIDDLETON & TERAMURA, 1994). V procesu oddajanja presežne energije sevanja v obliki toplote sodelujejo predvsem karotenoidi ksantofilnega cikla (DEMMIG-ADAMS, 1990; MELIS in sod., 1992). Pod vplivom UV-B sevanja lahko pride tudi do povečanja vsebnosti klorofilov (BORNMAN, 1989; STRID in sod., 1990; MIDDLETON & TERAMURA, 1993).

Pri sintezi karotenoidov in klorofilov sodelujejo UV-B, UV-A in modra svetloba (RAU & SCHROTT, 1987). Campos in sod. (1991) pa so pokazali, da UV-B sevanje sproži prepisovanje encima 3-hidroksil-3-metilglutaril CoA reduktaze, ki je odgovoren za povečano sintezo karotenoidov.

2.3.7.3 Epikutikularni voski

Epikutikularni voski, zmes visokonepolarnih lipidov, prispevajo k večjemu odboju sevanja. Ekološki pomen imajo voski predvsem pri rastlinah z večjih nadmorskih višin, kjer je intenziteta celotnega spektra sevanja velika (CLARK & LISTER, 1975). Voščena plast odbije med 10 in 20% UV-B sevanja, ki pade na list (ROBBERECHT in sod., 1980). Na izgradnjo epikutikularnih voskov poleg UV-B in vidnega sevanja vplivajo še drugi okoljski dejavniki, kot sta temperatura in relativna zračna vlaga (HULL in sod., 1975).

UV-B sevanje lahko vpliva na biosintezo epikutikularnih voskov, in sicer na debelino voskaste prevleke ter na kemijsko zgradbo (STEINMÜLLER & TEVINI, 1985). Poskusi na iglavcih niso pokazali povečane sinteze voskov, pač pa spremenjeno kemijsko sestavo (GORDON in sod., 1998). Vendar nimamo dokazov, da bi povečana ali spremenjena biosinteza epikutikularnih voskov značilno prispevala k večjemu odboju UV-B sevanja z lista in večji odpornosti rastline proti UV-B sevanju (GONZALEZ in sod., 1996).

2.3.7.4 Zaščitne snovi

2.3.7.4.1 Fitoaleksini

Fitoaleksini so fenolne snovi z majhno molekulsko maso, ki pripadajo različnim kemijskim skupinam, predvsem izoflavonoidom, terpenoidom, poliacetilenom in dihidrofenantrenom. Fitoaleksini so ena izmed skupin stresnih metabolitov; njihovo sintezo inducirajo stresni dejavniki, kot so sevanje, temperatura, voda, razpoložljivost hranil in različna onesnažila, kot so težke kovine, plini, pesticidi, ter nadalje herbivori, patogeni in poškodbe (DIXON in sod., 1983). Fitoaleksini skupaj z drugimi stresnimi odgovori povečujejo odpornost rastline na stres (KUĆ, 1984).

Poskusi kažejo pozitivno korelacijo med veliko vsebnostjo fitoaleksinov in UV-C sevanjem (BRIDGE & KLARMAN, 1973). Poskus na navadni konoplji je pokazal povečane vsebnosti kanabinoidov pod dodatnim UV-B sevanjem, kar pa ni prispevalo k povečani toleranci rastlin do UV-B sevanja. Morda je bil razlog v velikih vsebnostih flavonoidov, zaradi katerih so rastline že bile precej odporne proti UV-B sevanju (LYDON in sod., 1987).

2.3.7.4.2 Antioksidanti

Antioksidanti varujejo rastlino pred poškodbami s prostimi radikali in aktiviranimi oblikami kisika, ki se tvorijo pod vplivom UV sevanja.

Vlogo ključnega antioksidanta v kloroplastih in mitohondrijih ima superoksid dismutaza (RICH & BONNER, 1987; HALLIWELL, 1984a). Drugi pomembni encimi, ki sodelujejo v procesih odstranjevanja aktiviranih oblik kisika, so askorbat peroksidaza, dehidroaskorbat reduktaza in glutation reduktaza. Encimi sodelujejo v Mehlerjevi in askorbat peroksidazni reakciji, kjer se superoksid ($O_2^- \cdot$) preko vmesnih stopenj reducira do vode (MACKERNESS-SOHEILA in sod., 1998). Murali in sod. (1988) so pokazali, da pride pri povečanih intenzitetah UV-B sevanja v izpostavljenih tkivih do povečane vsebnosti izoencimov peroksidaze. Glutation (GSH) sodeluje pri odstranjevanju singletnega kisika (1O_2), superoksida ($O_2^- \cdot$), vodikovega peroksida (H_2O_2) in hidroksilnega radikala (OH^{\cdot}) (LARSON, 1988). α -tokoferol je glavni lovilec prostih radikalov v lipidni plasti membran in učinkovito reagira s kisikovimi radikali, ki so odgovorni za peroksidacijo lipidnih plasti. Tudi β -karoten učinkovito reagira s kisikovimi radikali (LARSON, 1988). Glavni zaščitni encim v citoplazmi je halkon sintaza (STRID in sod., 1996). Kot antioksidanti delujejo tudi askorbinska kislina, urična kislina in številni flavonoidi. Izredno veliko antioksidacijsko učinkovitost kažejo flavonoidi z več hidroksilnimi skupinami (LARSON, 1988).

2.3.7.4.3 Poliamini

Poliamini, preproste alifatske spojine, so produkt dušikovega metabolizma, ki se tvorijo predvsem v stresnih razmerah in igrajo vlogo zaščitnih molekul (FLORES, 1990). Poliamini vežejo proste radikale (BORS in sod., 1989). Ob izpostavljenosti rastline UV-B sevanju se povečajo vsebnosti poliaminov spermidina, spermina in prekursorja putrescina, ki inhibirajo peroksidacijo lipidov in stabilizirajo strukturo membranskih dvoplasti (KRAMER in sod., 1991).

2.3.7.5 Popravljanje poškodovane DNK

Mesta na DNK, kjer je prišlo do nastanka pirimidinskih ali ciklobutanskih in timinskih dimerov, rastline popravljajo na dva načina, preko fotoreaktivacije ali ekscizije. Fotoreaktivacija, od svetlobe odvisno popraviljanje, poteče s pomočjo UV-A ali modre svetlobe in encimov fotoliaz, ki DNK popolnoma popravijo (YASUI in sod., 1994). Poteka v vseh organelih, ki vsebujejo DNK, v jedru, kloroplastih in mitohondrijih (STAPLETON in sod., 1997). Ekscizija okvarjenih mest DNK poteka tudi pri majhni svetlobni intenziteti (PANG & HAYS, 1991), vendar je proces energetsko zahteven, obnavljanje prvotnega zaporedja baz pa ni popolnoma pravilno (QUAITE in sod., 1994). Ekscizija je v optimalnih svetlobnih razmerah precej manj intenzivna kot popraviljanje s pomočjo fotoliaz (BJÖRN, 1998). Ob majhnem številu dimerov (manj od 30 dimerov na milijon baz) rastlina popravilja napake le s pomočjo fotoreaktivacije. Pri večjem številu napak sta vključena oba popraviljalna mehanizma (QUAITE in sod., 1994).

2.4 INTERAKCIJE UV SEVANJA IN OKOLJSKIH DEJAVNIKOV

Fotosintezno aktivni del sevanja, temperature razmere, razpoložljiva voda in hranila, vsebnost ogljikovega dioksida, onesnažila, okužbe in poškodbe rastline v interakciji z UV sevanjem delujejo sinergistično, antagonistično ali nevtrarno; odgovor rastline je odvisen od interakcije okoljskih dejavnikov in rastline.

2.4.1 SEVANJE

Odgovor rastline na sevanje je pogosto interakcija med procesi, ki jih sprožijo UV-B, UV-A, rdeča ter daljna rdeča in modra svetloba preko različnih fotoreceptorjev (UV-B fotoreceptorja, fitokroma ali kriptokroma). V nekaterih procesih so udeleženi vsi trije receptorji, v drugih en sam (MOHR, 1994; LERCARI in sod., 1990; BRANDT in sod., 1995). Odgovori rastline so lahko zelo podobni, čeprav jih sproži sevanje različnih spektralnih delov preko različnih fotoreceptorjev (BJÖRN, 1998). Mehanizmi odgovorov rastline na sevanje so zato precej zapleteni in v številnih primerih še nejasni.

Pri rastlini, ki je izpostavljena UV-B sevanju in ima poškodovan fotosintezni aparat, do fotoinhibicije pride pri manjših vrednostih PPFd kot pri neizpostavljene rastlini. Prevelike vrednosti PPFd in UV-B delujejo fotoinhibitorno, zmanjša se delež pretvorjene svetlobne energije v kemijsko. V prvi fazi fotoinhibicije gre za nefotokemično oddajanje presežne ekscitacijske energije FS II, v končni fazi pa pride do fotooksidacijskih poškodb fotosinteznega aparata (HIDEG & MURATA, 1997).

Številni poskusi (TERAMURA, 1980; WARNER & CALDWELL, 1983; CEN & BORNMAN, 1990) pa so pokazali pozitivno delovanje fotosintezno aktivnega dela sevanja (PAR) na rastlino, ki je bila hkrati izpostavljena UV-B sevanju. Pozitiven vpliv je lahko posledica fotoreaktivacije, kjer pride do popravljanja dimerov celične DNK s pomočjo fotoliaz (BJÖRN, 1998) ali do drugih procesov, kot na primer povečane biosinteze zaščitnih snovi, flavonoidov in poliaminov (HUSAIN in sod., 1987). Pri rastlini, izpostavljeni saturacijskim vrednostim PPFd, se zmanjša negativen vpliv UV-B na biosintezo encima Rubisco, polipeptidov D1 in D2 fotosistema II, polipeptidov A in B fotosistema I (JORDAN in sod., 1991), zmanjša se tudi peroksidacija lipidov (MURALI in sod., 1988). Ob saturacijskih vrednostih PPFd se zmanjšuje negativen vpliv UV-B na fiziološke procese, na fotosintezo, respiracijo in stomatarno prevodnost. UV-A in modra svetloba pozitivno delujeta na število kloroz in zmanjševanje specifične listne teže, ki ju inducira UV-B sevanje (ADAMSE & BRITZ, 1996). Ob sočasni izpostavljenosti rastline UV-B in PAR lahko pri nekaterih vrstah pride celo do povečanja biomase. PAR tudi posredno deluje na odpornost rastline proti UV sevanju. Velike vrednosti PAR vplivajo na morfologijo rastline: listi so debelejši, površina listov pa se zmanjša, kar tudi nekoliko doprinese k manjši prepustnosti lista za UV-B (WARNER & CALDWELL, 1983).

2.4.2 TEMPERATURNE RAZMERE

Zaradi globalnega naraščanja temperature so raziskave delovanja UV-B sevanja v interakciji z ekstremnimi temperaturami usmerjene predvsem k visokim temperaturam. Poskusi so pokazali pozitivni in negativni vpliv sočasnega delovanja visokih temperatur in UV-B sevanja na rastline.

Visoke temperature inhibirajo delovanje fotolize, ki v ugodnih svetlobnih razmerah popravlja dimere DNK. Optimalna temperatura za delovanje encima je med 22°C in 30°C, višje temperature pa fotopopravljanje zavirajo (PANG & HAYS, 1991). Pri poskusu na štirih rastlinskih vrstah, izpostavljenih UV-B sevanju in temperaturam med 28°C in 32°C, je pri dveh vrstah ob višjih temperaturah prišlo do povečanja suhe teže rastlin, pri drugih pa temperaturne razmere na rast niso vplivale (TERAMURA in sod., 1991). Visoke temperature so v naravi pogosto povezane s pomanjkanjem vode. Pri poskusu na soji (*Glycine max*) UV-B sevanje na rast rastlin ni vplivalo v vročih, suhih sezonah, medtem ko se je v hladnih, deževnih sezonah rast značilno zmanjšala (TERAMURA in sod., 1990a).

2.4.3 VSEBNOST OGLJIKOVEGA DIOKSIDA

Povprečna vsebnost CO₂ v atmosferi, ki se giblje okrog 350 ppm, predstavlja omejujoč faktor predvsem za fotosintezo C₃ rastlin. Po napovedih naj bi v atmosferi v naslednjih 30 do 75 letih dosegli vsebnost 600 ppm CO₂, naraščanje vsebnosti CO₂ pa naj bi doprineslo k povečani fotosintezi in pospešeni rasti C₃ rastlin. V novejših raziskavah želijo preučiti vpliv povečanih vsebnosti CO₂ v interakciji s povečanim UV-B sevanjem na rastline.

Sadike pšenice, riža in soje so izpostavili UV-B sevanju pri dveh različnih vsebnostih CO₂, 350 ppm in 650 ppm. UV-B sevanje pri normalni vsebnosti CO₂ ni vplivalo na rast in pridelek nobene od vrst. Pri povečanih vsebnostih CO₂ sta bila pridelek in biomasa značilno manjša pri C₄ rastlinah, pri soji pa sta ostala nespremenjena (TERAMURA in sod., 1990b). Podoben poskus na dveh kultivarjih riža sta izvedla Ziska in Teramura (1992). Pri obeh kultivarjih je prišlo do naraščanja neto fotosinteze, biomase in pridelka ob povečanih koncentracijah CO₂. Ob dodatnem obsevanju rastlin z UV-B je pozitiven vpliv velike vsebnosti CO₂ delno ali popolnoma izginil. Poskusi kažejo, da bi pod vplivom UV-B sevanja in ob povečani atmosferski vsebnosti CO₂ verjetno prišlo do zmanjšanja pridelka predvsem pri C₄ rastlinah.

2.4.4 RAZPOLOŽLJIVA VODA

Rastline v naravi so izpostavljene dnevnim in letnim nihanjem razpoložljive vode, ki pogosto sovpadajo z nihanjem UV sevanja. Sočasnemu delovanju vodnega stresa in UV-B sevanja so zato pri raziskavah namenili precej pozornosti (SCHULZE, 1986).

Vodni stres preko indukcije zaščitnih snovi, ki absorbirajo v UV-B spektralnem delu sevanja, dodatno poveča odpornost rastlin proti UV-B sevanju pri relativno odpornih rastlinah, ne doprinese pa k odpornosti pri občutljivih rastlinah (TEVINI in sod., 1983 a). Laboratorijska poskusa, ki so ju izvedli Teramura in sodelavci (1984a, 1984b), sta pokazala hitrejšo in bolj popolno obnovitev fotosintezne aktivnosti po vodnem stresu pri rastlinah, ki so bile izpostavljene UV-B sevanju, kot pri tistih, ki niso bile obsevane. Mehanizem, preko katerega UV-B spodbudi obnovitev fotosintezne aktivnosti, zaenkrat ni poznan, ugotovili pa so, da ne gre za neposredni vpliv UV-B sevanja na vodni potencial rastline. Terenski poskusi niso potrdili povečanja fotosintezne aktivnosti ali biomase ob sočasnem delovanju vodnega in sevalnega stresa. Povečano UV-B sevanje je pri dobro zalitih rastlinah prispevalo k zmanjšanju neto fotosinteze, listne površine in skupne suhe teže. Pri rastlinah, ki so rastle v sušnih razmerah, po obsevanju z UV-B ni bilo dodatnih sprememb. Vodni stres vpliva na zmanjšanje fotokemične učinkovitosti fotosistema, zmanjšanje stomatarne prevodnosti, povečanje vsebnosti zaščitnih snovi in zmanjšanje listne površine ter povečanje debeline lista, spremembe se skupaj izražajo kot zavrta rast. UV-B sevanje torej značilno negativno vpliva na rast dobro zalitih rastlin, v sušnih razmerah pa je vpliv sevanja prikrit (MURALI & TERAMURA, 1986b).

2.4.5 HRANILA

Rastline za normalno rast in razvoj potrebujejo 16 (17) esencialnih elementov, ki so udeleženi v različnih fizioloških procesih. Pomanjkanje elementa inhibitorno deluje na določene procese, kar se izraža v ovirani rasti in razvoju rastline. Domnevamo, da ima pomanjkljiva mineralna prehrana v interakciji z UV stresom na rastlino dodaten negativen vpliv.

Rastline soje so gojili pri optimalni in pri zmanjšani preskrbi s fosforjem ter jih obsevali z UV-B. Pri rastlinah s primanjkljajem fosforja je bila inhibicija rasti po izpostavitvi UV-B sevanju relativno manjša kot pri rastlinah, ki so bile optimalno preskrbljene s fosforjem. Pomanjkanje fosforja pri rastlini izzove povečanje biosinteze zaščitnih snovi, z absorpcijskim vrhom v UV-B spektru sevanja, ter spremembe listne anatomije, ki se odražajo v povečani debelini lista, kar deluje kot zaščita pred UV-B sevanjem, obenem pa prikriva spremembe, ki so nastale zaradi UV-B sevanja (MURALI & TERAMURA, 1985a,b). Kratkotrajni poskusi v rastlinjaku z

optimalno mineralno preskrbo so pokazali, da UV-B sevanje zavira rast solate (*Lactuca sativa*), ne vpliva pa na rast alpske kislice (*Rumex alpinum*), aklimatizirane na sevanje v visokogorju. Pri dolgotrajnih poskusih UV-B sevanje ni imelo vpliva na rast nobene od rastlin v razmerah, kjer je bila preskrba z minerali optimalna, ob pomanjkanju mineralov pa je sevanje na rast vplivalo negativno (BOGENRIEDER & DOUTE, 1982).

2.5 VPLIV UV-B SEVANJA NA DREVESNE VRSTE

Drevesa so redko poskusni objekt raziskav vplivov UV sevanja. Pri trajnicah pride do kumulativnega učinka UV sevanja; zanima nas, do katere mere se je rastlina sposobna zaščititi pred sevanjem in popravljati poškodbe, kadar je več let izpostavljena majhnim intenzitetam sevanja, kakršne so razmere v naravi.

Poskus na štirih listnatih drevesnih vrstah, bukvi, ostrolistnem javorju, belem gabru in velikem jesenu, ki si jih gojili pod filtrom, s katerim so odstranili UV-B, ter pod polnim spektrom dnevne svetlobe, je pokazal značilno povečanje biomase dreves, ki so se razvijala brez UV-B dela spektra. Domnevali so, da že današnje intenzitete UV-B sevanja inhibitorno vplivajo na rast nekaterih rastlin (BOGENRIEDER & KLEIN, 1982). Enake rezultate so dobili s poskusi na nekaterih tropskih drevesnih vrstah (SEARLES in sod., 1995).

Na iglavcih z višjih nadmorskih leg (*Picea engelmannii*, *Pinus contorta*), ki so jih izpostavili povečanemu UV-B sevanju, po končanem poskusu niso opazili nobenih anatomskih ali morfoloških sprememb (KAUFMANN, 1978). V nadaljnjih poskusih so želeli ugotoviti odpornost proti UV-B sevanju pri iglavcih z različnih nadmorskih višin (KOSSUTH & BIGGS, 1981; GJERSTAD & BARBER, 1978; SULLIVAN & TERAMURA, 1988). Po izpostavitvi sadik normalnim in povečanim intenzitetam UV-B sevanja so primerjali spremembo biomase pri posamezni vrsti. Biomasa je pod povečanimi intenzitetami UV-B narasla pri visokogorskih vrstah, *Picea engelmannii* in *Abies concolor*, nespremenjena je ostala pri *Abies fraseri*, *Pseudotsuga menziesii*, *Pinus nigra* in *Pinus edulis*, značilno zmanjšanje pa so izmerili pri kolinski vrsti *Pinus taeda*. Rastlinske vrste, ki uspevajo na visokih nadmorskih legah, kjer so odmerki UV-B sevanja veliki, so bolj odporne na UV-B kot rastline kolinskega pasu. Eden od vzrokov za odpornost rastlin z montanskih in alpskih rastišč proti UV-B sevanju je majhna prepustnost epidermide za UV-B v primerjavi z nižinskimi vrstami (ROBBERECHT in sod., 1980). Poskusi na iglavcih in listavcih so pokazali, da zmanjšanja biomase in dolžine listov ne spremlja vedno zmanjšanje fotosintezne aktivnosti. Fotosintezna aktivnost ostaja nespremenjena zaradi majhnega prodiranja UV-B v mezofil (DILLENBURG in sod., 1995; SULLIVAN in sod., 1996). Do zavrte rasti lista pa kljub temu verjetno pride zaradi odebeljevanja celičnih sten epidermide pri povečanih intenzitetah UV-B sevanja, kar preprečuje nadaljnjo rast epidermalnih celic (LIU & McCLURE, 1995; SULLIVAN in sod., 1996).

Sullivan in Teramura (1992) sta pokazala, da bi bilo potrebno raziskati kumulativni učinek UV-B sevanja na večletne rastline. Po enem letu obsevanja *Pinus taeda* z UV-B je prišlo do zmanjšanja biomase pri sadikah z nekaterih rastišč, po treh letih izpostavljenosti povečanemu UV-B sevanju se je biomasa poganjkov in koreninskega sistema zmanjšala pri vseh rastlinah, ne glede na njihovo rastišče. Fotosintezna aktivnost je pri večini rastlin ostala nespremenjena, kar kaže na spremembo razmerij v porabi energije pri obsevanih rastlinah.

2.6 VPLIV UV-B SEVANJA NA EKOSISTEM

Vpliv povečanega UV sevanja na gozdni ekosistem je slabo poznan, vendar pomemben, saj gozdne rastline prispevajo blizu 80% biomase vseh kopenskih ekosistemov.

Povečanje UV-B sevanja se odraža v subtilnih biokemijskih, anatomskih in morfoloških spremembah rastlin precej bolj pogosto kot v spremembi primarne produkcije, vendar biokemijske in morfološke spremembe lahko pomaknejo kompetitivno ravnotežje v prid druge rastlinske vrste. Vrste, ki so bolj odporne na UV-B sevanje, nadomestijo občutljivejše vrste, rezultat te dinamike pa je lahko sprememba biotske raznovrstnosti ekosistema (BARNES in sod., 1988; 1990). UV-B sevanje sproža delovanje fenilpropanoidne poti, preko katere nastajajo flavonoidi in lignin. Tako se spremeni kemična obramba rastline pred patogeni in herbivori ter dekompozicija rastlinskega tkiva v tleh (CALDWELL in sod., 1989; GWYNN-JONES in sod., 1997). Spremenjena vsebnost dušikovih spojin v rastlinskem tkivu, do katere pride po povečanem UV-B obsevanju, vpliva na sestavo mikrofavne, ki se hrani z rastlinskim tkivom (ROUSSEAU in sod., 1998; SEARLES in sod., 1998). Spremembe biokemijskih poti zaradi povečanega UV-B sevanja torej posredno lahko vplivajo tudi na kompetitivno ravnotežje med vrstami in številčnost vrste v nekem ekosistemu.

3 MATERIAL IN METODE DELA

3.1 POSKUSNE RASTLINE

Seme poskusnih rastlin smreke (*Picea abies* (L.) Karst.) izvira iz semenskega sestojka Hrušica, nabrano je bilo v semenskem letu 1996. Naključno izbrano seme, namenjeno vzgoji rastlin, je bilo posejano leta 1997 v rastlinjaku. Sejanke so v prvem letu rasle v kontroliranih razmerah, brez UV-B sevanja. Enoletne rastline smo izpostavili zunanjim razmeram oktobra 1998. Seme, namenjeno ugotavljanju vpliva UV-B sevanja na kalitev, smo kalili aprila 1999 na prostem.

3.2 POSKUSNE RAZMERE

3.2.1 SEJANKE SMREKE

Poskus smo nastavili na prostem, v Botaničnem vrtu Univerze v Ljubljani, jeseni 1998. Meritve na mladih smrekah smo opravljali enkrat mesečno, od zime do jeseni 1999. V poletnih mesecih smo rastline občasno zalivali z vodovodno vodo, tako da jih vodni stres ni prizadel. Posadili smo jih v mešanico šotne prsti in listavke v razmerju 1:1, ki vsebuje zadostno količino hranil. Smreke smo posadili v treh paralelkah po petdeset rastlin v glinasta korita.

Smreke so rasle pod različnimi sevalnimi razmerami. Sistem osvetljevanja smo povzeli po Caldwellu in sodelavcih (1983). Pripravili smo tri sisteme tretiranj z različnimi jakostmi UV-B sevanja, da bi se vsaj deloma izognili navidezno linearni zvezi med UV-B sevanjem in odgovorom rastline, ki bi jo dobili na podlagi dveh tretiranj. Na prvi ploskvi so bile sejanke izpostavljene zunanjemu sevanju, vendar pretežno brez UV-B spektra, na drugi ploskvi sevanju z dodatnim UV-A spektrom sevanja ter na tretji ploskvi sevanju z dodatnim UV-B in UV-A spektralnim delom, ki je po jakosti ustrezal 17% stanjšanju ozonske plasti, kar predstavlja od 35 do 58% povečanje biološko aktivnega UV-B_{BE} sevanja (Tabela 1.). UV-B spekter sevanja smo prestregli s pomočjo poliestrskega filtra. Za dodatno UV-A in UV-B sevanje smo postavili fluorescentne luči (Q-Panel 313) en meter nad rastlinami. Z lučmi, ovitimi v poliestrski filter, smo kontrolnim rastlinam dodajali UV-A spektralni del, z lučmi in celulozno diacetatnim filtrom, ki ne prepušča krajših valovnih dolžin od 280 nm, pa UV-A in UV-B sevanje.

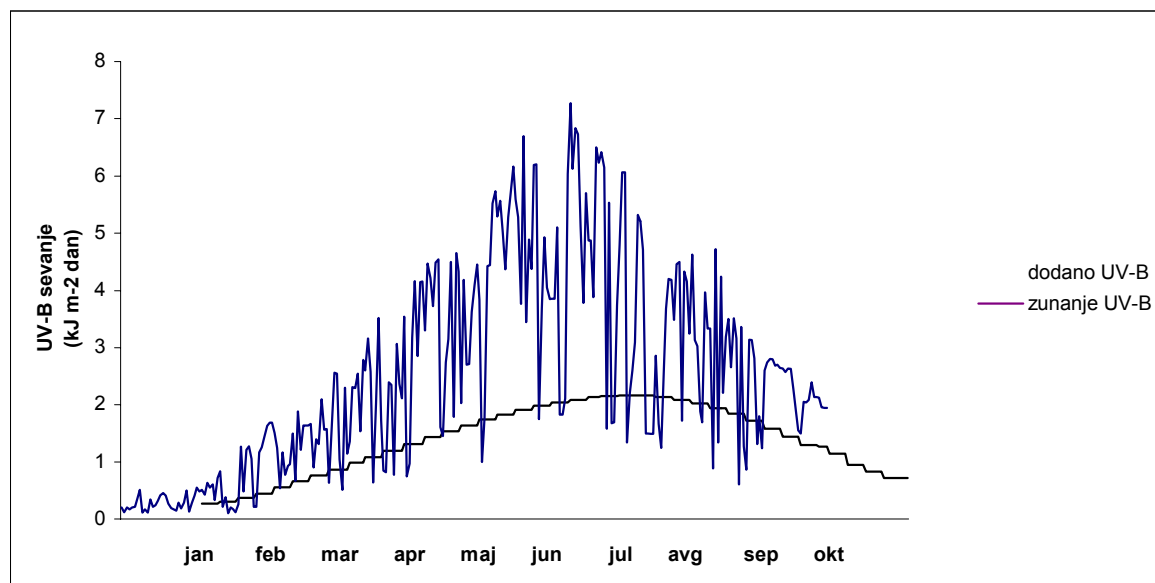
V prvem tretiranju smo odstranili celotni UV spekter sevanja, vendar pri nekaterih rastlinah tudi odsotnost UV-A sevanja spremeni določene biokemijske in fiziološke značilnosti organizma (NEWSHAM in sod, 1996). Pri postavitvi te poskusne ploskve se zelo težko izognemo zmanjšanju relativne zračne vlažnosti in povečanju temperature, ki dodatno vpliva na nekatere biokemijske, fiziološke in morfološke značilnosti rastline. Prednost te kontrole je primerljivost z

rezultati poskusov, izvedenih na drugih nadmorskih višinah in zemljepisnih širinah, kjer so ambientalne jakosti sevanja različne. Pri drugi kontroli smo rastlinam, ki so uspevale v zunanjih sevalnih razmerah, dodajali UV-A spekter enake jakosti, kot je bilo dodatno UV-A sevanja pri rastlinah s tretje ploskve. V tretjem tretiranju smo rastline obsevali z UV-A in UV-B spektrom.

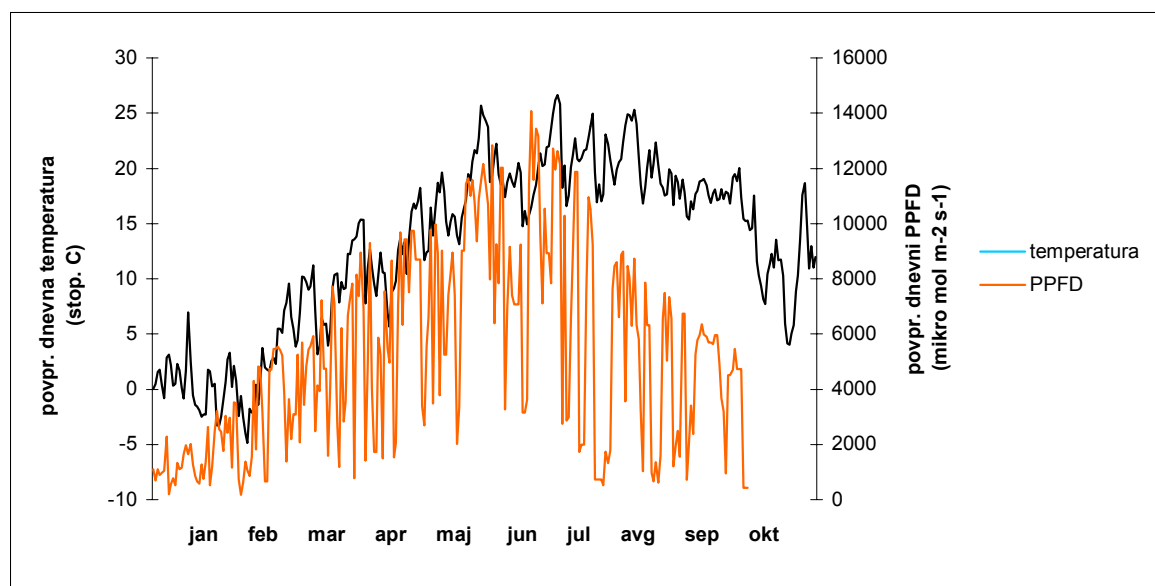
Tabela 1. Povprečno mesečno povečanje biološko aktivnega dela sevanja UV-B_{BE} pod tretiranjem z dodatnim UV-B sevanjem napram tretiranju v zunanjih razmerah; dod.: dodatno UV-B sevanje, izmer.: izmerjeno UV-B sevanje.

| | jan | feb | mar | apr | maj | jun | jul | avg | sep | okt | nov | dec |
|------------------------------------|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|
| dod. UV-B / izmer. UV-B (%) | | 52,6 | 47,9 | 52,7 | 56,9 | 58,3 | 40,5 | 35,1 | 35,3 | | | |

Dodatno UV-A in UV-B sevanje je ustrezalo 17% zmanjšanju ozonske plasti na znani lokaliteti (nadmorska višina in zemljepisna širina) ob določenem letnem času, odmerke dodatnega sevanja smo sproti prilagajali. Sevanje smo dodajali v opoldanskih urah, ko je bilo tudi naravno UV-B sevanje največje. Celoten odmerek sevanja smo dodali v času, ko so rastline prejele med 70 in 87% naravnega UV-B sevanja. Odmerke dodatnega in zunanjega biološko učinkovitega UV-B sevanja (UV-B_{BE}) na poskusni ploskvi prikazuje Graf 1. Zunanje UV-B, UV-A in PAR sevanje (Graf 2.) smo merili z dozimetrom (Eldonet), nameščenim na strehi Biološkega središča v Ljubljani. V Botaničnem vrtu smo beležili tudi temperaturo zraka (Data Logger, Li-Cor) (Graf 2.).



Graf 1. Zunanji in dodatni odmerki biološko učinkovitega UV-B_{BE} sevanja na poskusni ploskvi v Botaničnem vrtu Univerze v Ljubljani.



Graf 2. Povprečni dnevni odmerki fotosintezno aktivnega dela sevanja in povprečne dnevne temperature na poskusni ploskvi v Botaničnem vrtu Univerze v Ljubljani.

3.2.2 KALITEV

Suho seme smreke (*Picea abies* (L.) Karst.), namenjeno kalitvi, smo izpostavili enakim sevalnim razmeram kot sejanke. S poskusom smo pričeli meseca aprila, ko so se najvišje dnevne temperature gibale med 12 in 20°C.

Za vsako tretiranje smo naključno izbrali štirikrat sto suhih semen smreke in jih zložili v plastične posode. Dno posod smo prekrili z desetimi plastmi filter papirja, ki smo ga med poskusom redno vlažili z deionizirano vodo (ISTA, 1985). Posode smo prekrili s celulozno diacetatno folijo, ki je preprečila stekanje padavinske vode v posode. Folijo smo prilepili le z dveh strani, da smo zagotovili čimboljši pretok zraka. Kaleča semena smo preštevali na tri do sedem dni. Kaleče seme smo prepoznali, ko se je pokazala radikula. Mednarodna zveza za preskušanje semen (International Seed Testing Association - ISTA) priporoča štetje sedmi, štirinajsti in enaindvajseti dan od nastavitve poskusa, vendar poskuse izvaja v kontroliranih razmerah pri temperaturah med 22 in 24 °C. V našem poskusu smo čas kalitve in intervale štetja kalečih semen prilagajali dinamiki kalitve v razmerah na prostem.

3.2.3 SMREKE Z VISOKOGORSKEGA RASTIŠČA

Na smrekah z visokogorja, z nadmorske višine 2100 m, smo v juliju opravili enkratne meritve fotokemične učinkovitosti, dihalnega potenciala, vsebnosti fotosinteznih pigmentov in UV-B absorbirajočih snovi, topnih v metanolu. Za primerjavo smo vzeli smreke z nižinskega rastišča, z nadmorske višine 600 m. Fotokemično učinkovitost smo merili na rastišču, ostale analize smo opravili v laboratoriju, na petih vzorcih posamezne starostne skupine iglic. Analizirali smo enoletne, dveletne in triletne iglice. Smreke na visokogorskem rastišču so bile stare blizu deset, na nižinskem rastišču pa pet let.

3.3 MERITVE IN ANALIZE

Dinamiko izbranih parametrov na sejankah smreke smo spremljali skozi eno vegetacijsko sezono. Meritve in analize smo opravljali enkrat mesečno. Vzorce smo izbirali naključno izmed petdesetih rastlin posameznega tretiranja. Velikost vzorca je bila deset ali pet. Parametre smo merili ločeno na enoletnih in dveletnih iglicah, ker smo predvidevali, da je odgovor rastline odvisen tudi od ontogenetske stopnje razvoja. Le fotosintezno aktivnost smo merili na enoletnih in dveletnih iglicah skupaj, ker je bilo ločeno merjenje tehnično neizvedljivo.

3.3.1 FIZIOLOŠKE MERITVE

Fiziološke meritve smo opravljali na poskusni ploskvi v Botaničnem vrtu, ob sončnem vremenu, med dvanajsto in petnajsto uro. Vrednosti gostote fotonskega fluksa fotosintezno aktivnega dela sevanja (PPFD) so presegale $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Luči na dan merjenja niso gorele, ker nas je zanimal le morebitni kumulativni vpliv UV-B sevanja.

3.3.1.1 Fotosintezna aktivnost

Fotosintezno aktivnost smreke smo merili z infrardečim analizatorjem plina LI-6200 (LI-COR), z zaprtim pretokom zraka in diferencialnim merjenjem (LI-COR, 1987).

Meritve smo opravili v razmerah, ko so bile dosežene saturacijske jakosti PPFD za fotosintezo. Velikost fotosinteze smo izrazili na aproksimirano suho težo iglic. Ocena suhe teže pri mladih iglicah je, zaradi variabilne vsebnosti vode, odstopala od pravih vrednosti za $\pm 5\%$.

Na merjenem poganjku smo prešteli število iglic in izmerili njihovo povprečno dolžino. Na podlagi posušenih vzorcev po deset enoletnih in deset dveletnih iglic ter povprečne dolžine iglic obeh vzorcev, smo ocenili suho težo iglic merjenega poganjka. Vzorčni material smo sušili v sušilniku Sterimatic ST-11 (Instrumentaria, Zagreb), 24 ur, pri temperaturi 105°C .

3.3.1.2 Fotokemična učinkovitost fotosistema II

Klorofil a reakcijskega centra in klorofil antenskih pigmentov v FS II oddajata del ekscitacijske energije kot fluorescenco. V optimalnih razmerah fluorescenca predstavlja od 2 do 4% ekscitacijske energije, v stresnih razmerah, ko se vsa absorbirana svetlobna energija ne more porabiti za fotosintezo, pa se delež oddane energije v obliki fluorescence poveča. Fluorescenca zato služi kot merilo fotokemične učinkovitosti FS II (KRAUSE & WEIS, 1991; SCHREIBER in sod., 1998).

Pri temno adaptiranem listu so akceptorji elektronov oksidirani in reakcijski centri odprti, kar pomeni, da lahko absorbirajo svetlobno energijo. Fluorescentni signal, ki ga izmerimo, ko so vsi reakcijski centri odprti, izvira iz klorofila v antenskih pigmentih in ga imenujemo osnovna ali minimalna fluorescenca temno adaptiranega vzorca (F_0). Ko osvetlimo list s saturacijskim žarkom, se fluorescentni signal poveča. Redukcija kinonov je hitrejša od ponovne oksidacije, zato klorofil reakcijskega centra FS II del ekscitacijske energije odda v obliki fluorescence. Hitrost reoksidacije kinonov je odvisna od elektronskega transporta in Calvinovega cikla. Povečani fluorescentni signal imenujemo maksimalna fluorescenca temno adaptiranega vzorca (F_m). Razliko med F_m in F_0 imenujemo variabilna fluorescenca (F_v), ki je pokazatelj

velikosti redukcije Q_A , ki je prvi stabilni akceptor elektronov v FS II. Razmerje F_v/F_m je merilo potencialne fotokemične učinkovitosti FS II in je sorazmerno neto fotosintezi (KRAUSE & WEIS, 1991). Razmerje F_v/F_m dosega vrednosti 0,83, pri vitalnih rastlinah (BJÖRKMAN & DEMMIG, 1987) in se zmanjša, kadar je rastlina izpostavljena stresnim razmeram. Dejansko fotokemično učinkovitost FS II (Y) v določenih svetlobnih razmerah merimo na osvetljenih listih.

Fotokemično učinkovitost fotosistema II (FS II) smo merili z modulacijskim fluorometrom OS-500 (Opti-Sciences). Velikost vzorca pri parametrih F_v/F_m in Y je bila deset, zadnji dve seriji meritev na dveletnih iglicah smo zaradi propadanja iglic opravili v štirih paralelkah. NPQ smo merili v treh ponovitvah.

Merili smo potencialno fotokemično učinkovitost FS II (F_v/F_m). Čas zatemnitve vzorcev pred merjenjem je bil 10 minut. Halogena luč fluorometra OS-500 je zagotovila saturacijski pulz z gostoto kvantnega toka $\approx 8000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ in trajanjem 0,8 s.

Ugotavljali smo dejansko fotokemično učinkovitost FS II (Y), izračunano kot $F_m - F_s / F_m$. F_s predstavlja minimalno fluorescenco klorofila a FS II osvetljenega vzorca, F_m pa maksimalno fluorescenco osvetljenega vzorca. Uporabili smo saturacijski pulz z gostoto kvantnega toka $\approx 9000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ in trajanjem 0,8 s.

Spremljali smo tudi kinetiko fluorescence klorofila a FS II. Posamezna meritev je trajala štiri minute, kar je zadoščalo, da so se F_m in F_s vrednosti ustalile. Saturacijske pulze z gostoto kvantnega toka $\approx 8000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ in trajanjem 0,8 s smo prožili ročno, v intervalih na 10 s. Prvi saturacijski pulz smo sprožili pri zatemnjenem vzorcu, da smo dobili pravo vrednost F_m . Nefotokemični del dušenja fluorescence klorofila a FS II smo izrazili preko parametra NPQ, izračunanega kot $F_m - F_m - F_s / F_m$. Fluorometer OS-500 izračunava nefotokemični del dušenja fluorescence kot parameter q_N in kot NPQ. Izbrali smo NPQ, ker je boljši pokazatelj nefotokemičnega dušenja kot q_N , kadar so vrednosti q_N večje od 0,6. Naše vrednosti so v poletnih mesecih, ko je bilo UV-B sevanje najmočnejše, presegale 0,6 (OPTI-SCIENCES, 1995).

3.3.2 BIOKEMIJSKE ANALIZE

Biokemijske analize smo opravili v ekološkem laboratoriju Nacionalnega inštituta za biologijo. Vzorce smo nabirali med osmo in deseto uro dopoldan in jih isti dan analizirali. Velikost vzorca posameznega tretiranja je bila pet. Vzorec je vseboval dve iglici ali izjemoma, zaradi pomanjkanja materiala, eno iglico. Vzorce smo stehali, vsebnosti analiziranih snovi smo aproksimirali na suho težo vzorca. Delež suhe snovi smo izračunali na podlagi vzorcev desetih iglic posameznega tretiranja, ki smo jih sušili v sušilniku Sterimatic ST-11 (Instrumentaria, Zagreb), 24 ur, pri temperaturi 105 °C. Za tehtanje smo uporabljali miligramsko tehtnico Sartorius.

3.3.2.1 Dihalni potencial

Dihalni potencial rastlin smo ugotavljali preko encimatske aktivnosti elektronskega transportnega sistema v mitohondrijih (ETS) po metodi, ki jo je razvil Packard (1971). Metoda temelji na redukciji umetnega elektronskega akceptorja jodo-nitro-tetrazolium-klorida (INT), ki ga dodamo ekstraktu poskusnega tkiva.

Vzorce smo zmleli v terilnici in dodali 4 ml ledeno hladne homogenizirajoče raztopine (0,1 M fosfatni pufer, 0,15% (w/v) polivinil piroolidon, 0,2% (v/v) Triton-X-100). Celične in mitohondrijalne membrane smo dodatno razbili s pomočjo ultrazvočnega homogenizatorja 4710 (Cole-Parmer Instrument), ekstrakt centrifugirali (centrifuga Sigma 2K15, 4 minute, 10 000 Hz, 2°C). Vzorce smo razdelili v tri paralelke po 0,5 ml ter dodali 1,5 ml substratne raztopine (0,1 M fosfatni pufer, 1,7 mM NADH, 0,25 mM NADPH, 0,2% (v/v) Triton-X-100) ter 0,5 ml INT. Vzorce smo inkubirali 40 minut in reakcijo ustavili z dodatkom 0,5 ml formalina in fosforne kisline (1:1). Namesto redukcije naravnega akceptorja elektronov, kisika, do katere bi prišlo v celici, je med inkubacijo potekla redukcija INT. Nastalo spojino formazan smo spektrofotometrično določili pri valovni dolžini 490 nm. Produkcija formazana je sorazmerna potencialni porabi kisika v analiziranem tkivu. Potencialno porabo kisika smo izrazili na suho težo vzorca na čas.

ETS aktivnost smo izračunali po enačbi:

$$ETS \text{ aktivnost} = \frac{E_{490} \times V_r \times V_h \times 60}{V_a \times ss \times t \times 1,42} \quad (\mu\text{l } O_2 \text{ g}^{-1} \text{ ss } h^{-1})$$

| | | | |
|-------|-----------------------------------------------|------|----------------------------------|
| E | ekstinkcija pri izbrani valovni dolžini | ss | teža suhega vzorca |
| V_r | končni volumen reakcijske mešanice (3 ml) | t | čas inkubacije (40 minut) |
| V_h | volumen homogenata (4 ml) | 1,42 | faktor pretvorbe v volumen O_2 |
| V_a | volumen homogenata v končni mešanici (0,5 ml) | | |

3.3.2.2 Vsebnost fotosinteznih pigmentov

Vsebnost klorofilov a in b smo določali spektrofotometrično, po metodi Jeffrey & Humphrey (1975). Sveže vzorce smo zdrobili v terlnici, jih ekstrahirali v 8 ml acetona (90% (v/v)) in centrifugirali (centrifuga Sigma 2K15, 4 minute, 10 000 Hz, 4°C). Ekstinkcijo smo zmerili na spektrofotometru Lambda-12 (Perkin-Elmer) pri valovnih dolžinah 630, 647, 664 in 750 nm. Skupno vsebnost klorofila smo izrazili na suho težo vzorca in izračunali razmerje klorofilov a/b.

Vsebnost klorofilov a in b smo izračunali po enačbah:

$$kl \ a = \frac{(11,93 \times \{E_{664} - E_{750}\} - 1,93 \times \{E_{647} - E_{750}\}) \times V_a \times 1000}{ss} \quad (mg \ kl \ a \ g^{-1} \ ss)$$

$$kl \ b = \frac{(11,93 \times \{E_{647} - E_{750}\} - 1,93 \times \{E_{630} - E_{750}\}) \times V_a \times 1000}{ss} \quad (mg \ kl \ b \ g^{-1} \ ss)$$

E ekstinkcija pri izbrani valovni dolžini

V_a volumen acetona

ss suha teža vzorca

Vsebnost karotenoidov smo določali po metodi Strickland & Parsons (1972). Ekstinkcijo smo merili pri valovnih dolžinah 480 in 750 nm, v ekstraktih, v katerih smo določali vsebnost klorofilov. Metoda se je izkazala kot neprimerna za smreko, ker smo od majskih meritev dalje dobili negativne vrednosti vsebnosti karotenoidov v iglicah. Rezultati meritev zato v nalogi niso prikazani.

3.3.2.3 Vsebnost UV-B absorbirajočih snovi

Integrirano vrednost UV-B absorbirajočih snovi pri valovnih dolžinah med 280 in 320 nm smo določali po Caldwellu (1968). Sveže vzorce smo zdrobili v terilnici, jih ekstrahirali v 5 ml ekstrakcijskega medija (metanol : voda : klorovodikova kislina (37%) = 79 : 20 : 1 (v/v)), inkubirali 20 minut in centrifugirali (centrifuga Sigma 2K15, 10 minut, 4339 MHz, 10°C). Ekstinkcije vzorcev smo izmerili na spektrofotometru Lambda-12 (Perkin-Elmer) pri valovnih dolžinah med 280 in 320 nm. Rezultati predstavljajo integral ekstinkcijskih vrednosti v intervalu 280 do 320 nm, preračunan na suho težo. Računali smo po enačbi:

$$\text{skupna ekstinkcija}_{280-320} = \frac{I}{ss \times V_e} \quad (\text{rel. enota})$$

I integral pod krivuljo med 280 in 320 nm

V_e volumen ekstrakcijskega medija (5 ml)

ss suha teža vzorca

3.4 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV

Rezultate smo analizirali z dvosmernim Studentovim T testom za enako varianco, kjer je bilo to mogoče, oziroma za neenako varianco, kjer je predhodni F test pokazal značilno različne variance med vzorci, pri stopnji tveganja 0,05. Primerjali smo tretiranje pod dodatnim UV-B sevanjem z obema kontrolama, brez UV-B sevanja in pod zunanjim UV-B sevanjem.

3.5 MESTA VZORČENJA

Ljubljana

Botanični vrt Univerze v Ljubljani leži na jugozahodnem robu mesta Ljubljane v Ljubljanski kotlini, na nadmorski višini 320 m, na 46°35' zemljepisne širine in 14°55' zemljepisne dolžine.

Kamniška Bistrica

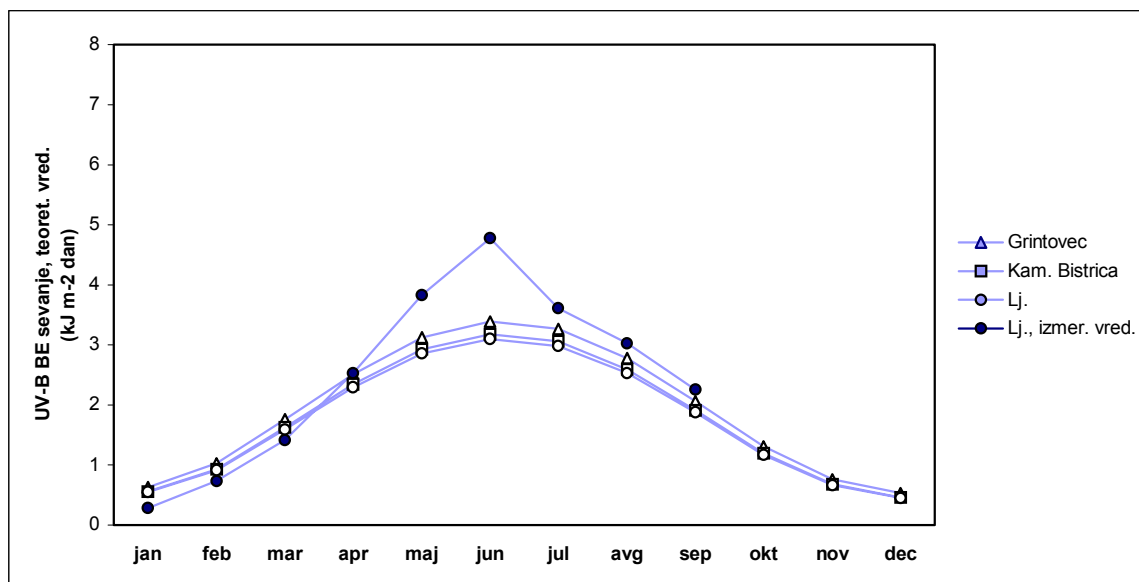
Gozdna poseka se nahaja na nadmorski višini 600 m, na 46°33' zemljepisne širine in 14°58' zemljepisne dolžine. Teoretični odmerki biološko učinkovitega UV-B_{BE}, izračunani po modelu Björn & Murphy (1993), so prikazani v Grafu 3.

Kamniški Grintovec

Vzorčne smreke so rasle na strmem severozahodnem pobočju, 2100 m nad morjem, na 46°35' zemljepisne širine in 14°55' zemljepisne dolžine. Teoretični odmerki biološko učinkovitega UV-B_{BE}, izračunani po modelu Björn & Murphy (1993), so prikazani v Grafu 3., razlike biološko aktivnega dela sevanja UV-B_{BE} med Ljubljano in Grintovcem ter med Kamniško Bistrico in Grintovcem pa prikazuje Tabela 2.

Tabela 2. Povprečne mesečne razlike biološko aktivnega dela sevanja UV-B_{BE}, izračunane po modelu Björn & Murphy (1993), med Ljubljano in Grintovcem ter med Kamniško Bistrico in Grintovcem; Lj: Ljubljana, KB: Kamniška Bistrica, Gr: Grintovec.

| | jan | feb | mar | apr | maj | jun | jul | avg | sep | okt | nov | dec |
|------------------------------|------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|------|
| Lj UV-B / Gr UV-B (%) | 13,4 | 11,3 | 9,7 | 8,9 | 8,6 | 8,5 | 8,5 | 8,8 | 9,4 | 10,5 | 12,4 | 14,4 |
| KB UV-B / Gr UV-B (%) | 11,7 | 9,5 | 7,7 | 6,7 | 6,2 | 6,1 | 6,2 | 6,5 | 7,2 | 8,6 | 10,7 | 12,8 |



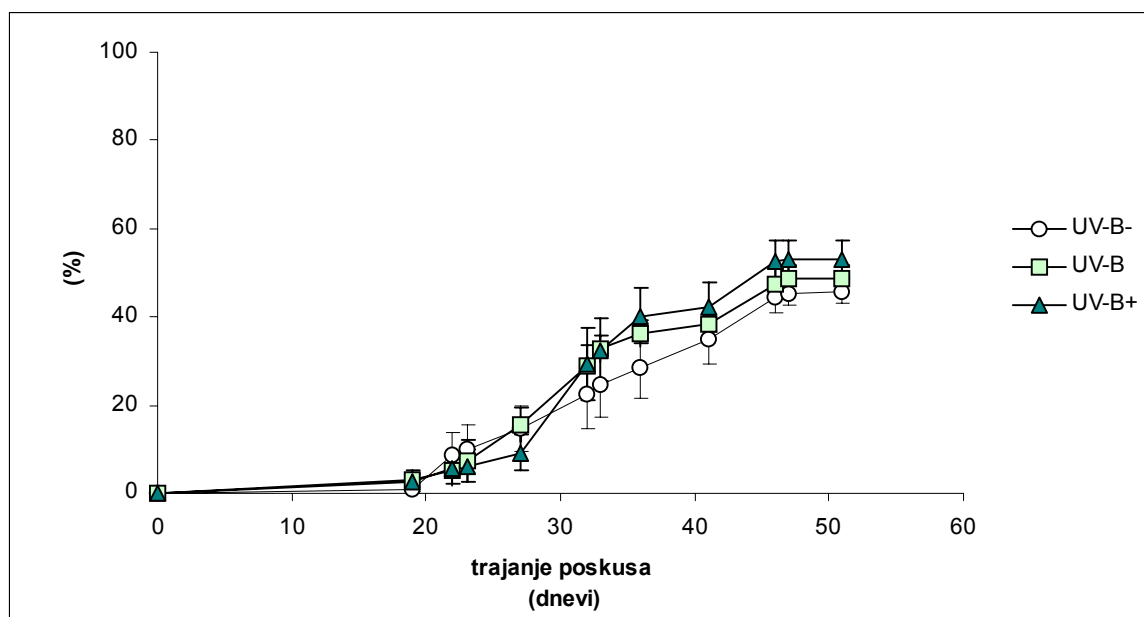
Graf 3. Teoretične vrednosti odmerkov biološko učinkovitega UV-B_{BE} sevanja na Grintovcu (2100 m nm, 46°35' S, 14°55' V), v Kamniški Bistrici (600 m nm, 46°33' S, 14°58' V) in v Ljubljani (320 m nm, 46°35' S, 14°55' V) (BJÖRN & MURPHY, 1993) ter mesečna povprečja izmerjenih vrednosti UV-B_{BE} sevanja v Ljubljani.

4 REZULTATI

4.1 VPLIV POVEČANEGA UV-B SEVANJA NA KALITEV

4.1.1 DINAMIKA KALITVE

Poskus kalitve smreke (*Picea abies* (L.) Karst.) smo nastavili 7. aprila 1999, prva semena so kalila devetnajsti dan od nastavitve poskusa, po šestinštiridesetih dneh pa se je število kalečih semen ustalilo, zato smo poskus enainpetdeseti dan zaključili. Deleži kalečih semen, izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja, se ob nobenem od štetij niso statistično značilno razlikovali (Graf 4.).



Graf 4. Delež kalečih semen smreke (*Picea abies* (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. Podatki predstavljajo delež kalečih semen \pm SE, $n=400$. Dvosmerni T test med UV-B- in UV-B ter UV-B in UV-B+, brez oznake ali nz: neznačilna razlika, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

4.1.2 MORFOLOŠKE ZNAČILNOSTI KALIC

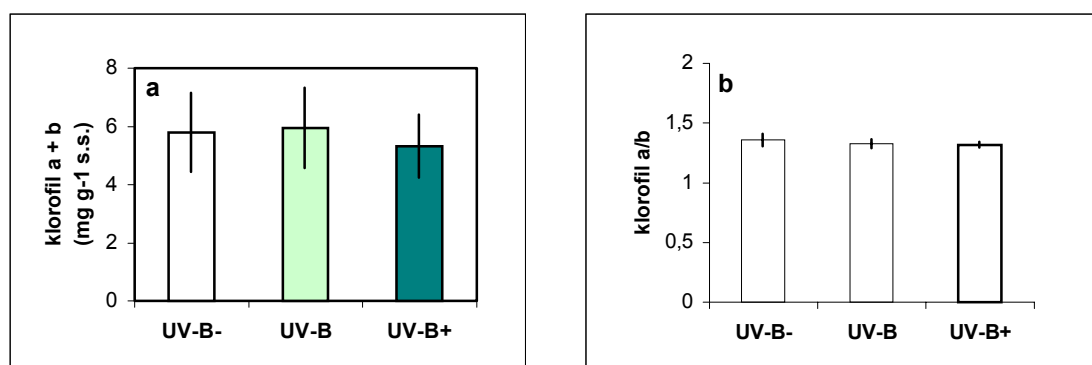
Dolžine, suhe teže in specifične suhe teže, izražene z enoto suhe teže na enoto dolžine pri kalicah smreke se med posameznimi tretiranjmi statistično značilno ne razlikujejo (Tabela 3.).

Tabela 3. Dolžina, suha teža in specifična suha teža pri kalicah smreke (*Picea abies* (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. Podatki predstavljajo aritmetično sredino \pm SE, $n = 36/6$. Dvosmerni T test med UV-B- in UV-B ter UV-B in UV-B+, brez oznake ali nz: neznačilna razlika, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

| tretiranje | dolžina \pm SE (mm) | s.s. \pm SE (mg) | spec. s.s. \pm SE (mg mm ⁻¹) |
|------------|--------------------------|-----------------------|-----------------------------------------------|
| UV-B- | 18,0 \pm 2,1 | 4,2 \pm 0,4 | 0,23 \pm 0,06 |
| UV-B | 20,6 \pm 2,3 | 3,6 \pm 0,3 | 0,17 \pm 0,04 |
| UV-B+ | 19,9 \pm 1,6 | 3,5 \pm 0,2 | 0,18 \pm 0,04 |

4.1.3 VSEBNOST KLOROFILOV

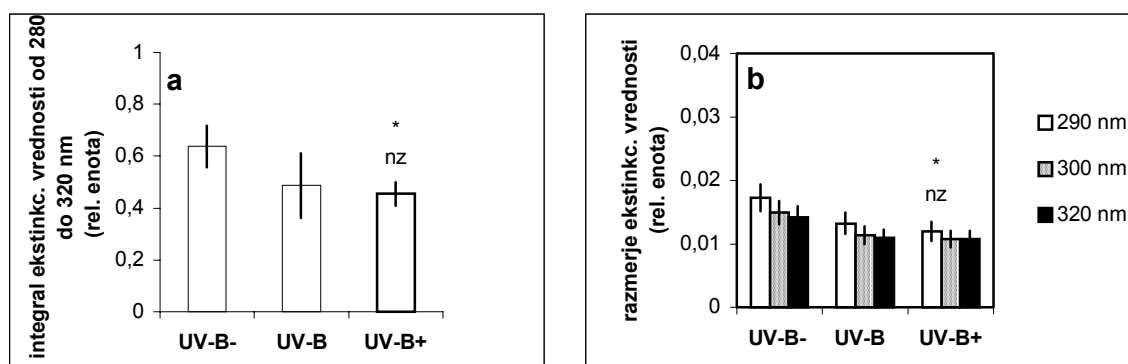
Skupne vsebnosti klorofilov a in b (Graf 5a.) ter razmerja klorofilov a/b (Graf 5b.) pri kalicah smreke se med posameznimi tretiranjmi statistično značilno ne razlikujejo.



Graf 5. Skupna vsebnost klorofilov a in b (a) in razmerje vsebnosti klorofilov a in b (b) pri kalicah smreke (*Picea abies* (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. Stolpci so aritmetične sredine \pm SE, $n = 5$. Dvosmerni T test med UV-B- in UV-B ter UV-B in UV-B+, brez oznake ali nz: neznačilna razlika, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

4.1.4 VSEBNOST UV-B ABSORBIRAJOČIH SNOVI

Relativne integrirane vrednosti UV-B absorbirajočih snovi se pri valovnih dolžinah med 280 in 320 nm pri kalicah smreke (*Picea abies* (L.) Karst.) statistično značilno ne razlikujejo, ko primerjamo rastline pod dodatnim UV-B z vzorci pod zunanjim UV-B sevanjem. Značilno večje vsebnosti snovi smo dobili pod filtrom, ki zadrži UV-B sevanje (Graf 6a.). Ob primerjanju treh ekstinkcijskih vrednosti, 290, 300 in 320 nm, se statistično značilna razlika pokaže le med ekstinkcijama v kratkovalovnem spektru UV-B sevanja, pri 290 nm, ko primerjamo tretiranje z dodatnim UV-B s tretiranjem brez UV-B sevanja (Graf 6b.).

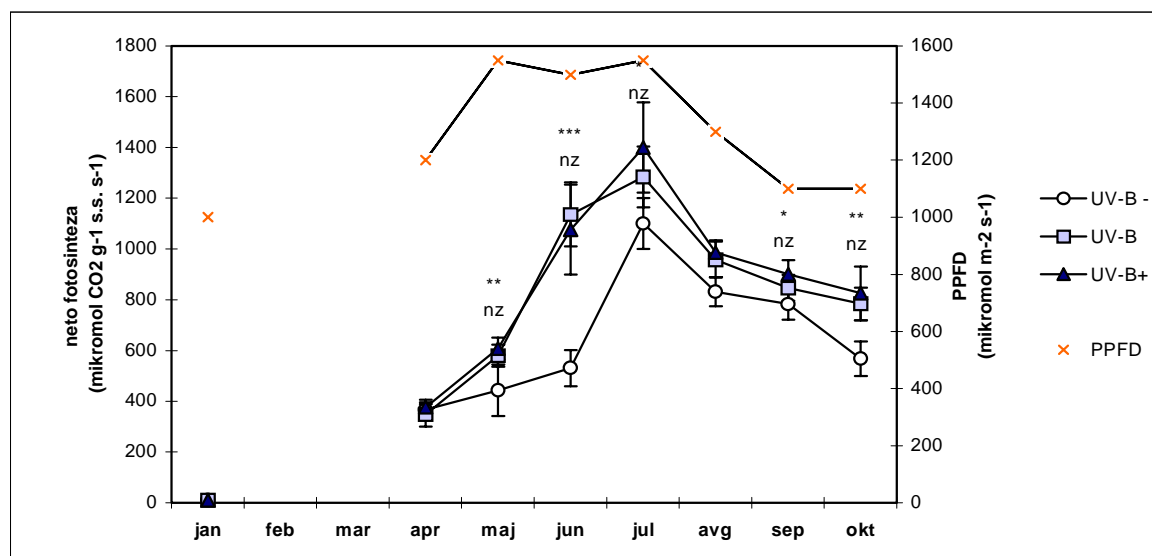


Graf 6. Relativne integrirane vrednosti UV-B absorbirajočih snovi pri valovnih dolžinah med 280 in 320 nm (a) in razmerje ekstinkcijskih vrednosti pri 290, 300 in 320 nm (b) pri kalicah smreke (*Picea abies* (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. Stolpci so aritmetične sredine \pm SE, $n = 5$. Dvosmerni T test med UV-B- in UV-B ter UV-B in UV-B+, nz: neznačilna razlika, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

4.2 VPLIV POVEČANEGA UV-B SEVANJA NA SEJANKE SMREKE

4.2.1 NETO FOTOSINTEZA

Sejanke smreke (*Picea abies* (L.) Karst.), ki smo jih dodatno obsevali z UV-B, so imele skozi vso vegetacijsko sezono enako fotosintezno aktivnost kot rastline, ki so rasle pod zunanjim UV-B sevanjem. Statistično značilno manjšo neto fotosintezo napram obsevanim smrekam smo izmerili pri rastlinah, ki so uspevale pod filtrom, ki ni prepuščal UV-B sevanja (Graf 7.)



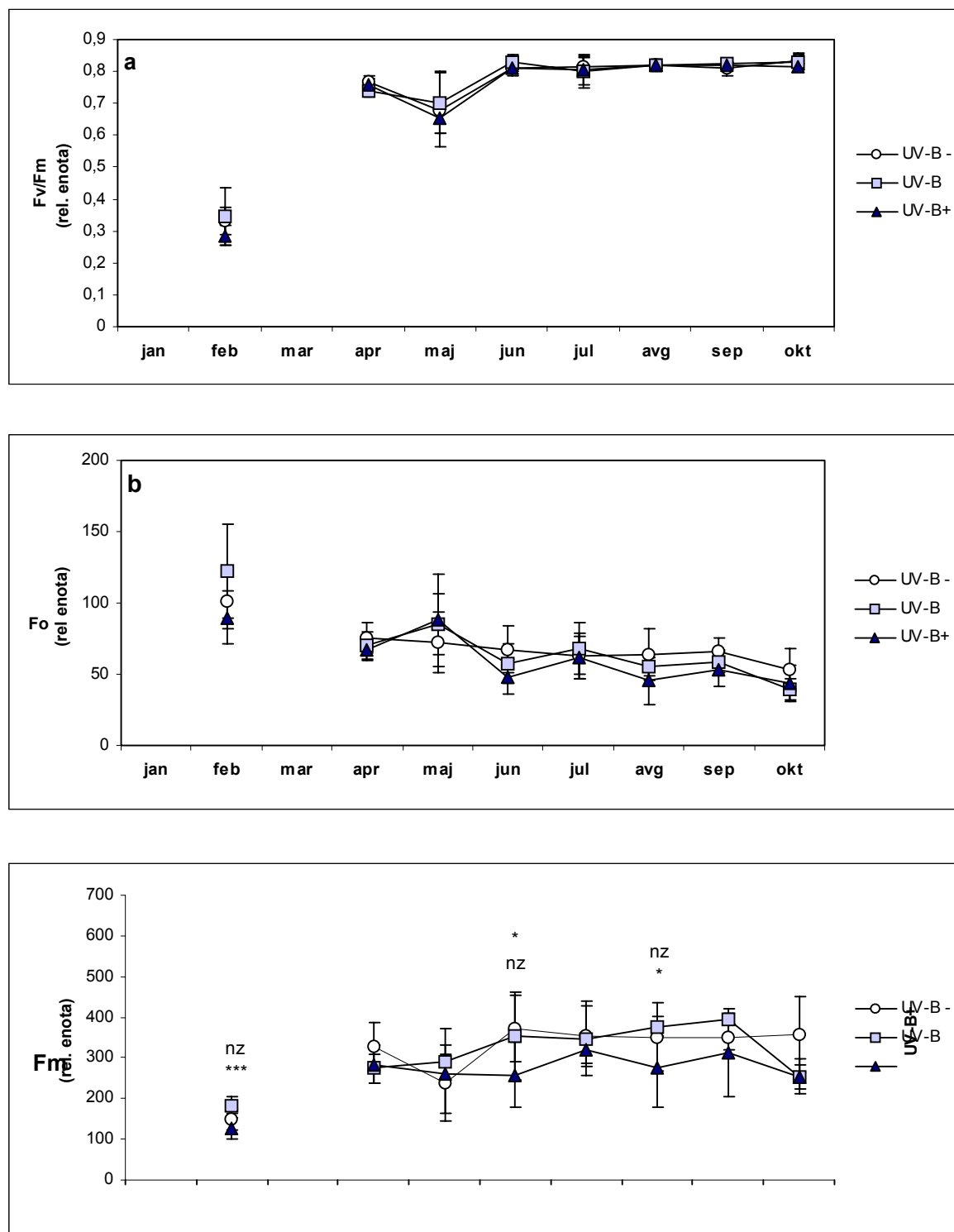
Graf 7. Neto fotosinteza pri sejankah smreke (*Picea abies* (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja in svetlobne razmere. Podatki so aritmetične sredine \pm SE, $n = 10$. Dvosmerni T test med UV-B- in UV-B ter UV-B in UV-B+, nz: neznačilna razlika, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

4.2.2 FOTOKEMIČNA UČINKOVITOST FOTOSISTEMA II

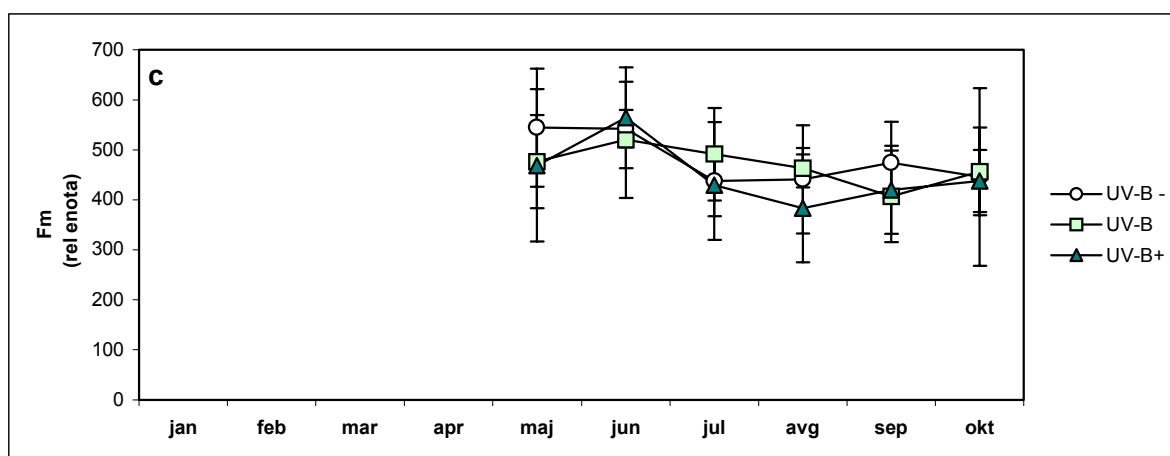
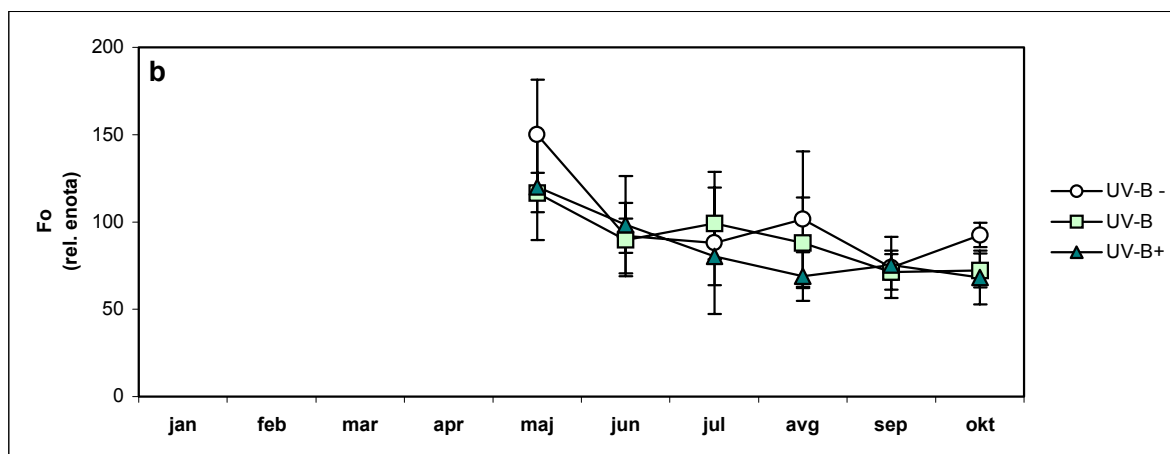
V razmerju variabilne in maksimalne fluorescence temotno adaptiranega vzorca (F_v/F_m), ki je pokazatelj potencialne fotokemične učinkovitosti FS II, se statistično značilne razlike med tretiranjem z dodatnim UV-B in obema kontrolama niso pokazale ne pri enoletnih ne pri dveletnih iglicah (Graf 8a. in 9a.). Minimalna fluorescenca temotno adaptiranega vzorca (F_0) se pod vplivom dodatnega UV-B ni spremenila (Graf 8b. in 9b.). Statistično značilno zmanjšanje maksimalne fluorescence temotno adaptiranega vzorca (F_m) smo pod vplivom dodatnega UV-B v primerjavi s tretiranjem pod zunanjim UV-B sevanjem izmerili pri dveletnih iglicah v mesecu februarju in avgustu (Graf 8c. in 9c.).

Razmerje variabilne in maksimalne fluorescence osvetljenega vzorca (Y), ki je pokazatelj dejanske fotokemične učinkovitosti FS II, se pri smreki pod vplivom dodatnega UV-B sevanja ni statistično značilno spremenilo. Pri enoletnih iglicah je v mesecu maju prišlo do statistično značilno manjše dejanske fotokemične učinkovitosti FS II pri tretiranju pod filtrom, ki ne prepušča UV-B sevanja (Graf 10. in 11.).

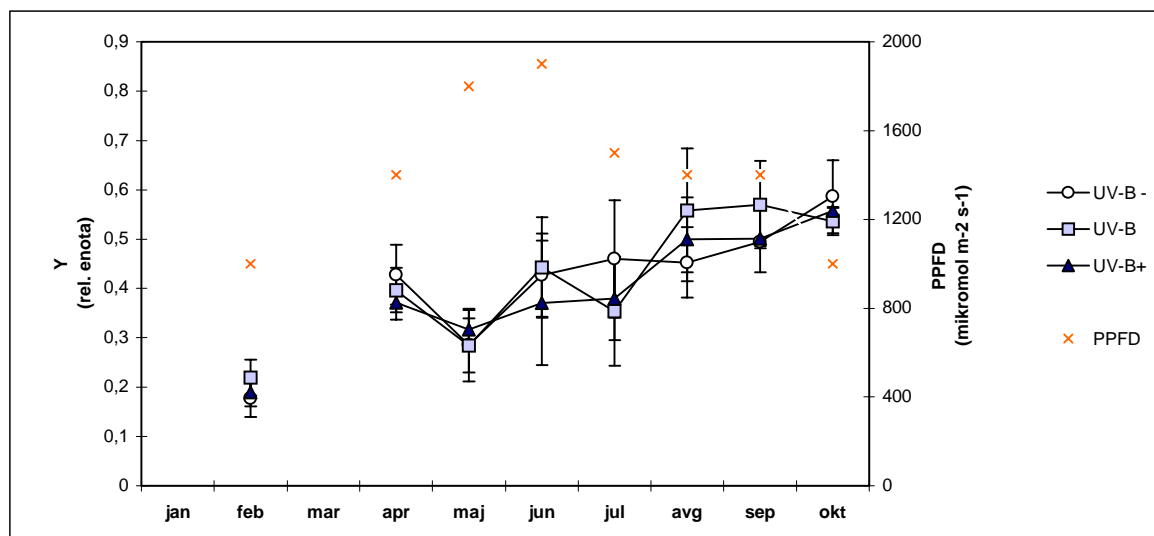
Nefotokemični del dušenja fluorescence klorofila a FS II, izražen kot NPQ, se je pri dveletnih iglicah smreke pod vplivom dodatnega UV-B sevanja glede na kontrolo statistično značilno povečal februarja in oktobra. (Graf 12.). Pri enoletnih iglicah smo statistično značilno razliko NPQ med tretiranjem z dodatnim UV-B in zunanjim UV-B sevanjem izmerili maja (Graf 13.).



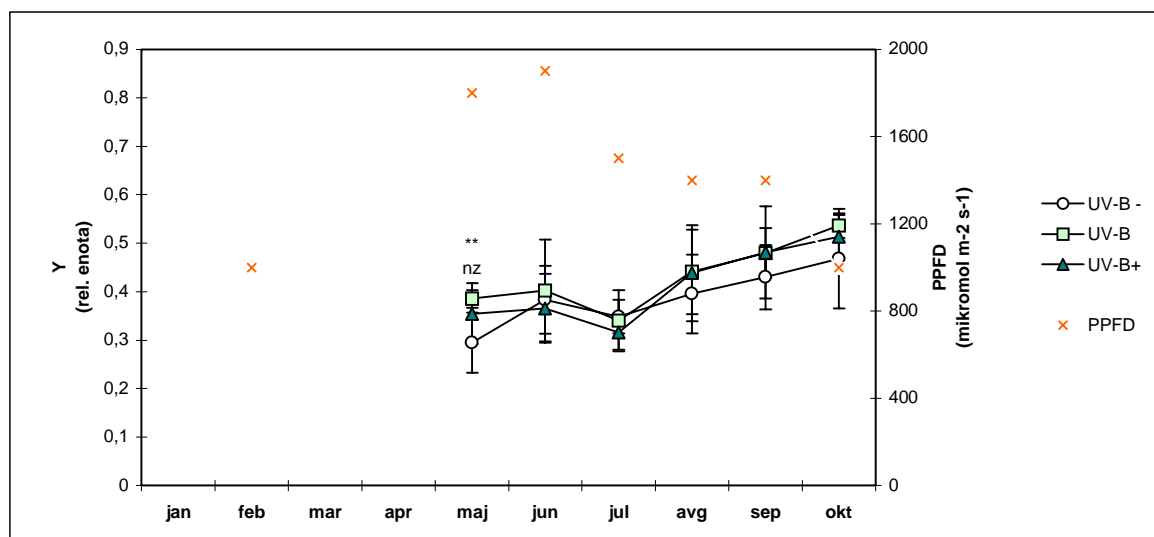
Graf 8. Potencialna fotokemična učinkovitost FS II (Fv/Fm) (a), minimalna fluorescenca klorofila temotno adaptiranega vzorca (b) in maksimalna fluorescenca klorofila temotno adaptiranega vzorca (c) pri dveletnih iglicah smreke (*Picea abies* (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. Podatki so aritmetične sredine \pm SE, n = 10/5/4. Dvosmerni T test med UV-B- in UV-B ter UV-B in UV-B+, brez oznake ali nz: neznačilna razlika, * p \leq 0,05, ** p \leq 0,01, *** p \leq 0,001.



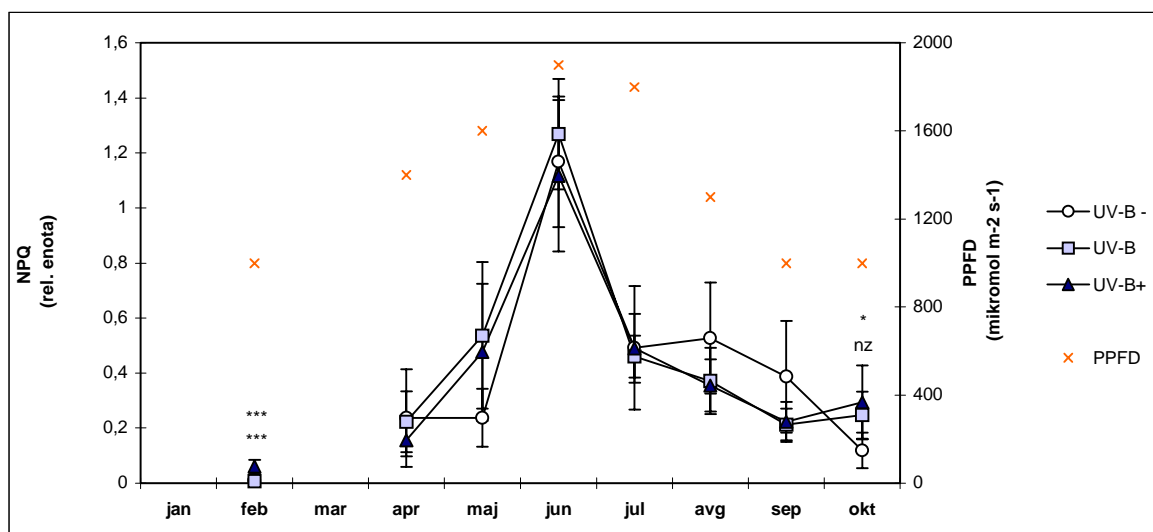
Graf 9. Potencialna fotokemična učinkovitost FS II (F_v/F_m) (a), minimalna fluorescenca klorofila temotno adaptiranega vzorca (b) in maksimalna fluorescenca klorofila temotno adaptiranega vzorca (c) pri enoletnih iglicah smreke (*Picea abies* (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. Podatki so aritmetične sredine \pm SE, $n = 5$. Dvosmerni T test med UV-B- in UV-B ter UV-B in UV-B+, brez oznake ali nz: neznačilna razlika, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.



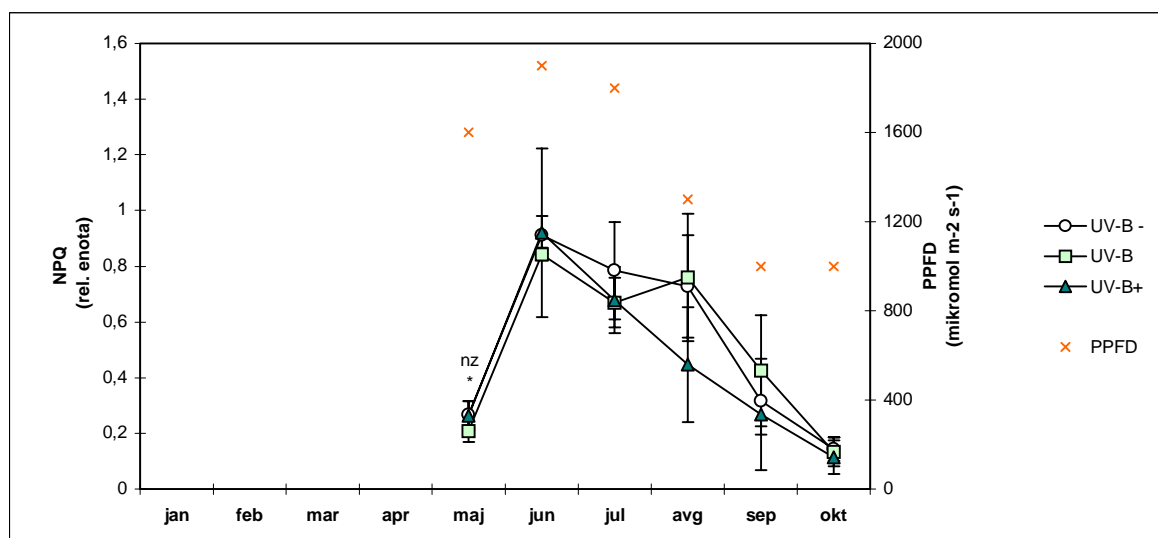
Graf 10. Dejanska fotokemična učinkovitost FS II (Y) pri dveletnih iglicah smreke (*Picea abies* (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja in svetlobne razmere. Podatki so aritmetične sredine \pm SE, $n = 10/5/4$. Dvosmerni T test med UV-B- in UV-B ter UV-B in UV-B+, brez oznake ali nz: neznačilna razlika, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.



Graf 11. Dejanska fotokemična učinkovitost FS II (Y) pri enoletnih iglicah smreke (*Picea abies* (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja in svetlobne razmere. Podatki so aritmetične sredine \pm SE, $n = 5$. Dvosmerni T test med UV-B- in UV-B ter UV-B in UV-B+, brez oznake ali nz: neznačilna razlika, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

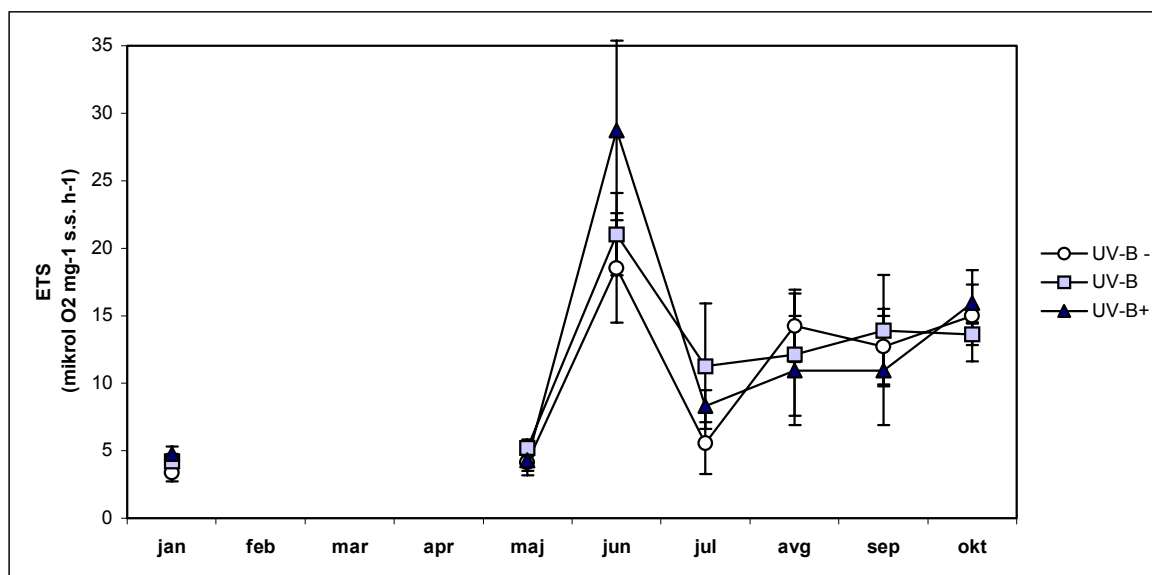


Graf 12. Nefotokemični del dušenja fluorescence klorofila a FS II (NPQ) pri dvehletnih iglicah smreke (*Picea abies* (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja in svetlobne razmere. Podatki so aritmetične sredine \pm SE, n = 3. Dvosmerni T test med UV-B- in UV-B ter UV-B in UV-B+, brez oznake ali nz: neznačilna razlika, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

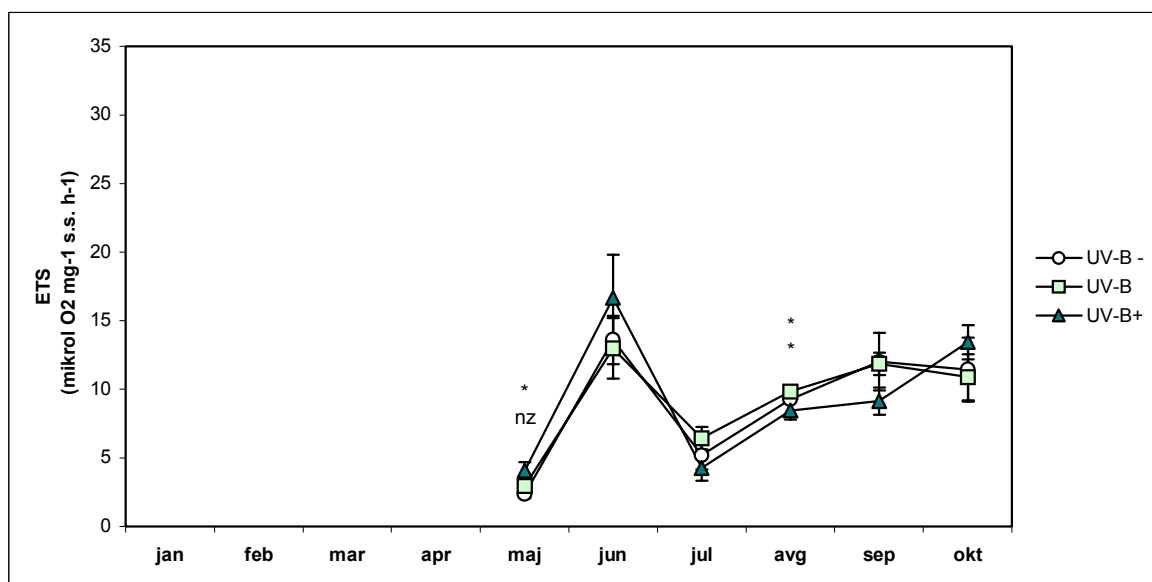


Graf 13. Nefotokemični del dušenja fluorescence klorofila a FS II (NPQ) pri enoletnih iglicah smreke (*Picea abies* (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja in svetlobne razmere. Podatki so aritmetične sredine \pm SE, n = 3. Dvosmerni T test med UV-B- in UV-B ter UV-B in UV-B+, brez oznake ali nz: neznačilna razlika, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

4.2.3 DIHALNI POTENCIAL



Graf 14. Dihalni potencial (ETS) pri dveletnih iglicah smreke (*Picea abies* (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. Podatki so aritmetične sredine \pm SE, $n = 5/4$. Dvosmerni T test med UV-B- in UV-B ter UV-B in UV-B+, brez oznake ali nz: neznačilna razlika, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.



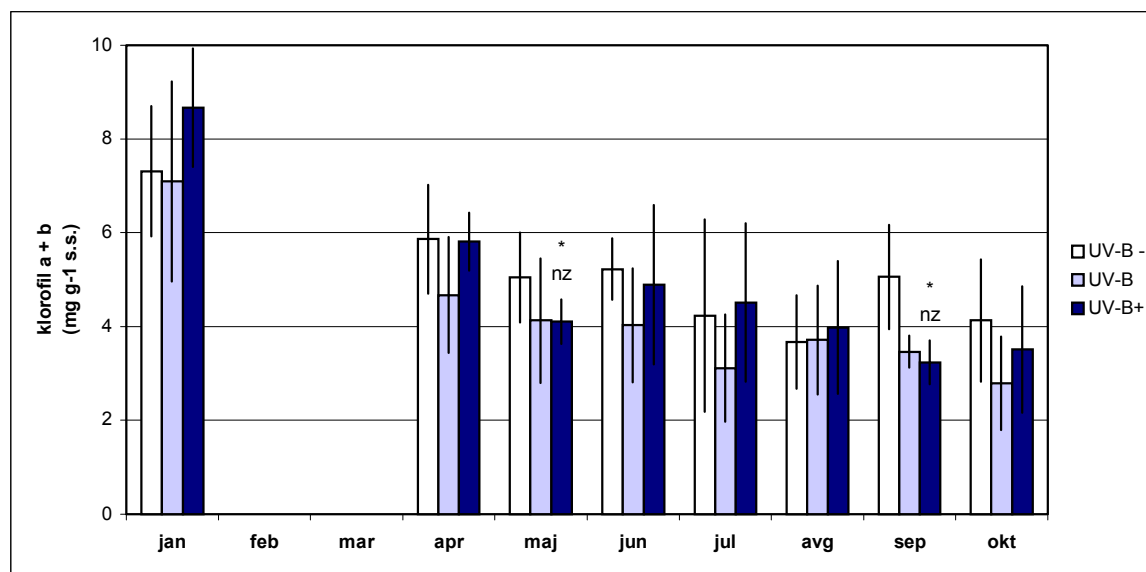
Graf 15. Dihalni potencial (ETS) pri enoletnih iglicah smreke (*Picea abies* (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. Podatki so aritmetične sredine \pm SE, $n = 5$. Dvosmerni T test med UV-B- in UV-B ter UV-B in UV-B+, brez oznake ali nz: neznačilna razlika, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

Povečano UV-B sevanje na dihalni potencial (ETS) dveletnih iglic smreke statistično značilno ne vpliva, variabilnost vzorcev je zelo velika (Graf 14.). Pri enoletnih iglicah se dihalni potencial pod vplivom dodatnega UV-B sevanja statistično značilno zmanjša v mesecu avgustu glede na obe kontroli. Statistično značilno večje vrednosti smo izmerili maja glede na tretiranje brez UV-B sevanja (Graf 15.).

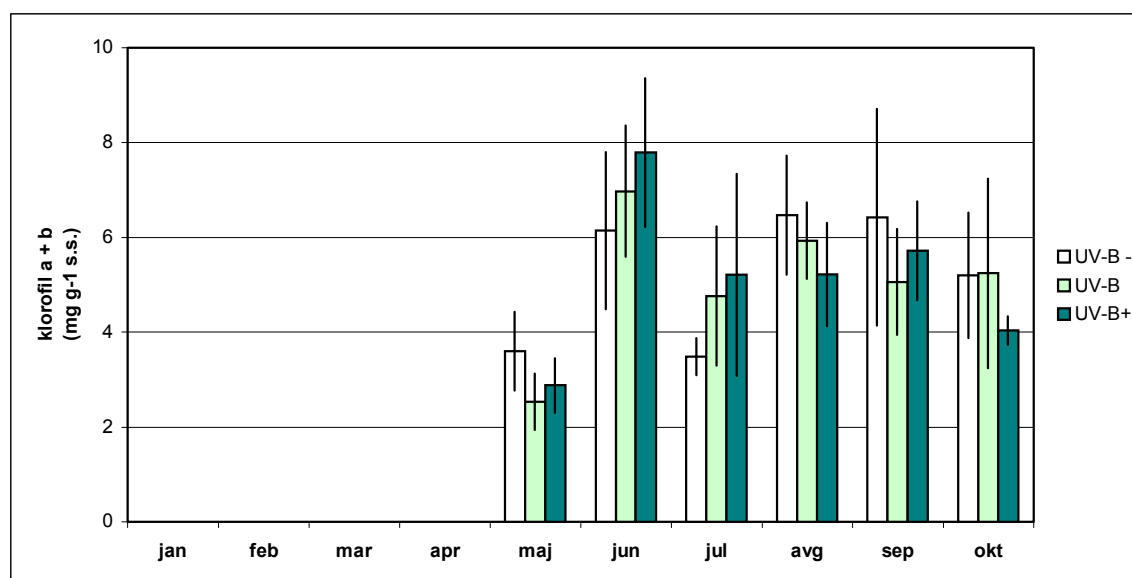
4.2.4 VSEBNOST KLOOROFILOV

Skupna vsebnost klorofilov a in b pri dveletnih iglicah smreke je pod povečanim UV-B sevanjem v posameznih mesecih enaka vsebnostim pod zunanjim UV-B sevanjem. Dvakrat je skupna vsebnost klorofilov pri dveletnih iglicah pod povečanim UV-B sevanjem statistično značilno manjša napram tretiranju brez UV-B sevanja (Graf 16.). Pri enoletnih iglicah smreke se statistično značilne razlike v vsebnosti klorofilov a in b med tretiranjem z dodatnim UV-B in obema kontrolama niso pokazale (Graf 17.).

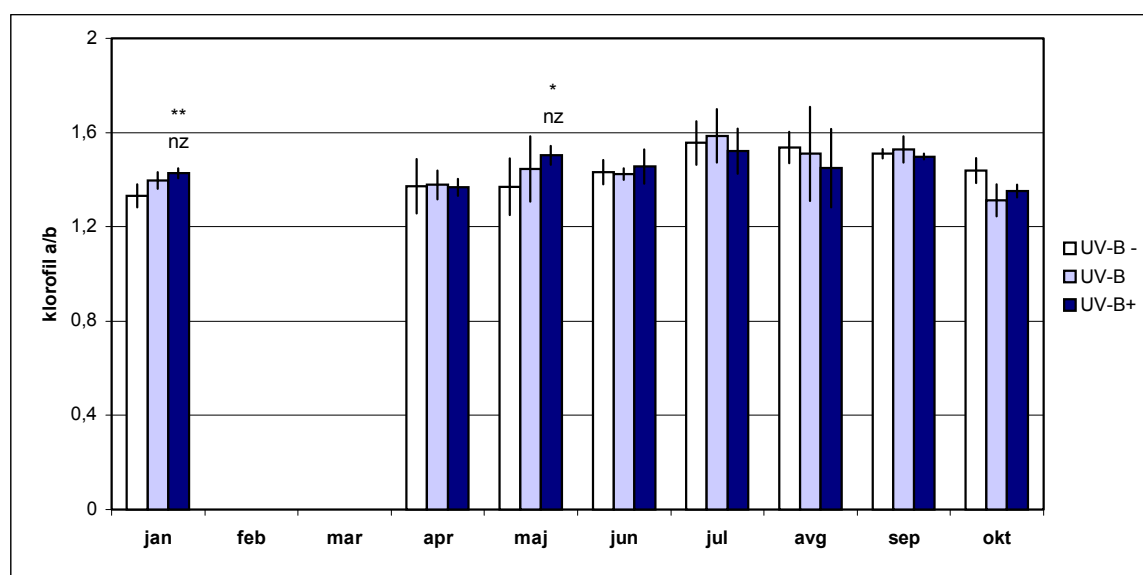
Razmerja vsebnosti klorofilov a in b pri dveletnih iglicah smreke so pod povečanim UV-B sevanjem enaka razmerjem pod zunanjim UV-B sevanjem. Statistično značilno zmanjšanje razmerja vsebnosti klorofilov pri dveletnih iglicah smo pod povečanim UV-B sevanjem v primerjavi s tretiranjem brez UV-B sevanja izmerili januarja in maja (Graf 18.). Pri enoletnih iglicah se razmerje vsebnosti klorofilov a in b pod vplivom dodatnega UV-B sevanja glede na obe kontroli statistično značilno poveča meseca maja in zmanjša meseca oktobra. V juliju so vrednosti pod dodatnim UV-B obsevanjem značilno manjše glede na tretiranje brez UV-B sevanja (Graf 19.).



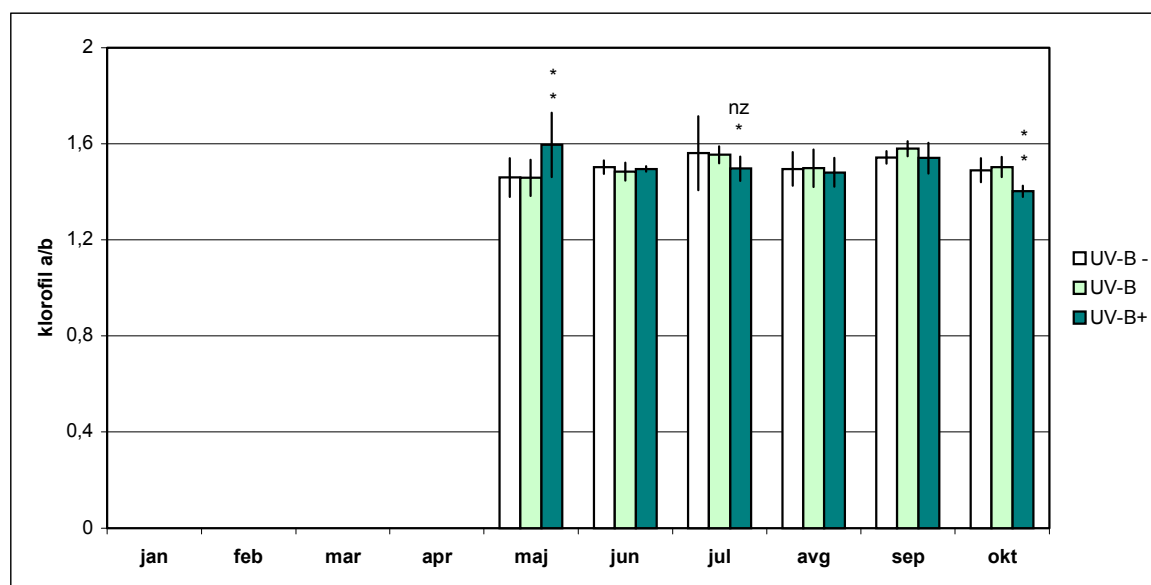
Graf 16. Skupna vsebnost klorofilov a in b pri dveletnih iglicah smreke (*Picea abies* (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. Podatki so aritmetične sredine \pm SE, $n = 5/4$. Dvosmerni T test med UV-B- in UV-B ter UV-B in UV-B+, brez oznake ali nz: neznačilna razlika, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.



Graf 17. Skupna vsebnost klorofilov a in b pri enoletnih iglicah smreke (*Picea abies* (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. Podatki so aritmetične sredine \pm SE, $n = 5$. Dvosmerni T test med UV-B- in UV-B ter UV-B in UV-B+, brez oznake ali nz: neznačilna razlika, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.



Graf 18. Razmerje vsebnosti klorofilov a in b pri dveletnih iglicah smreke (*Picea abies* (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. Podatki so aritmetične sredine \pm SE, $n = 5/4$. Dvosmerni T test med UV-B- in UV-B ter UV-B in UV-B+, brez oznake ali nz: neznačilna razlika, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.



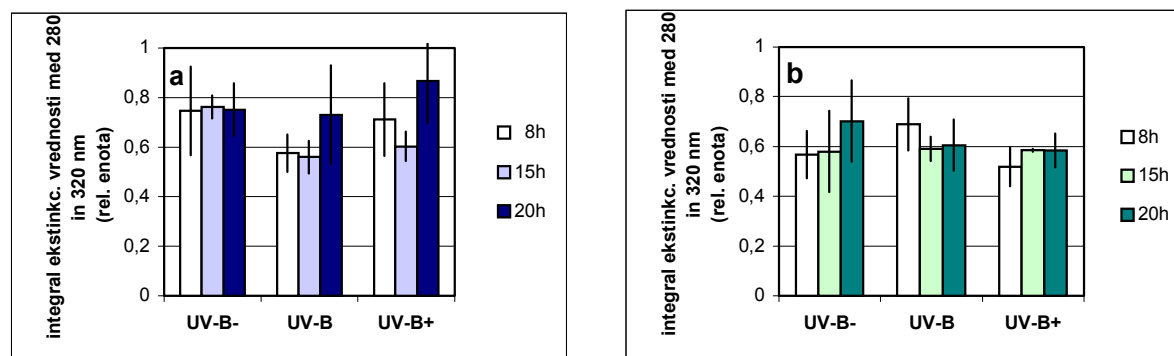
Graf 19. Razmerje vsebnosti klorofilov a in b pri enoletnih iglicah smreke (*Picea abies* (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. Podatki so aritmetične sredine \pm SE, $n = 5$. Dvosmerni T test med UV-B- in UV-B ter UV-B in UV-B+, brez oznake ali nz: neznačilna razlika, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

4.2.5 VSEBNOST UV-B ABSORBIRAJOČIH SNOVI

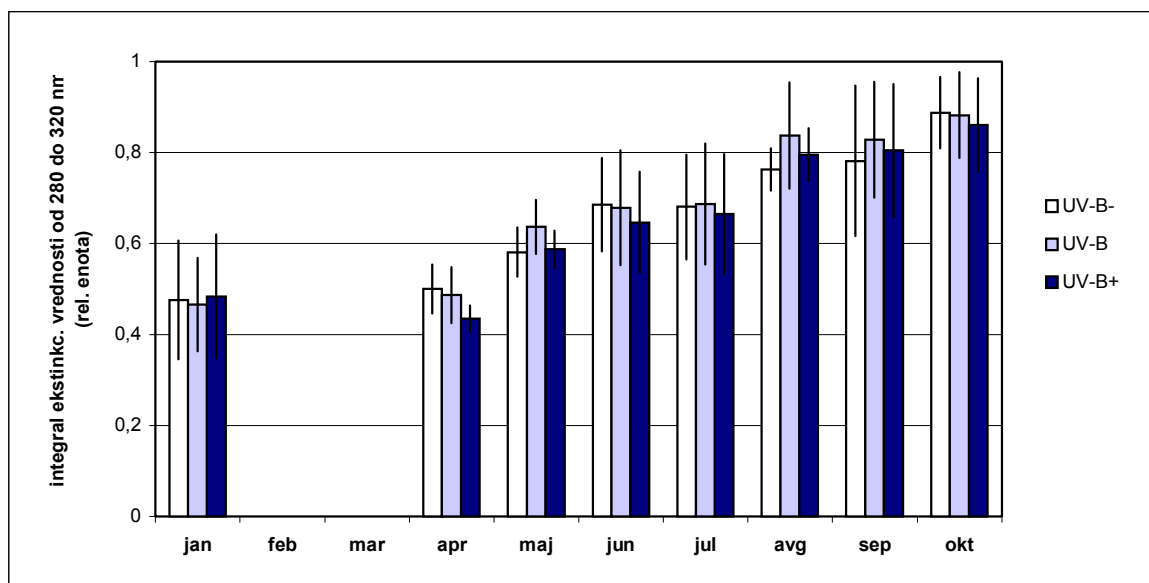
Enkratne meritve dnevnega nihanja vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi, topnih v metanolu, smo opravili meseca avgusta. Vsebnost UV-B snovi smo določali trikrat dnevno, zjutraj kmalu po sončnem vzhodu, po opoldanskem višku UV-B sevanja ter zvečer tik pred sončnim zahodom. Statistično značilnih razlik nismo izmerili niti med različnimi časi dneva v istem tretiranju niti med različnimi tretiranjmi v istem času dneva (Graf 20.).

Na grafih 21. in 22. so prikazana sezonska nihanja vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi iglic smreke treh različnih tretiranj. Povečano UV-B sevanje na vsebnost UV-B absorbirajočih snovi dveletnih iglic smreke statistično značilno ni vplivalo, pri enoletnih iglicah pa je vsebnost UV-B absorbirajočih snovi glede na tretiranje pod zunanjim UV-B sevanjem v mesecu maju statistično značilno večja, v ostalih mesecih se vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi med tretiranjmi ne razlikujejo.

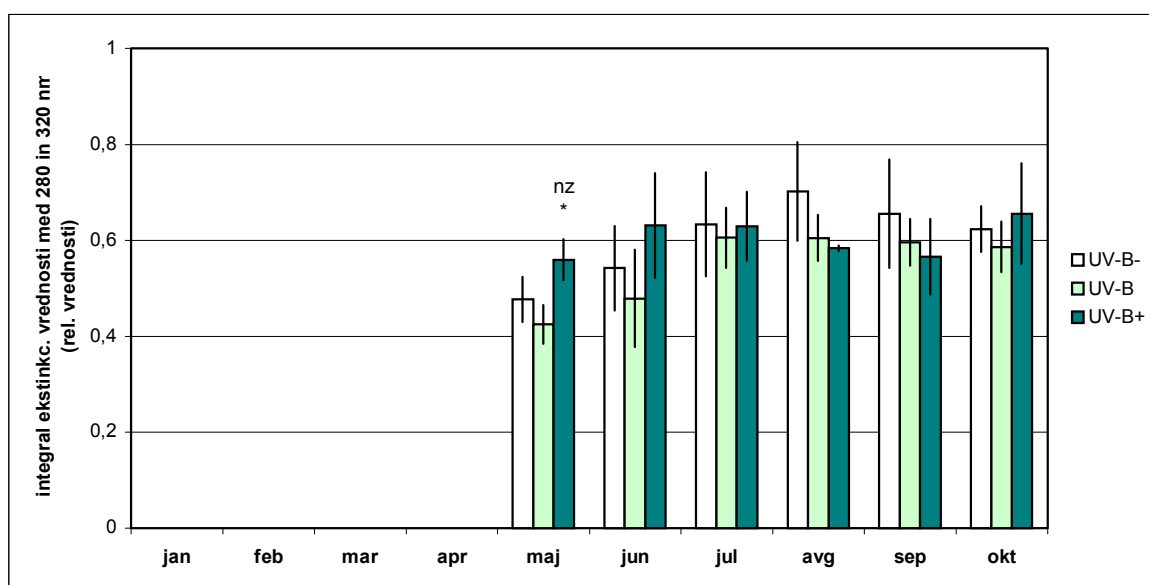
Od aprila do oktobra je absorpcija UV-B sevanja pri smrekovih iglicah obeh starosti največja v kratkovalovnem delu UV-B spektra, pri 290 nm, manjša je pri 300 nm in najmanjša v dolgovalovnem delu spektra, pri 320 nm. Dveletne iglice so januarja večji del UV-B sevanja absorbirale pri 320 nm, nekoliko manjši del pa pri 290 in 300 nm. Tekom sezone se najbolj povečuje absorpcija kratkovalovnega UV-B spektra sevanja. Statistično značilno povečanje absorpcije pri 290, 300 in 320 nm, pod vplivom dodatnega UV-B napram tretiranju pod zunanjim UV-B sevanjem, smo izmerili pri enoletnih iglicah meseca maja (Graf 23.).



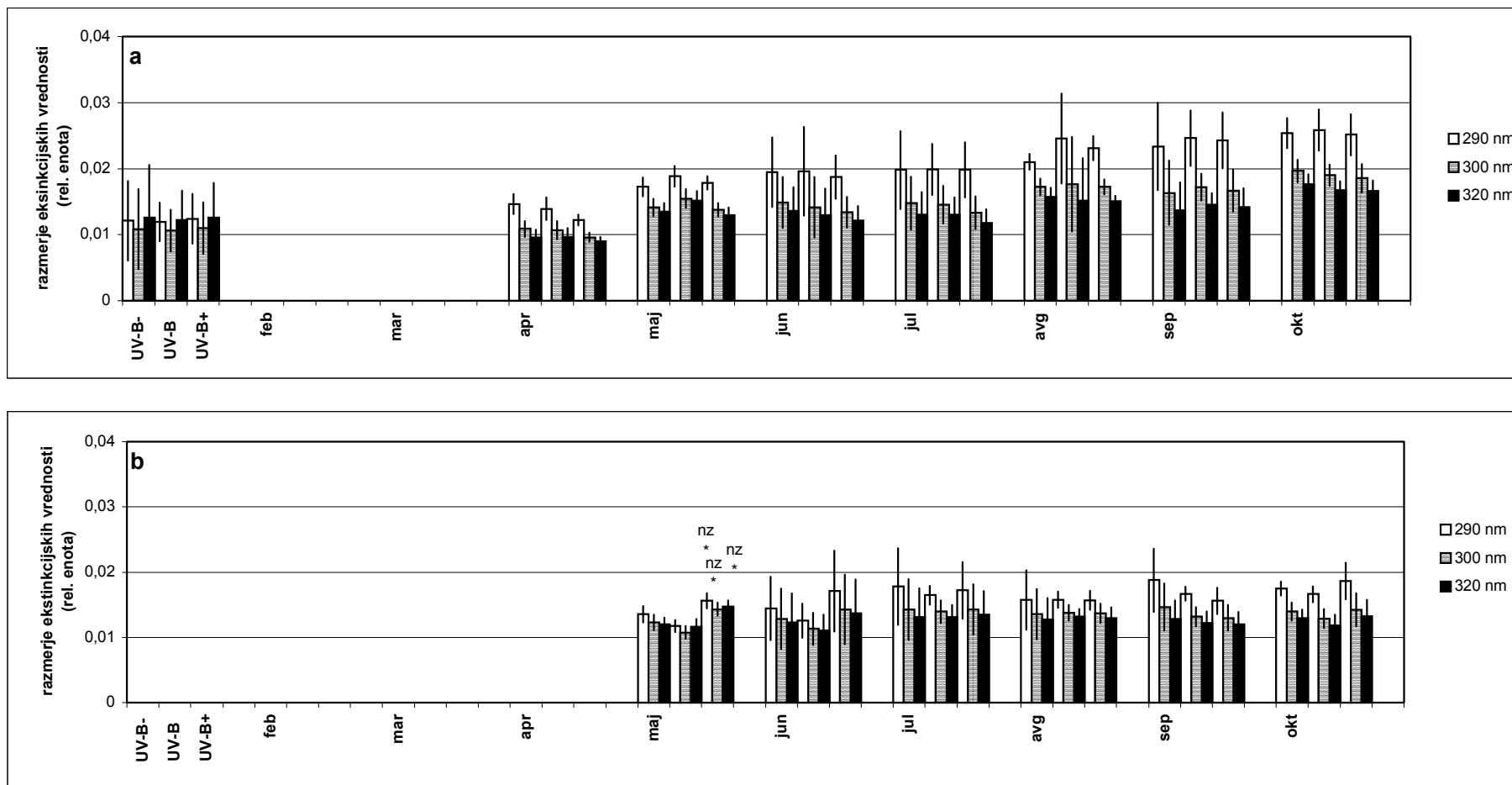
Graf 20. Dnevna nihanja vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi pri dveletnih (a) in enoletnih (b) iglicah smreke (*Picea abies* (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. Podatki so aritmetične sredine \pm SD, $n = 3$. Dvosmerni T test med UV-B- in UV-B ter UV-B in UV-B+, med meritvami ob 8h in 15h ter ob 20h in 15h, brez oznake ali nz: neznačilna razlika, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.



Graf 21. Vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi pri dveletnih iglicah smreke (*Picea abies* (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. Podatki so aritmetične sredine \pm SE, $n = 5/4$. Dvosmerni T test med UV-B- in UV-B ter UV-B in UV-B+, brez oznake ali nz: neznačilna razlika, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.



Graf 22. Vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi pri enoletnih iglicah smreke (*Picea abies* (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. Podatki so aritmetične sredine \pm SE, $n = 5$. Dvosmerni T test med UV-B- in UV-B ter UV-B in UV-B+, brez oznake ali nz: neznačilna razlika, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

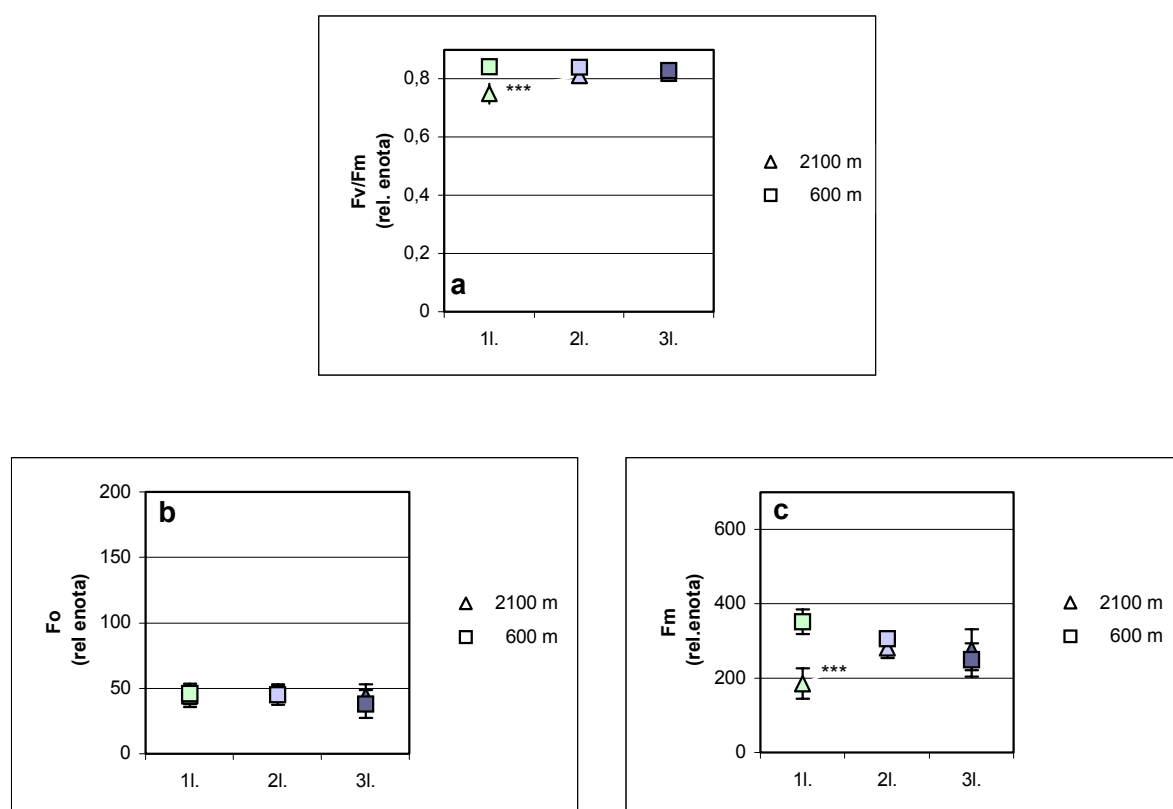


Graf 23. Razmerje ekstinkcijskih vrednosti pri 290, 300 in 320 nm pri dveletnih (a) in enoletnih (b) iglicah smreke (*Picea abies* (L.) Karst.), izpostavljenih različnim intenzitetam UV-B sevanja. Podatki so aritmetične sredine \pm SE, $n = 5/4$. Dvosmerni T test med UV-B- in UV-B ter UV-B in UV-B+, brez oznake ali nz: neznačilna razlika, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

4.3 AKTIVNOST SMREKE NA VISOKOGORSKEM RASTIŠČU

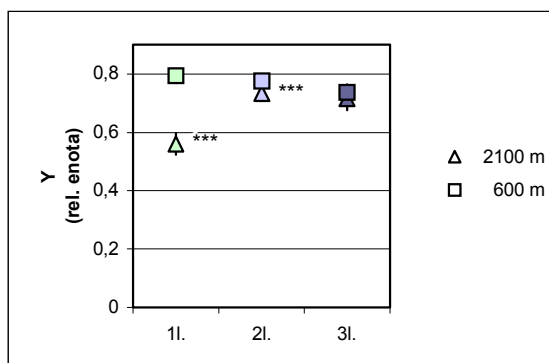
4.3.1 FOTOKEMIČNA UČINKOVITOST FS II

Vrednosti potencialne fotokemične učinkovitosti FS II (F_v/F_m) in vrednosti maksimalne fluorescence temnotno adaptiranega vzorca (F_m) so pri enoletnih iglicah smreke z rastišča Grintovec, na 2100 m nadmorske višine, značilno manjše pri 0,001 stopnji tveganja v primerjavi z vzorci, merjenimi na rastišču Kamniška Bistrica, na 600 m nadmorske višine. Med dveletnimi in triletnimi iglicami statistično značilnih razlik v potencialni učinkovitosti FS II in maksimalni fluorescenci temnotno adaptiranega vzorca nismo izmerili (Graf 24a., 24c.). Vrednosti minimalne fluorescence temnotno adaptiranega vzorca (F_o) se med rastiščema ne razlikujejo (Graf 24b.).



Graf 24. Potencialna fotokemična učinkovitost FS II (F_v/F_m) (a), minimalna fotokemična učinkovitost temnotno adaptiranega vzorca (F_o) (b) in maksimalna fotokemična učinkovitost temnotno adaptiranega vzorca (F_m) (c) pri enoletnih (1l.), dveletnih (2l.) in triletnih iglicah (3l.) smreke (*Picea abies* (L.) Karst.) z rastišč na 2100 m in 600 m nadmorske višine. Podatki so aritmetične sredine \pm SE, $n = 8$. Dvosmerni T test med iglicami enake starosti nabranimi na različnih rastiščih, brez oznake ali nz: neznačilna razlika, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

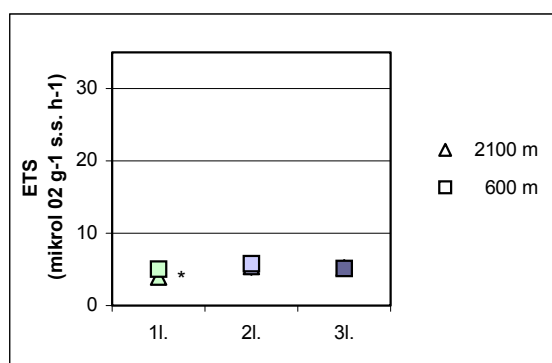
Vrednosti dejanske fotokemične učinkovitosti FS II (Y) so bile pri enoletnih in dveletnih iglicah smreke z visokogorskega rastišča statistično značilno manjše v primerjavi z vzorci z nižinskega rastišča. Pri triletnih iglicah razlika ni bila več statistično značilna (Graf 25.). Na visokogorskem rastišču smo vrednosti Y merili pri PPFD $800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, v nižini je PPFD dosegla $900 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.



Graf 25. Dejanska fotokemična učinkovitost FS II (Y) pri enoletnih (1l.), dveletnih (2l.) in triletnih iglicah (3l.) smreke (*Picea abies* (L.) Karst.) z rastišč na 2100 m in 600 m nadmorske višine. Podatki so aritmetične sredine \pm SE, n = 8. Dvosmerni T test med iglicami enake starosti nabranimi na različnih rastiščih, brez oznake ali nz: neznačilna razlika, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

4.3.2 DIHALNI POTENCIAL

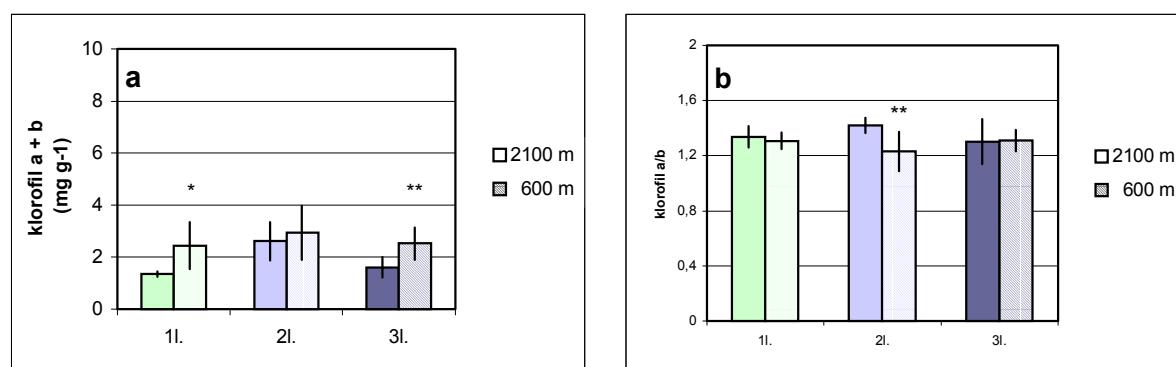
Dihalni potencial (ETS) enoletnih iglic smreke z rastišča na Grintovcu je statistično značilno manjši od dihalnega potenciala vzorcev, nabranih v Kamniški Bistrici. Pri dveletnih in triletnih iglicah statistično značilne razlike v dihalnem potencialu med vzorci z različnih rastišč nismo izmerili (Graf 26.).



Graf 26. Dihalni potencial (ETS) pri enoletnih (1l.), dveletnih (2l.) in triletnih iglicah (3l.) smreke (*Picea abies* (L.) Karst.) z rastišč na 2100 m in 600 m nadmorske višine. Podatki so aritmetične sredine \pm SE, n = 5. Dvosmerni T test med iglicami enake starosti nabranimi na različnih rastiščih, brez oznake ali nz: neznačilna razlika, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

4.3.3 VSEBNOST KLOOROFILOV

Skupna vsebnost klorofilov a in b je pri enoletnih in triletnih iglicah smreke na visokogorskem rastišču statistično značilno manjša kot na nižinskem rastišču (Graf 27.a). Pri dveletnih iglicah statistično značilnih razlik v skupni vsebnosti klorofilov a in b med različnima rastiščema ni, pač pa je na višji nadmorski legi v primerjavi z nižjo več klorofila a napram klorofilu b (Graf 27.b).

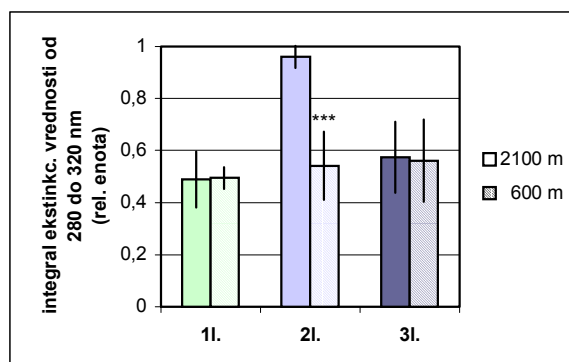


Graf 27. Skupna vsebnost klorofilov a in b (a) in razmerje vsebnosti klorofilov a/b (b) pri enoletnih (1l.), dveletnih (2l.) in triletnih iglicah (3l.) smreke (*Picea abies* (L.) Karst.), z rastišč na 2100 m in 600 m nadmorske višine. Podatki so aritmetične sredine \pm SE, $n = 5$. Dvosmerni T test med iglicami enake starosti nabranimi na različnih rastiščih, brez oznake ali nz: neznačilna razlika, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

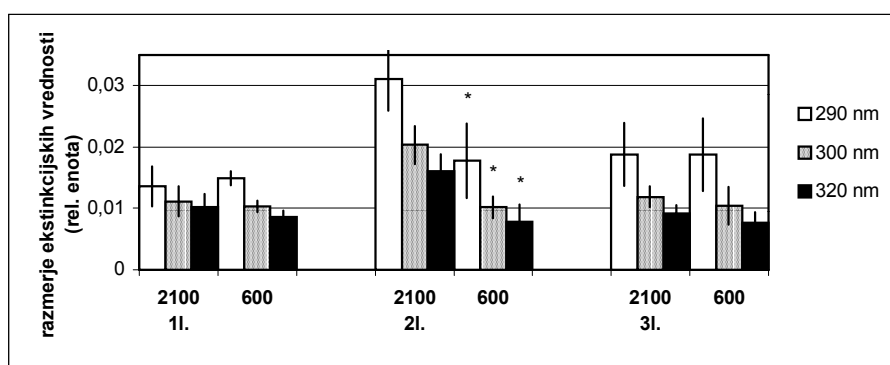
4.3.4 VSEBNOST UV-B ABSORBIRAJOČIH SNOVI

Vsebnost UV-B absorbirajočih snovi pri dveletnih iglicah smreke, rastoče na visokogorskem rastišču, je pri stopnji tveganja 0,001 značilno večja od vsebnosti vzorcev, nabranih na nižinskem rastišču. Vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi enoletnih in triletnih iglic se statistično značilno ne razlikujejo (Graf 28.).

Ekstinkcijske vrednosti UV-B sevanja z ontogenetskim razvojem iglic hitreje naraščajo pri 290 nm kot pri 300 in 320 nm. Ekstinkcijske vrednosti UV-B sevanja pri dveletnih iglicah z višje nadmorske lege so pri 290, 300 in 320 nm statistično značilno večje od ekstinkcijskih vrednosti vzorcev, nabranih na nižinskem rastišču (Graf 29.).



Graf 28. Vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi pri enoletnih (1l.), dveletnih (2l.) in triletnih iglicah (3l.) smreke (*Picea abies* (L.) Karst.) z rastišč na 2100 m in 600 m nadmorske višine. Podatki so aritmetične sredine \pm SE, n = 5. Dvosmerni T test med iglicami enake starosti nabranimi na različnih rastiščih, brez oznake ali nz: neznačilna razlika, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.



Graf 29. Razmerje ekstinkcijskih vrednosti pri 290, 300 in 320 nm pri enoletnih (1l.), dveletnih (2l.) in triletnih iglicah (3l.) iglicah smreke (*Picea abies* (L.) Karst.) z rastišč na 2100 m in 600 m nadmorske višine. Podatki so aritmetične sredine \pm SE, n = 5. Dvosmerni T test med iglicami enake starosti nabranimi na različnih rastiščih, brez oznake ali nz: neznačilna razlika, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$.

5 RAZPRAVA

5.1 UV-B SEVANJE IN KALITEV

UV-B sevanje na kalivost redko deluje inhibitorno (CALDWELL in sod., 1979; FLINT & CALDWELL, 1984), pogosteje pa povečano UV-B sevanje na proces ne vpliva (VAN DE STAALJ, 1994; TOSSERAMS in sod., 1997). Torabinejad in sodelavci (1998) so ugotavljali kalivost štiriintridesetih rastlinskih vrst, izpostavljenih povečanemu UV-B sevanju. Pri petih vrstah se je kalivost statistično značilno zmanjšala, enokaličnice so bile bolj občutljive od dvokaličnic, divje sorte bolj od vzgojenih v rastlinjakih, vrste, ki kalijo zgodaj spomladi, so bile praviloma bolj občutljive od tistih, ki kalijo kasneje.

Povečano UV-B sevanje v našem poskusu ni vplivalo na kalivost smreke (*Picea abies* (L.) Karst.). Enak rezultat so dobili Bavcon in sodelavci (1997), ki so semena smreke kalili pod UV žarnicami (UV-A, UV-B in UV-C spektralni del sevanja) z energijo sevanja $0,35 \text{ W m}^{-2}$. Semenska ovojnica verjetno zagotavlja zadostno zaščito pred prodiranjem UV sevanja v notranjost semena, celo pred prodiranjem UV-C spektra (KRIZEK, 1975).

Dolžina, suha teža in specifična suha teža kalic smreke se med posameznimi tretiranjmi ne razlikujejo. Podoben rezultat so dobili pri številnih rastlinskih vrstah (KRIZEK, 1975; TOSSERAMS in sod., 1997), redko je pri nekaterih kmetijskih rastlinah ob povečanem UV sevanju prišlo do zmanjšanja suhe teže kalic (TEVINI in sod., 1983b). Zmanjšanje suhe teže in dolžine kalic smreke so ugotovili Bavcon in sodelavci (1997), vendar so v obeh poskusih rastline obsevali s celotnim UV spektrom sevanja, zato sklepamo, da je k inhibirani rasti prispeval predvsem UV-C spekter.

Skupne vsebnosti klorofilov a in b ter razmerje klorofilov a/b pri kalicah smreke se pod vplivom povečanega UV-B sevanja ne razlikujejo. Bornman (1989) in Strid s sod. (1990) so pri nekaterih odraslih zelnatih rastlinah, izpostavljenih UV-B sevanju, ugotovili zmanjšane vsebnosti fotosinteznih pigmentov, v številnih drugih poskusih pa UV-B sevanje na vsebnost klorofilov ni vplivalo. Predvidevamo pa, da so kalice v prvih dnevih razvoja bolj občutljive na UV- sevanje, ker še niso razvile vseh zaščitnih mehanizmov (DAY in sod., 1992). Musil (1996) je v poskusu na kalicah vrste *Dimorphotheca sinuata* DC (Asteraceae), dobil negativen vpliv dodatnega UV-B sevanja na vsebnost klorofila a, vendar so zelne rastline praviloma precej bolj občutljive od iglavcev. Primerljivih podatkov o drevesnih vrstah ni.

UV-B absorbirajoče snovi, ki po kemijski sestavi pripadajo predvsem flavonoidom in sorodnim fenolovim spojinam, dobro absorbirajo UV-B sevanje (BORNMAN in sod., 1986) in učinkovito vežejo proste radikale (LONCHAMPT in sod., 1989), zato imajo pomembno vlogo pri zaščiti rastline pred UV-B sevanjem. Prodiranje UV-B sevanja v rastlinsko tkivo s povečanjem vsebnosti UV-B absorbirajočih pigmentov pada, toleranca rastline do UV-B sevanja pa

praviloma narašča (DAY in sod., 1992; BORNMAN & TERAMURA, 1993), čeprav povezava med vsebnostjo UV-B absorbirajočih snovi in odpornostjo rastline proti UV-B sevanju ni vedno enostavna, ker odpornost pogojujejo tudi drugi zaščitni mehanizmi (ADAMSE & BRITZ, 1996). V našem poskusu so relativne integrirane vrednosti UV-B absorbirajočih snovi pri kalicah smreke velike že v prvih dnevih razvoja in so verjetno eden od mehanizmov, ki rastlino zgodaj zaščitijo pred vplivi UV-B sevanja.

Relativne integrirane vrednosti UV-B absorbirajočih snovi se razlikujejo, ko primerjamo tretiranje z dodatnim UV-B s kontrolo brez UV-B sevanja. Vendar razliko razlagamo z nekoliko različnimi temperaturnimi in vlažnostnimi razmerami med posameznimi tretiranjmi in ne z vplivom UV-B sevanja. Pri tretiranju brez UV-B spektra sevanja se nismo uspeli izogniti efektu tople grede, kar je razvidno tudi iz morfoloških meritev, čeprav razlike niso statistično značilne pri stopnji tveganja 0,05. Kalice pod filtrom so krajše, specifična suha teža pa je večja od drugih dveh tretiranj. Sintezo flavonoidov poleg UV-B in UV-A sevanja ter modre in rdeče svetlobe (BORNMAN & TERAMURA, 1993) stimulirajo tudi drugi stresni dejavniki (MURALI & TERAMURA, 1985a; BALAKUMAR in sod., 1993). Vodni stres vpliva na povečanje vsebnosti zaščitnih snovi, zmanjšanje listne površine in povečanje debeline lista (MURALI & TERAMURA, 1986b).

K povečanim vrednostim UV-B absorbirajočih snovi pri tretiranju brez UV-B sevanja značilno prispevajo spojine, ki absorbirajo pri 290 nm, ne pa tudi tiste, ki absorbirajo v območju daljših valovnih dolžin UV-B sevanja. Ker podatkov o kvalitativni in kvantitativni sestavi flavonoidov in sorodnih fenolovih spojin, ki se sintetizirajo pod vplivom različnih okoljskih dejavnikov pri smreki, ni, ne vemo zagotovo, kateri dejavnik je vplival na razlike v vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi pri kalicah v našem poskusu.

Na podlagi rezultatov poskusa sklepamo, da UV-B sevanje z jakostjo, ki ustreza 17% stanjšanju ozonske plasti, nima škodljivega vpliva na kalivost in zgodnji razvoj kalic smreke, vendar poskusne razmere niso bile povsem enake razmeram v naravi. V naravnih habitatih so semena pogosto zasenčena pred direktnim UV-B sevanjem, zato sklepamo, da so odmerki UV-B sevanja manjši od simuliranih v poskusu. Obenem bi se semena v naravi ob stanjšanju ozonske plasti že razvijala ob povečanem UV-B sevanju. Musilov poskus (1996) kaže, da se kalivost semen močneje zmanjša pri semenih, ki so se pod dodatnim UV-B obsevanjem razvijala, kot pri tistih, ki so pri povečanem sevanju le kalila. Naša semena v času razvoja niso bila izpostavljena povečanemu UV-B sevanju, zato vprašanje o vplivu povečanega UV-B sevanja na kalivost smreke v naravnem okolju ostaja odprto.

5.2 VPLIV POVEČANEGA UV-B SEVANJA NA SEJANKE SMREKE

5.2.1 NETO FOTOSINTEZA

Dodatno UV-B sevanje na fotosintezno aktivnost smreke v našem poskusu ni vplivalo. Vrednosti neto fotosinteze pri obsevanih rastlinah se niso razlikovale od tretiranja pod zunanjim UV-B.

Fotosintezna aktivnost smrek, ki so rastle pod filtrom, ki ne prepušča UV-B sevanja, je bila sicer skozi vso sezono manjša od aktivnosti drugih dveh tretiranj, vendar razlike ne moremo pojasniti z različnimi sevalnimi razmerami. Pri tretiranju pod filtrom, ki ne prepušča UV-B sevanja, nismo uspeli vzpostaviti enakih mikroklimatskih razmer, temperature in relativne zračne vlage kot pri drugih dveh tretiranjih. Meritev z rastlin, ki so uspevale brez UV-B sevanja, zato v nadaljevanju ne komentiramo.

Številni poskusi so pokazali tako negativen kot nevtralen vpliv UV-B sevanja na fotosintezo. Različen odziv rastline je odvisen od številnih dejavnikov, kot so odpornost rastline na UV-B sevanje, ontogenetska stopnja razvoja in interakcije UV-B sevanja z drugimi dejavniki okolja. UV-B sevanje na fotosintezo vpliva neposredno in posredno preko različnih mehanizmov (BORNMAN & TERAMURA, 1993).

V poskusu smo izmerili zelo velike vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi v iglicah smreke, celo v zgodnjih stopnjah razvoja, ki so ovira UV-B sevanju pri prodiranju do asimilacijskega tkiva rastlin. DeLucia in sodelavci (1992) so merili prodiranje UV-B sevanja v mezofil dveh subalpskih iglavcev in ugotovili, da v odraslo iglico sevanje te valovne dolžine ne prodira, prodre pa v razvijajoče se iglice. Tevini (1994) je poskus ponovil na razvijajočih se iglicah in izmeril majhno prodiranje sevanja v mezofil. Barnes in sodelavci (1987) ugotavljajo, da je fotosintezni aparat rastlin, ki uspevajo na visokih nadmorskih višinah, bolj odporen na UV sevanje kot pri nižinskih rastlinskih vrstah, vendar odpornost ni vedno povezana z večjo vsebnostjo UV absorbirajočih snovi.

Bavcon in sodelavci (1996) so ugotovili, da fotosintezna aktivnost smreke, celo pri veliko večjih odmerkih UV sevanja kot v našem poskusu, ni bila prizadeta v prvem letu obsevanja, razlike so se pokazale v drugi sezoni. Pri trajnicah pogosto pride do kumulativnega vpliva UV-B sevanja, inhibitoren vpliv se izrazi po več letih obsevanja (SULLIVAN & TERAMURA, 1988). Šprtová in sodelavci (1999) so negativen vpliv UV-B sevanja (z jakostjo, ki ustreza 25% zmanjšanju ozonske plasti) in zmrzali izmerili na enoletnih iglicah v tretji sezoni obsevanja.

Sklepamo lahko, da UV-B sevanje z močjo, ki ustreza 17% zmanjšanju ozonske plasti, ne prizadene fotosintezne aktivnosti smreke, ker sevanje do asimilacijskega tkiva ne prodre. Druga možnost pa je, da je delež UV-B sevanja, ki prodre v mezofil, ali dovolj majhen, da

rastlina poškodbe sproti popravlja, ali pa da pride do kumulativnega efekta in bi negativne posledice sevanja izmerili v naslednjih sezonah.

5.2.2 FOTOKEMIČNA UČINKOVITOST FS II

UV-B sevanje deluje na številne gradnike in procese, ki potekajo v fotosinteznem aparatu, zato pri rastlinah, izpostavljenih UV-B sevanju, lahko pride do zmanjšane potencialne in dejanske fotokemične učinkovitosti FS II. Manjše kvantne učinkovitosti rastline ne spremlja nujno tudi manjša fotosintezna aktivnost (BORNMAN, 1989).

Maksimalne vrednosti potencialne fotokemične učinkovitosti FS II (F_v/F_m) pri listih, ki se razvijajo pri velikih intenzitetah sevanja, so med 0,80 in 0,83, medtem ko se vrednosti pri listih s senčnih rastišč gibljejo med 0,83 in 0,85. Vrednosti, ki so manjše od 0,725, razlagamo kot posledico fotoinhibicije (CRITCHLEY, 1998). Fotoinhibicija je velika pri rastlinah, ki so izpostavljene stresnim razmeram. Mehanizmi fotoinhibicije so različni. Dinamična (kratkotrajna) fotoinhibicija je posledica poškodb proteina D1, ki jih povzroči sevanje. Ob presežnih intenzitetah sevanja, ki se ne porablja sproti za regeneracijo ATP in $NADH_2$, niti se v zadostni meri ne sprošča v obliki toplote, temveč vodi do razgradnje D1, hitrost razgradnje proteina D1 presega hitrost ponovne sinteze tega proteina. Rezultat je zmanjšana fotokemična učinkovitost fotosistema II (DEMMIG-ADAMS & ADAMS, 1992). Kronična (dolgotrajna) fotoinhibicija pomeni fotooksidacijske poškodbe gradnikov fotosistema. Do kronične fotoinhibicije pride, kadar sproščanje presežne ekscitacijske energije ni zadostno, energija sevanja se porablja za fotokemično delo, vendar pa ni na razpolago dovolj NADP. Zato pride do aktiviranja kisika in nastajanja aktivnih kisikovih oblik, ki poškodujejo fotosintezni aparat. Mehanizmi sproščanja presežne ekscitacijske energije so oddajanje energije v obliki toplote (posledica prehajanja violaksantina v zeaksantin), v manjšem obsegu fluorescenca, Mehlerjeva in askorbat-peroksidazna reakcija ter fotorespiracija (BJÖRKMAN & DEMMIG-ADAMS, 1994; ADAMS & BARKER, 1998).

Bavcon in sodelavci (1996) so zmanjšanje potencialne fotokemične učinkovitosti FS II na smreki izmerili v drugi sezoni obsevanja z UV-B, Šprtová in Marek (1999) sta negativen vpliv sinergističnega delovanja UV-B sevanja in zmrzali izmerila na enoletnih iglicah v tretji sezoni obsevanja. Odmerki obsevanja so bili v obeh poskusih večji od naših.

V našem poskusu dodatno UV-B sevanje na potencialno fotokemično učinkovitost FS II (F_v/F_m) ni vplivalo niti pri enoletnih niti pri dveletnih iglicah. UV-B sevanje z močjo, ki ustreza 17% zmanjšanju ozonske plasti, torej ni stresni dejavnik, ki bi pri smreki privedel do dolgotrajne fotoinhibicije, ki je posledica fotooksidacijskih poškodb gradnikov FS II (SCHREIBER in sod., 1998).

Kljub statistično neznačilnim razlikam vrednosti potencialne fotokemične učinkovitosti FS II je pri dveletnih iglicah prišlo do značilnih razlik vrednosti maksimalne fluorescence temotno adaptiranih vzorcev (Fm). Maksimalna fluorescence je bila pod vplivom UV-B sevanja značilno manjša v februarju in avgustu glede na tretiranje pod zunanjim UV-B sevanjem. Pozimi je prišlo do sinergističnega delovanja nizkih temperatur, fiziološke suše in UV-B sevanja. Nizke temperature inhibitorno delujejo na encimsko aktivnost, zato se upočasnijo popravljalni procesi in tudi fiksacija ogljikovega dioksida v Calvinovem ciklu. Potreba po ATP in NADPH₂ se zmanjša, akceptorji elektronov ostajajo reducirani, elektroni se prenašajo na molekularni kisik ter druge molekule, pri čemer nastajajo prosti radikali, in fotooksidacijske poškodbe kloroplasta se povečajo (HUNER in sod., 1993; BORNMAN in sod., 1999). Tudi vodni stres vpliva na zmanjšanje fotokemične učinkovitosti fotosistema (MURALI & TERAMURA, 1986b). Povečan negativni vpliv UV-B sevanja ob sočasnem delovanju stresnih dejavnikov so ugotovili tudi nekateri drugi avtorji (SCHULZE, 1986; MURALI & TERAMURA, 1986b; BAVCON in sod., 1996). Vrednosti Fm so pod dodatnim UV-B poleti neznačilno manjše od obeh kontrol, avgusta so značilno manjše, oktobra pa razlik ni več. Poleti je UV-B sevanje najmočnejše in zmanjšanje Fm vrednosti je morda posledica neposrednega negativnega delovanja UV-B sevanja na fotokemično učinkovitost fotosistema. Zmanjšanje vrednosti Fm predstavlja povečanje nefotokemičnega dela dušenja fluorescence, se pravi sproščanja presežne ekscitacijske energije kot toplote, pri čemer je vpletenih več procesov, in zmanjšanje fotokemičnega dela dušenja, to je elektronskega transporta skozi fotosistem (DEMMING-ADAMS & ADAMS, 1992). Značilno povečanje nefotokemičnega dela dušenja fluorescence pri dveletnih iglicah pozimi je pokazal tudi parameter NPQ, poleti pa značilnih razlik nismo več izmerili. Pri občutljivih rastlinah so pod vplivom UV-B sevanja pogosto izmerili zmanjšanje nefotokemičnega dela dušenja fluorescence, ki so ga razlagali z inhibitornim vplivom UV-B na procese, ki so udeleženi pri oddajanju presežne ekscitacijske energije (MUSIL, 1996). Sklepamo, da pri dveletnih iglicah smreke ni prišlo do poškodb mehanizmov oddajanja presežne energije sevanja, zato se je v stresnih razmerah, pozimi, sproščanje presežne ekscitacijske energije povečalo.

UV-B sevanje na maksimalno fluorescenco temotno adaptiranih vzorcev enoletnih iglic ni vplivalo, nefotokemični del dušenja fluorescence, izražen kot NPQ, pa je bil pod vplivom UV-B sevanja manjši od kontrole pod zunanjim UV-B meseca maja. Rastline so bolj občutljive na UV-B sevanje v času rasti, ko vsi zaščitni mehanizmi še niso razviti (FLINT & CALDWELL, 1984). Dodatno UV-B sevanje je zato predstavljajo stres za enoletne iglice smreke meseca maja, v času brstenja, kasneje pa povečanega sproščanja ekscitacijske energije na račun toplote pod dodatnim UV-B sevanjem nismo izmerili.

Minimalne vrednosti fluorescence temotno adaptiranih vzorcev (Fo) se pod dodatnim UV-B sevanjem niso spremenile ne pri enoletnih ne pri dveletnih iglicah smreke. Fo vrednosti so rezultat fluorescence klorofila v kompleksu antenskih pigmentov, zato sklepamo, da dozirana

jakost UV-B sevanja klorofila v kompleksu antenskih pigmentov in prenosa ekscitacijske energije na klorofil reakcijskega centra ni prizadela (ŁUKASZEK & POSKUTA, 1996).

Dejanska fotokemična učinkovitost FS II (Y) se pri PPFD nad 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ pod vplivom dodatnega UV-B sevanja ni zmanjšala ne pri enoletnih ne pri dveletnih iglicah smreke, zato sklepamo, da dodatno UV-B sevanje ni stresni dejavnik, ki bi pri smreki povzročil kratkotrajno fotoinhibicijo. Šprtová in Marek (1999) pa sta zmanjšanje dejanske fotokemične učinkovitosti FS II pod vplivom UV-B sevanja, ki je ustrezalo 25% stanjšanju ozonske plasti, in zmrzali izmerila na enoletnih iglicah smreke v tretji sezoni obsevanja.

Rezultati kažejo, da fotokemična učinkovitost FS II pri smreki po eni sezoni obsevanja z UV-B ni nepopravljivo prizadeta. Glede na ugotovitve Bavcona in sodelavcev (1996) ter Šprtové in Mareka (1999) pa kumulativni efekt UV-B sevanja ni izključen.

5.2.3 DIHALNI POTENCIAL

V nasprotju s številnimi raziskavami, ki preučujejo vpliv UV-B sevanja na fotosintezne procese, je poskusov, ki bi se ukvarjali z vplivom UV-B sevanja na dihanje, zelo malo. Łukaszek in Poskuta (1996) sta ugotovila, da kratkotrajno UV-B obsevanje na temotno dihanje pri trstikasti bilnici (*Festuca arundinacea*) ne vpliva ali ga celo stimulira. Rastlina verjetno na ta način pridobiva dodatni ATP in NADH za metabolne procese, ki predstavljajo zaščitni odgovor rastline na povečano UV-B sevanje, ter obenem nadomešča ATP zaradi zmanjšane fotofosforilacije, do katere pride pod vplivom UV-B sevanja.

Pri smreki statistično značilnih razlik v dihalnem potencialu (ETS) med tretiranjem pod dodatnim UV-B in kontrolo pod zunanjim UV-B sevanjem razen enkrat, pri enoletnih iglicah v avgustu, nismo izmerili. Neznačilno povečan dihalni potencial pod dodatnim UV-B obsevanjem smo izmerili maja in junija, kasneje je bilo dihanje neznačilno manjše.

Mehanizem delovanja UV-B sevanja na respiratorne procese ni znan, zato ne vemo, ali je zmanjšanje dihanja v poskusu posledica morebitnega neposrednega vpliva UV-B sevanja na procese v mitohondriju. Bolj verjetno je do zmanjšane respiratorne aktivnosti prišlo posredno, zaradi delovanja UV-B sevanja na številne biokemijske procese v celici. Pod vplivom UV-B sevanja se pogosto zmanjšajo vsebnosti sladkorjev in škroba v rastlinskih celicah, ne pa tudi suha teža rastlinskih organov in vsebnost UV-B absorbirajočih snovi (MUSIL, 1996). Izraba ogljikovodikov se pod vplivom UV-B sevanja spremeni, zmanjša se delež, namenjen primarnemu metabolizmu, dihanju in biosintezi proteinov in sicer na račun povečanega deleža za sekundarni metabolizem, sintezo fenolov in fenolom sorodnih spojin, ki sodelujejo pri zaščitnem odgovoru rastline na UV-B sevanje (LANDRY in sod., 1995).

5.2.4 VSEBNOST KLOROFILOV

Skupna vsebnost klorofilov a in b se pod povečanim UV-B sevanjem glede na kontrolo pod zunanjim UV-B sevanjem ni spremenila ne pri dveletnih ne pri enoletnih iglicah smreke.

Kvantitativne in kvalitativne spremembe fotosinteznih pigmentov služijo kot pokazatelj vitalnosti rastline (LICHTENTHALER, 1993). Pod vplivom povečanega UV-B sevanja pride do zmanjšanja vsebnosti fotosinteznih pigmentov, klorofilov in karotenoidov, vsebnost fotosinteznih pigmentov naraste ali pa ostane nespremenjena (BORNMAN, 1989; STRID in sod., 1990; MIDDLETON & TERAMURA, 1993). Bavcon in sodelavci (1996) ter Šprtová in sodelavci (1999) so pri smreki izmerili zmanjšanje vsebnosti klorofilov pod dodatnim UV-B sevanjem, ki je po jakosti ustrezalo 25% in večjemu stanjšanju ozonske plasti. K zmanjšanju vsebnosti klorofilov a in b v največji meri doprinese zmanjšanje klorofila a, ki se nahaja pretežno v reakcijskem centru FS II. Vsebnost klorofila b, ki ga izoliramo predvsem iz kompleksa antenskih pigmentov, se pod vplivom UV-B sevanja pogosto ne spremeni, tako pride do zmanjšanja razmerja vsebnosti klorofilov a/b (AMBASHT & AGRAWAL, 1995; BAVCON in sod., 1996; MUSIL, 1996; ŠPRTOVÁ in sod., 1999).

V našem poskusu so razmerja vsebnosti klorofilov a/b pri dveletnih iglicah smreke pod povečanim UV-B sevanjem enaka razmerjem pod zunanjim UV-B sevanjem. Pri enoletnih iglicah se razmerje vsebnosti klorofilov a/b pod vplivom dodatnega UV-B sevanja glede na obe kontroli statistično značilno poveča meseca maja in zmanjša meseca oktobra. Spremembe, ki smo jih opazili pri enoletnih, razvijajočih se iglicah, na pa tudi pri dveletnih iglicah, razlagamo s spoznanjem DeLucia in sodelavcev (1992), ki so izmerili, da UV-B sevanje ne prodira v odrasle iglice subalpskih iglavcev, prodre pa v razvijajoče se iglice.

Značilno povečanje razmerja klorofilov a/b pod dodatnim UV-B meseca maja pri enoletnih iglicah se ujema z rezultati avtorjev Day & Demchik (1996), ki sta ugotovila povečano razmerje klorofilov a/b pri repi (*Brassica rapa*). Pri sintezi karotenoidov in klorofilov sodelujejo UV-B, UV-A in modra svetloba (RAU & SCHROTT, 1987). UV-B sevanje sproži sintezo klorofilov, obenem pa vpliva na številne procese, ki povratno negativno delujejo na vsebnost klorofilov, zato je končni učinek odvisen od intenzitete in trajanja UV-B obsevanja, interakcije sevanja z drugimi okoljskimi dejavniki in odpornosti rastline.

Oktobrsko zmanjšanje razmerja vsebnosti klorofilov a/b pod vplivom UV-B sevanja, se ujema z rezultati, ki so jih dobili Bavcon s sodelavci (1996) in Šprtová s sodelavci (1999), ki so dokazali zmanjšanje razmerja pri smreki. Verjetno pod vplivom UV-B sevanja pride do pregradnje fotosinteznega aparata, ki vodi k večji učinkovitosti antenskega pigmentnega kompleksa medtem ko se zmanjša vsebnost klorofila a, ki je verjetno bolj občutljiv za UV-B sevanje kot klorofil b (BORNMAN & VOGELMAN, 1991). Demmig-Adams in Adams (1992) razlagata zmanjšanje vsebnosti klorofila a kot del zaščitnega mehanizma, ki varuje fotosintezni aparat pred fotooksidacijskimi poškodbami. Oktobrske meritve morda kažejo

kumulativni vpliv UV-B sevanja, da pa bi vpliv potrdili, bi morali poskus nadaljevati v naslednji sezoni.

Številni avtorji so pri rastlinah pod vplivom UV-B sevanja ugotovili tudi povečane vsebnosti karotenoidov (MIDDLETON & TERAMURA, 1993; CUADRA & HARBORNE, 1996). Uravnavanje oddajanja presežne ekscitacijske energije poteka preko karotenoidov ksantofilnega cikla (DEMMIG-ADAMS, 1990). Zato manjša vsebnost klorofilov ni vedno v korelaciji z manjšo fotokemično učinkovitostjo. V nekaterih primerih je kljub zmanjšani vsebnosti klorofilov prišlo do povečane fotosintezne aktivnosti (GENTY in sod., 1989).

5.2.5 VSEBNOST UV-B ABSORBIRAJOČIH SNOVI

Vednozeleni iglavci montanskega in subalpinskega pasu so izrazito odporni proti poškodbam, ki jih povzroča UV-B sevanje. Sullivan in Teramura (1988) sta ugotovila inhibirano rast petih od desetih preskušanih iglavcev pod dodatnim UV-B sevanjem. Občutljivi iglavci so uspevali v nižinskem, odporni pa v subalpinskem pasu. Odpornost razlagamo z učinkovito epidermalno absorpcijo UV-B sevanja in dobro razvitimi drugimi zaščitnimi mehanizmi (CALDWELL in sod., 1982). K dobri absorpciji UV-B sevanja pri vednozelenih iglavcih prispevajo anatomske značilnosti epidermide in velika vsebnost UV-B absorbirajočih snovi (DeLUCIA in sod., 1992). Gordon in sodelavci (1998) so ugotovili, da se kemijska sestava epikutikularnih voskov pri smreki pod vplivom UV-B sevanja spremeni. Vendar Day in sodelavci (1992) zavračajo hipotezo, da bi epikutikularni voski prispevali k zaščiti rastline pred UV-B sevanjem. S pomočjo optičnih vlaken so izmerili nespremenjeno epidermalno prepustnost za UV-B sevanje pred in po odstranitvi epikutikularnih voskov z iglic.

Sullivan in sodelavci (1996) so s pomočjo optičnih vlaken izmerili, da v mezofil odrasle iglice bora *Pinus taeda* z nižinskih rastišč prodre manj kot 0,5% UV-B sevanja, medtem ko v mlado iglico prodre 1% UV-B sevanja. DeLucia in sodelavci (1992) pa so na dveh subalpskih iglavcih, *Picea engelmannii* in *Abies lasiocarpa*, z enako metodo izmerili, da UV-B sevanje prodira v mezofil razvijajočih se iglic, medtem ko do mezofila odrasle iglice ne prodre. Večji del UV-B sevanja ne prehaja niti skozi zunanjo celično steno epidermide, kar kaže, da so za absorpcijo UV-B sevanja v veliki meri odgovorni pigmenti celične stene in ne le v metanolu topni pigmenti iz vakuole. Flavonoidi, kovalentno vezani v celični steni, prispevajo k zmanjšani prepustnosti epidermide za UV-B sevanje predvsem pri iglavcih, manj pri listnatih lesnatih rastlinah in le malo pri zelnatih rastlinah (DAY in sod., 1993). V nadaljevanju poskusa bi bilo zato smiselno analizirati UV-B absorbirajoče snovi, vezane v celični steni.

Zmožnost kopičenja UV-B absorbirajočih snovi je genetsko pogojena (SATO & KUMAGAI, 1997). Počasi rastoče rastline praviloma sintetizirajo večje količine sekundarnih metabolitov,

med njimi tudi UV-B absorbirajočih snovi, kot hitro rastoče rastline (BAZZAZ in sod., 1987; HERMS & MATTSON, 1992). Vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi, topnih v metanolu, so pri smreki v primerjavi z vsebnostmi pri zelnatih rastlinah (GERM, 2000; ČRV-NOVAK, 2000; MAZEJ, 2000) velike. Vsebnost UV-B absorbirajočih snovi je pri dveletnih iglicah večja kot pri enoletnih iglicah, tekem sezone pa se predvsem pri dveletnih iglicah povečuje. Podoben rezultat so pri boru *Pinus taeda* dobili Sullivan s sodelavci (1996), vsebnost UV-B absorbirajočih snovi se ni spreminjala s povečanim UV-B obsevanjem, pač pa s starostjo iglic. Dodatno UV-B sevanje na vsebnost UV-B absorbirajočih snovi dveletnih iglic smreke ni vplivalo. Pri enoletnih iglicah je vsebnost UV-B absorbirajočih snovi pod vplivom dodatnega UV-B glede na tretiranje pod zunanjim UV-B sevanjem v mesecu maju večja, v ostalih mesecih se vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi med tretiranj ne razlikujejo. Značilno povečanje UV-B absorbirajočih snovi v prvih tednih razvoja iglic razlagamo z relativno velikim prodiranjem UV-B sevanja do UV-B receptorjev v mezofilu, kar dodatno stimulira sintezne poti UV-B absorbirajočih snovi. Rezultat se ujema z ugotovitvijo, da UV-B inducirani flavonoidi izrazito narastejo le pri mladih, ne pa tudi pri starih listih (LOIS, 1994). Prodiranje UV-B sevanja v mezofil pa pomeni, da so tudi motnje fizioloških in razvojnih procesov v zgodnjih fazah razvoja bolj verjetne kot pri zrelih iglicah.

Flint in sodelavci (1985) so postavili hipotezo, da ambientalna intenziteta UV-B sevanja dosega saturacijske vrednosti za indukcijo sinteze UV-B absorbirajočih snovi. Naši rezultati pa kažejo, da se pri kontrolnih rastlinah, ki so rastle brez UV-B sevanja, tvori enaka množina UV-B absorbirajočih snovi kot ob prisotnosti UV-B sevanja. Sintezo flavonoidov inducirajo UV-B in UV-A sevanje ter modra in rdeča svetloba (BORNMAN & TERAMURA, 1993). Iz rezultatov sklepamo, da pri smreki sinteza UV-B absorbirajočih snovi poteka tudi brez aktiviranja UV-B receptorja.

Kvantitativni in kvalitativni vzorec flavonoidov pri rastlini je odvisen od spektra sevanja (BORNMAN & TERAMURA, 1993). Olsson s sodelavci (1998) je pri navadni ogrščici (*Brassica napus*) ugotovil, da se pod vplivom UV-B sevanja spremenijo deleži dveh glavnih skupin flavonoidov, kampferol in kvercetin glikozidov. Vsebnost kvercetin glikozidov se poveča tridesetkrat bolj od vsebnosti kampferol glikozidov. Kvercetin glikozidi so učinkovitejši lovilci prostih radikalov kot kampferol glikozidi, zato kvalitativno spremembo flavonoidov smatramo kot stresni odgovor rastline na UV-B. V magistrski nalogi kvalitativnih analiz po HPLC metodi nismo naredili, spremljali smo le razmerja ekstinkcijskih vrednosti pri 290, 300 in 320 nm. Od aprila do oktobra je absorbcija UV-B sevanja pri smrekovih iglicah obeh starosti največja v kratkovalovnem delu UV-B spektra, pri 290 nm, manjša je v sredini UV-B spektra, pri 300 nm, in najmanjša v dolgovalovnem delu spektra, pri 320 nm. Dveletne iglice so januarja večji del UV-B sevanja absorbirale pri 320 nm, nekoliko manjši del pa pri 290 in 300 nm. Tekom sezone se je najbolj povečala absorbcija kratkovalovnega UV-B spektra sevanja. K povečanju vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi pri enoletnih iglicah meseca maja so doprinesle snovi, ki

absorbirajo tako v zgornjem kot v srednjem in spodnjem delu UV-B spektra. Pod vplivom dodatnega UV-B smo izmerili značilno večje absorpcije pri 290, 300 in 320 nm. V nadaljevanju poskusa pa bi bilo smiselno narediti kvalitativne analize UV-B absorbirajočih snovi.

Vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi so bile pri vseh treh tretiranjih enake, zjutraj, zgodaj popoldan in zvečer. Veit in sodelavci (1996) so pri tropskem drevesu *Anacardium excelsum* in polarni praprotnici *Cryptogramma crispera*, izpostavljenih polnemu sončnemu sevanju, ugotovili, da vsebnost v metanolu topnih UV-B absorbirajočih snovi od zore do poldneva narašča, popoldan in zvečer pa upada. Vsebnosti pri rastlinah, ki jih ni doseglo UV-B sevanje, niso nihale. Podobno odvisnost vsebnosti flavonoidov od UV-B sevanja so ugotovili tudi Caldwell in sodelavci (1994) pri soji. Nihanja vsebnosti v metanolu topnih UV-B absorbirajočih snovi so verjetno posledica povečane sinteze, kar sklepamo iz povečane encimske aktivnosti flavonoidne sintezne poti (CUADRA & HARBORNE, 1996), morda pa tudi prehajanja netopnih UV-B absorbirajočih snovi iz celične stene v vakuolo (VEIT in sod., 1996). Lois (1994) je pri repnjakovcu (*Arabidopsis thaliana*) ugotovil, da gre za konstitutivne in inducibilne flavonoide. Vsebnost konstitutivnih UV-B absorbirajočih snovi je odvisna od starosti lista, inducibilni flavonoidi pa so specifični za zgodnje stopnje v ontogenetskem razvoju organa in so v korelaciji z UV-B sevanjem. Pri smreki, ki smo jo dodatno obsevali z UV-B, je prišlo do UV-B inducirane sinteze flavonoidov pri razvijajočih se iglicah, ko je UV-B sevanje verjetno še prodiralo do receptorjev v mezofilu. Kasneje je potekala izgradnja konstitutivnih flavonoidov.

5.3 AKTIVNOST SMREKE NA VISOKOGORSKEM RASTIŠČU

Rastline, ki uspevajo v gorah, so pogosto izpostavljene stresnim odmerkom okoljskih dejavnikov, predvsem veliki intenziteti sevanja (vidne svetlobe in UV), ekstremnim temperaturnim razmeram, pomanjkanju vode ter hranil in zračnemu onesnaženju. Odgovor rastline na okoljske dejavnike je kompleksen.

5.3.1 FOTOKEMIČNA UČINKOVITOST FS II

Značilno manjšo potencialno fotokemično učinkovitost fotosistema II (Fv/Fm) smo izmerili pri enoletnih iglicah smreke v visokogorju v primerjavi z enako starimi iglicami v nižinskem pasu. Pri dveletnih in triletnih iglicah razlike v razmerju Fv/Fm niso bile več statistično značilne. Povprečna vrednost Fv/Fm enoletnih iglic smreke s subalpinskega rastišča je 0,71, kar razlagamo kot posledico fotooksidacijskih poškodb fotosistema (CRITCHLEY, 1998).

Razvijajoče se iglice še niso dovolj zaščitene pred prodiranjem UV-B sevanja v notranjost asimilacijskega tkiva (DeLUCIA in sod., 1992). To delno potrjujejo tudi naše meritve v metanolu topnih UV-B absorbirajočih snovi; vsebnosti so pri dveletnih iglicah za 47% večje od vsebnosti pri enoletnih iglicah. K zaščiti pred prodiranjem UV-B sevanjem v mezofil pri iglavcih v precejšnji meri pripomorejo tudi fenolove spojine, kovalentno vezane v celični steni epidermide (DAY in sod., 1993). Vendar iz meritev ne moremo sklepati, v kolikšni meri so k zmanjšani fotokemični učinkovitosti prispevali drugi stresni dejavniki. Epikutikularna voskasta prevleka je v prvih mesecih razvoja iglic smreke zelo tanka (CAPE & PERCY, 1993), zato so mlade iglice bolj izpostavljene temperaturnemu, vodnemu in sevalnemu (PAR) stresu ter vplivu zračnega onesnaženja kot zrele iglice (GORDON in sod., 1998). Zmanjšanje fotokemične učinkovitosti FS II pri smreki pod vplivom UV-B sevanja so izmerili tudi Bavcon in sodelavci (1996) na različno starih iglicah ter Šprtová in Marek (1999) na enoletnih iglicah, vendar poskusne razmere niso bile popolnoma primerljive.

Izmerili smo tudi značilno manjše vrednosti maksimalne fluorescence temotno adaptiranih vzorcev (Fm) pri enoletnih iglicah smreke z visokogorskega rastišča, pri starejših iglicah razlik ni bilo. Zmanjšanje vrednosti Fm predstavlja povečanje nefotokemičnega dela dušenja fluorescence, se pravi sproščanja presežne ekscitacijske energije kot toplote, pri čemer je vpletenih več procesov in zmanjšanje fotokemičnega dela dušenja, to je elektronskega transporta skozi fotosistem (DEMMING-ADAMS & ADAMS, 1992).

Vrednosti minimalne fluorescence temotno adaptiranih vzorcev (Fo) so enake pri smrekah s visokogorskega in nižinskega rastišča. Fo vrednosti so rezultat fluorescence klorofila v kompleksu antenskih pigmentov, zato sklepamo, da dozirana jakost UV-B sevanja klorofila v kompleksu antenskih pigmentov in prenosa ekscitacijske energije na klorofil reakcijskega centra ni prizadela (ŁUKASZEK & POSKUTA, 1996).

Vrednosti dejanske fotokemične učinkovitosti FS II (Y) pri PPFD blizu $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ so pri enoletnih in dveletnih iglicah smreke z visokogorskega rastišča manjše v primerjavi z vzorci z nižinskega rastišča. V visokogorju je pri enoletnih iglicah prišlo do dolgotrajne fotoinhibicije, ker je tudi potencialna fotokemična učinkovitost majhna, pri dveletnih iglicah pa je prišlo do kratkotrajne fotoinhibicije. Enoletne in dveletne iglice v visokogorju torej izkoristijo manjši delež ekscitacijske energije za fotokemično delo kot enako stare iglice v kolinskem pasu. Pri triletnih

iglicah razlike dejanske fotokemične učinkovitosti niso bile več statistično značilne, zato sklepamo, da zaščitni in popravljalni mehanizmi pri tej starosti iglic popolnoma popravijo in preprečijo poškodbe, ki so jih povzročili raznovrstni stresni dejavniki v času razvoja iglic. Rezultat se ne ujema z meritvami številnih avtorjev, ki so ugotovili kumulativni efekt UV-B sevanja, kjer se je obseg poškodb z leti izpostavljenosti rastline stopnjeval (TERAMURA & SULLIVAN, 1994). Smreka je glede na naše rezultate sposobna popravljati in preprečevati škodljive vplive UV-B sevanja.

5.3.2 DIHALNI POTENCIAL

Dihalni potencial (ETS) enoletnih iglic smreke z visokogorskega rastišča je manjši od dihalnega potenciala vzorcev, nabranih v nižinskem pasu, pri starejših iglicah pa značilne razlike v dihalnem potencialu med vzorci z različnih rastišč nismo izmerili. Rezultat se ujema s spoznanji, da UV-B sevanje na iglice najbolj negativno deluje v prvih mesecih razvoja, ko zaščitni mehanizmi še niso popolnoma razviti (DeLUCIA in sod., 1992; CAPE & PERCY, 1993). Łukaszek in Poskuta (1996) sta sicer ugotovila, da kratkotrajna izpostavljenost trstikaste bilnice UV-B sevanju na temotno dihanje ne vpliva ali ga stimulira, vendar je odgovor rastline na akutni stres pogosto zelo drugačen od odgovora na kronični stres (NILSEN & ORCUTT, 1996), kakršen je prisoten v našem poskusu, četudi so odmerki enaki.

5.3.3 VSEBNOST KLOOROFILOV

Skupna vsebnost klorofilov a in b je pri enoletnih in triletnih iglicah smreke na visokogorskem rastišču manjša kot na nižinskem rastišču. Pri dveletnih iglicah razlik v skupni vsebnosti klorofilov a in b med različnima rastiščema nismo izmerili, pač pa je pri dveletnih iglicah z višje nadmorske višine več klorofila a napram klorofilu b.

Bavcon s sodelavci (1996) in Šprtová s sodelavci (1999) so izmerili zmanjšanje vsebnosti klorofilov pod dodatnim UV-B sevanjem pri smreki, znani pa so tudi poskusi na drugih rastlinah, kjer do zmanjšanja vsebnosti klorofilov ni prišlo ali pa se je vsebnost celo povečala (MIDDLETON & TERAMURA, 1993). Rastlina in njeni organi so v različnih fazah razvoja različno občutljivi na posamezne stresne dejavnike (NILSEN & ORCUTT, 1996). Mlade iglice so manj odporne na temperaturni, vodni in sevalni (PAR) stres kot zrele iglice (GORDON in sod., 1998). Stresne razmere pospešujejo nastajanje kisikovih radikalov, ki poleg drugih škodljivih učinkov spodbujajo razgradnjo klorofila (TAUSZ in sod., 1999). V našem poskusu, podobno kot pri ostalih merjenih parametrih, ne moremo ugotoviti, v kolikšni meri je k zmanjšani vsebnosti klorofilov prispeval posamezni stresni dejavnik.

Skupna vsebnost klorofilov je v visokogorju majhna tudi pri triletnih iglicah. Na visokogorskem rastišču je proces staranja potekal hitreje in so iglice dosegle največjo starost štiri leta, v kolinskem pasu pa je bil starostni razred vsaj sedem let. Znano je, da imajo stare iglice manjšo vsebnost klorofilov (SULLIVAN & TERAMURA, 1988).

Značilno večje razmerje vsebnosti klorofilov a/b na visokogorskem rastišču v primerjavi z nižinskim rastiščem pri dveletnih iglicah je verjetno posledica višje intenzitete vidnega in UV spektra sevanja. Pri sintezi klorofilov sodelujejo UV-B, UV-A in modra svetloba (RAU & SCHROTT, 1987). Povečano razmerje vsebnosti klorofilov a/b je značilno za asimilacijske organe, ki so izpostavljeni soncu v primerjavi s senčnimi organi (LARCHER, 1980). Povečanje razmerja klorofilov a/b pod dodatnim UV-B sta ugotovila Day & Demchik (1996) pri repi (*Brassica rapa*). Številni avtorji (AMBASHT & AGRAWAL, 1995; BAVCON in sod., 1996; MUSIL, 1996; ŠPRTOVÁ in sod., 1999) pa so ugotovili zmanjšanje razmerja vsebnosti klorofilov a/b. Bornman in Vogelmann (1991) sta dokazala, da je klorofil a bolj občutljiv za UV-B sevanje kot klorofil b, torej bi pri občutljivih rastlinah pričakovali zmanjšanje skupne vsebnosti klorofilov kot tudi zmanjšanje razmerja vsebnosti klorofilov a/b. Demmig-Adams in Adams (1992) razlagata zmanjšanje vsebnosti klorofila a in povečanje vsebnosti klorofila b kot del zaščitnega mehanizma, ki varuje fotosintezni aparat pred fotooksidacijskimi poškodbami. Meritve skupne vsebnosti klorofilov a in b, vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi, potencialne fotokemične učinkovitosti in dihalnega potenciala pri dveletnih iglicah z visokogorskega rastišča potrjujejo domnevo, da so iglice v drugem letu precej odporne proti UV-B sevanju, zato tudi ni prišlo do zmanjšanja razmerja vsebnosti klorofilov a/b.

5.3.4 VSEBNOST UV-B ABSORBIRAJOČIH SNOVI

Vsebnost UV-B absorbirajočih snovi, topnih v metanolu, so pri dveletnih iglicah smreke, rastoče na visokogorskem rastišču, za 52% večje od vsebnosti pri vzorcih, nabranih na nižinskem rastišču. Ekstinkcijske vrednosti pri 290, 300 in 320 nm so pri dveletnih iglicah visokogorske smreke večje kot pri nižinski smreki. Vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi enoletnih in triletnih iglic z različnih rastišč se ne razlikujejo. Pri triletnih iglicah z visokogorskega rastišča so vsebnosti v metanolu topnih UV-B absorbirajočih snovi manjše kot pri dveletnih iglicah s tega rastišča.

Vsebnost UV-B absorbirajočih snovi je v korelaciji z odmerkom UV-B sevanja. S povečevanjem odmerka UV-B sevanja vsebnost najprej narašča, nad določenim odmerkom pa začne upadati. Upadanje je verjetno povezano s škodljivim vplivom UV-B sevanja, ki prizadene različne celične funkcije, tudi sintezo UV-B absorbirajočih snovi (LOIS, 1994), kar je možna razlaga različnih vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi pri različno starih iglicah z visokogorskega rastišča. Pri enoletnih iglicah tako ni prišlo do povečane sinteze flavonoidov,

ker so velike jakosti UV-B verjetno pripeljale do motenj celičnih procesov, kar je razvidno tudi iz meritev fotokemične učinkovitosti in ETS. Hipotezi v prid so tudi meritve vsebnosti klorofilov, ki so na visokogorskem rastišču pri triletnih iglicah manjše kot pri dveletnih iglicah. Druga hipoteza za majhno vsebnost UV-B absorbirajočih snovi, topnih v metanolu, pri triletnih iglicah je, da gre zmanjšanje na račun povečane vsebnosti kovalentno vezanih flavonoidov v celičnih stenah epidermide. Znano je, da se v zgodnjih stopnjah ontogenetskega razvoja celice UV-B absorbirajoče snovi nahajajo v vakuoli, kasneje pa predvsem v odebeljeni sekundarni celični steni (KARABOURNIOTSI in sod., 1998).

Sintezo fenolovih spojin, ki absorbirajo sevanje v UV-B spektralnem delu, sprožijo tudi okoljski dejavniki; svetlobni, temperaturni in vodni režim, nutrienti, patogeni ter herbivori (SCHMELZER in sod., 1989; MARTIN & GERATZ, 1993). Povečanih vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi v iglicah z višinskega rastišča zato ne moremo razlagati izključno kot posledico velikih intenzitet UV-B sevanja, temveč kot interakcijo delovanja različnih stresnih dejavnikov, ki vladajo v visokogorju.

5.4 ZAKLJUČEK

Rezultati kažejo, da UV-B sevanje z močjo, ki ustreza 17% zmanjšanju ozonske plasti, na aktivnost smreke in na kalitev nima jasnega negativnega vpliva. Značilna je tudi velika variabilnost merjenih parametrov, kar kaže, da je odgovor smreke na UV-B sevanje, precej specifičen za posamezno rastlino. Značilne razlike med tretiranjem pod dodatnim UV-B sevanjem in kontrolo pod zunanjim UV-B sevanjem so bile opazne predvsem na mladih iglicah v prvih tednih razvoja, ko zaščitne snovi in mehanizmi še niso popolnoma razviti. Značilne razlike smo izmerili še pozimi, ko je verjetno prišlo do sinergističnega delovanja UV-B sevanja, nizkih temperatur in fiziološke suše, ter poleti, ko je bila jakost UV-B sevanja največja. Meritve na smrekah, ki rastejo v visokogorju in so izpostavljene velikim odmerkom UV-B sevanja ter drugim stresnim dejavnikom, dajejo slutiti, da sinergistični vpliv UV-B sevanja in stresov na smreko v višjih nadmorskih legah ni zanemarljiv. V nadaljevanju raziskav na smreki bi bilo smiselno ugotavljati interakcije delovanja različnih stresnih dejavnikov kot tudi morebitni kumulativni vpliv po večletni izpostavljenosti rastlin UV-B sevanju.

6 POVZETEK

V nalogi smo ugotavljali vpliv UV-B sevanja na smreko (*Picea abies* (L.) Karst.). Povečanje UV-B sevanja je neposredno povezano s tanjšanjem ozonske plasti v stratosferi in vpliva na številne biološke procese. Povečano UV-B sevanje na rastline različno učinkuje, odvisno od občutljivosti organizma. Rastline, ki uspevajo na večjih zemljepisnih širinah in višjih nadmorskih legah, so praviloma bolj odporne na povečano UV-B sevanje. Smreka naj bi bila glede na raziskave na iglavcih relativno odporna na UV-B sevanje. Odpornost razlagamo z učinkovito epidermalno absorpcijo UV-B sevanja in dobro razvitimi zaščitnimi mehanizmi (CALDWELL in sod., 1982).

Sejanke smreke so v prvem letu rastle v kontroliranih razmerah, brez UV-B sevanja, enoletne rastline smo izpostavili zunanjim razmeram in meritve opravljali enkrat mesečno. Sistem osvetljevanja z UV-B smo povzeli po Caldwellu in sodelavcih (1983). Pripravili smo tri sisteme tretiranja, pretežno brez UV-B sevanja, z dodatnim UV-A ter z dodatnim UV-B in UV-A spektralnim delom, ki je po jakosti ustrezal 17% stanjšanju ozonske plasti, kar je predstavljalo od 35% do 58% povečanje biološko aktivnega UV-B_{BE} sevanja. Poskus kalitve smo nastavili aprila, na smrekah z visokogorskega rastišča smo meritve opravili v avgustu.

Povečano UV-B sevanje ni vplivalo na kalivost smreke; sklepamo, da semenska testa zagotavlja zaščito pred prodiranjem UV-B sevanja v notranjost semena (KRIZEK, 1975). UV-B sevanje ni vplivalo niti na morfološke značilnosti, na dolžino in suho težo, niti na skupno vsebnost klorofilov a in b, razmerje vsebnosti klorofilov a/b in vsebnost UV-B absorbirajočih snovi pri kalicah smreke. Velike vrednosti UV-B absorbirajočih snovi so eden od mehanizmov, ki rastlino zgodaj ščitijo pred škodljivimi vplivi UV-B sevanja (MIDDLETON & TERAMURA, 1993). Vprašanje o vplivu povečanega UV-B sevanja na kalivost smreke v naravnem okolju, kjer bi bila semena zasenčena pred direktnim UV-B sevanjem, obenem pa bi se razvijala ob povečanem UV-B sevanju, pa ostaja odprto.

Dodatno UV-B sevanje v teku sezone ni imelo izrazito negativnega vpliva na sejanke smreke. UV-B sevanje na fotosintezno aktivnost in na potencialno fotokemično učinkovitost FS II (Fv/Fm) ni vplivalo. Pri dveletnih iglicah je bila maksimalna fluorescenca (Fm) pod vplivom UV-B sevanja značilno manjša v februarju in avgustu. Domnevamo, da je pozimi prišlo do sinergističnega delovanja nizkih temperatur, fiziološke suše in UV-B sevanja, poleti pa je bila jakost UV-B sevanja največja in smreka ni bila sposobna sproti popravljati poškodb, ki jih je povzročilo sevanje. Povečanje nefotokemičnega dela dušenja fluorescence pri dveletnih iglicah pozimi je pokazal tudi parameter NPQ. Pri dveletnih iglicah smreke je torej dvakrat prišlo do fotoinhibicije na račun povečanega nefotokemičnega oddajanja ekscitacijske energije, ne pa na račun fotooksidacijskih poškodb fotosinteznega aparata. UV-B sevanje na Fm enoletnih iglic ni vplivalo, vrednosti NPQ pa so bile pod vplivom UV-B sevanja večje v

maju, v času zgodnjega razvoja iglic, ko vsi zaščitni mehanizmi še niso razviti (FLINT & CALDWELL, 1984). Minimalne vrednosti fluorescence temotno adaptiranih vzorcev (Fo) se pod dodatnim UV-B sevanjem niso spremenile, zato sklepamo, da klorofil v kompleksu antenskih pigmentov ni bil prizadet (ŁUKASZEK & POSKUTA, 1996). Dejanska fotokemična učinkovitost FS II (Y), se pod vplivom dodatnega UV-B sevanja ni zmanjšala. Značilnih sprememb dihalnega potenciala (ETS) pod vplivom UV-B sevanja nismo ugotovili, razen zmanjšanja pri enoletnih iglicah v avgustu. Domnevamo, da je bila jakost UV-B sevanja poleti prevelika, da bi smreka uspela sproti popravljati poškodbe, ki jih je povzročilo sevanje.

Skupna vsebnost klorofilov a in b se pod povečanim UV-B sevanjem ni spremenila. Pod vplivom povečanega UV-B sevanja pride do zmanjšanja ali povečanja vsebnosti fotosinteznih pigmentov (BORNMAN, 1989). Razmerja vsebnosti klorofilov a/b pri dveletnih iglicah smreke so pod povečanim UV-B sevanjem ostala nespremenjena, pri enoletnih iglicah se je razmerje povečalo maja in zmanjšalo oktobra. Maja se je razmerje povečalo, saj je znano, da UV-B sevanje sproži sintezo klorofilov, obenem pa vpliva na procese, ki povratno negativno delujejo na vsebnost klorofilov (DAY & DEMCHIK, 1996). Oktobrske meritve morda nakazujejo kumulativni vpliv UV-B sevanja; zmanjšanje razmerja klorofilov a/b omogoča učinkovitejše oddajanje presežne ekscitacijske energije in zmanjšanje fotooksidacijskih poškodb fotosistema (BORNMAN & VOGELMAN, 1991). Vsebnosti UV-B absorbirajočih snovi, topnih v metanolu, so pri smreki velike. Dodatno UV-B sevanje na vsebnost UV-B absorbirajočih snovi dveletnih iglic ni vplivalo, pri enoletnih iglicah je bila vsebnost v maju večja, v ostalih mesecih se vsebnosti niso razlikovale. Pri razvijajočih se iglicah, meseca maja, je prodiranje UV-B sevanja do UV-B receptorjev v mezofilu relativno veliko in dodatno stimulira sintezne poti UV-B absorbirajočih snovi. Prodiranje UV-B sevanja v mezofil pomeni, da so v zgodnjih fazah razvoja iglic bolj verjetne motnje fizioloških in razvojnih procesov.

Smreke, ki uspevajo v visokogorju, so poleg velikih odmerkov UV-B sevanja izpostavljene tudi drugim stresnim dejavnikom, velikemu PPF, ekstremnim temperaturam, pomanjkanju vode ter hranil in zračnemu onesnaženju. Stres najbolj prizadene mlade iglice, ker je v prvih mesecih razvoja epikutikularna voskasta prevleka iglic tanka in zaščitni mehanizmi še niso popolnoma razviti (CAPE & PERCY, 1993).

Pri enoletnih iglicah smreke v visokogorju smo izmerili značilno manjše razmerje Fv/Fm in manjše vrednosti Fm, pri starejših iglicah razlik ni bilo. Vrednosti Fo so bile enake pri smrekah s visokogorskega in nižinskega rastišča. Vrednosti dejanske fotokemične učinkovitosti pri visokogorskih smrekah so bile manjše pri enoletnih in dveletnih iglicah, pri triletnih iglicah razlika ni bila več značilna; sklepamo, da zaščitni in popravljalni mehanizmi pri tej starosti iglic popravijo in preprečijo poškodbe, ki so jih povzročili raznovrstni stresi v času razvoja iglic. Rezultat se ne ujema z meritvami avtorjev (BAVCON in sod., 1996; ŠPRTOVÁ in sod., 1999), ki so ugotovili kumulativni efekt UV-B sevanja, kjer se je obseg poškodb z leti izpostavljenosti rastline stopnjeval. Vrednosti ETS enoletnih iglic smreke z visokogorskega rastišča so značilno

manjše, pri starejših iglicah razlik v dihalnem potencialu med vzorci z različnih rastišč nismo izmerili. Skupna vsebnost klorofilov a in b je pri enoletnih in triletnih iglicah smreke na visokogorskem rastišču manjša kot na nižinskem rastišču, pri dveletnih iglicah razlik v skupni vsebnosti klorofilov nismo izmerili, pač pa je pri dveletnih iglicah z večje nadmorske višine več klorofila a napram klorofilu b. Majhno vsebnost klorofilov pri triletnih iglicah razlagamo s tem, da je na visokogorskem rastišču proces staranja potekal hitreje; stare iglice imajo manjšo vsebnost klorofilov (SULLIVAN & TERAMURA, 1988). Večje razmerje klorofilov a/b na visokogorskem rastišču pri dveletnih iglicah je posledica večje intenzitete vidnega in UV spektra sevanja. Sklepamo, da so dveletne iglice z visokogorskega rastišča precej odporne proti UV-B sevanju, zato do zmanjšanja razmerja vsebnosti klorofilov a/b ni prišlo. Vsebnost UV-B absorbirajočih snovi, topnih v metanolu, so pri dveletnih iglicah smreke, rastoče na visokogorskem rastišču, za 52% večje od vsebnosti pri vzorcih, nabranih na nižinskem rastišču, vsebnosti enoletnih in triletnih iglic se ne razlikujejo. Pri triletnih iglicah z visokogorskega rastišča so vsebnosti manjše kot pri dveletnih iglicah s tega rastišča. Vsebnost UV-B absorbirajočih snovi je v korelaciji z odmerkom UV-B sevanja; s povečevanjem odmerka UV-B sevanja vsebnost snovi najprej narašča, nad določenim odmerkom pa začne upadati. Do zmanjšanja morda pride zaradi povečane vsebnosti kovalentno vezanih flavonoidov v celičnih stenah epidermide. Iz rezultatov meritev v visokogorju ne moremo sklepati, v kolikšni meri je k odgovoru rastline prispeval posamezni stresni dejavnik, vendar sinergistični vpliv UV-B sevanja in drugih stresov na smreko v višjih nadmorskih legah ni zanemarljiv.

7 SUMMARY

This study evaluates the effects of increased UV-B radiation on Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.). It has been proved, that depletion of stratospheric ozone due to anthropogenic pollutants results in enhanced levels of UV-B radiation reaching the Earth's surface. UV-B radiation affects many biological and chemical processes. Plants are diversely tolerant to UV-B; those from high altitudes and latitudes generally have better protective mechanisms compared with low altitude and latitude plants. Norway spruce is presumed to be quite tolerant to UV-B radiation according to research on other conifers which possess high epidermal absorption of UV-B radiation and other well developed protective mechanisms (CALDWELL et al., 1982).

One-year-old seedlings were planted outside in pots and tested once a month. The plants were exposed to three different levels of UV-B according to Caldwell et al. (1983): without UV-B, with ambient UV-B plus additional UV-A and with ambient UV-B plus additional UV-A and UV-B, which simulated 17% ozone depletion which is equivalent to 35% to 58% biologically effective UV-B_{BE}. Germination was examined in April under the same radiation conditions; plants from a mountainous locality were tested in July.

Germination was not affected by enhanced UV-B since the seed coat provides sufficient protection against deleterious UV-B effects (KRIZEK, 1975). UV-B radiation affected neither the dry weight and length of seedlings nor the total chlorophyll content, chlorophyll a/b ratio or total content of UV-B absorbing pigments. The accumulation of UV-B absorbing compounds appears to be an important protective mechanism, which already effectively reduces detrimental action of UV-B irradiance at an early developmental stage (MIDDLETON & TERAMURA, 1993). In the field, germination may occur with less direct UV-B radiation but the seeds may have already developed under enhanced UV-B, therefore, we could not conclude that expected ozone reduction will have no effect on the germination of Norway spruce.

Spruce seedlings showed no clear negative response to enhanced UV-B radiation during one growing season. Photosynthetic activity and potential photochemical efficiency (Fv/Fm) were not affected. Two-year-old needles showed significantly lower maximal chlorophyll a fluorescence of dark-adapted samples (Fm) under supplemental UV-B in February and August, otherwise there was no effect observed. We conclude that in February there may be a synergistic impact of UV-B, low temperatures and water stress and that in summer the differences may be due to high doses of UV-B radiation. In February also higher values of non-photochemical quenching (NPQ) were measured on two-year-old needles under supplemental UV-B, which indicates UV-B stress, which drives to higher non-radiative dissipation of excitation energy but does not yet produce photooxidative damage to the photosystem. Fm was not affected on one-year-old needles, NPQ was higher in May under enhanced UV-B,

during early developmental needle state, which does not dispose fully developed protective mechanisms (FLINT & CALDWELL, 1984). Minimal chlorophyll a fluorescence of dark-adapted samples (F_0) was not influenced by UV-B radiation, which supports the idea that chlorophyll from light-harvesting-complex remained unaffected by UV-B (ŁUKASZEK & POSKUTA, 1996). Effective quantum yield (Y) was not affected as well. Potential dark respiration, measured as an electron transport rate (ETS) was not significantly modified by supplemental UV-B except once, on one-year-old needles in August, which is interpreted to be the result of high summer doses of UV-B radiation.

Total chlorophyll was not significantly changed under supplemental UV-B radiation. UV-B radiation could affect chlorophyll content positively or negatively (BORNMAN, 1989). Chlorophyll a/b ratio was not affected on two-year-old needles; on young needles the ratio significantly increased in May and decreased in October. It is known that UV-B stimulates chlorophyll synthesis but also influence other processes, which cause a negative feedback to chlorophyll content (DAY & DEMCHIK, 1996). The decreased values in October could be interpreted as a cumulative effect of UV-B radiation, but to confirm that, the tests should continued for another season. Decreased chlorophyll a/b ratio is a protective mechanism against photo oxidative damage of the photosystem (BORNMAN & VOGELMAN, 1991). The total content of UV-B absorbing compounds, dissolved in methanol, is high. Enhanced UV-B had no effect on the content of two-year-old needles, while the content of young needles significantly increased in May. Therefore it could be concluded that UV-B penetrates into mesophyll of young needles and additionally induces synthesis of UV-B absorbing compounds, but also disrupts physiological and developmental processes.

Spruce trees from the subalpine stand were exposed not only to high UV-B radiation but also to a complex of other environmental factors, such as high visible irradiation, extreme temperature condition, deficient water and mineral supply and air pollutants, which cause stress responses. Young needles are most vulnerable to stress factors, since the protective mechanisms are not fully developed (CAPE & PERCY, 1993).

One-year-old needles from the subalpine stand have lower F_v/F_m and F_m values compared to lowland samples; meanwhile the older needles show there are no significant differences. F_0 values were not different at any needle age. Y values decreased in one- and two-year-old needles, but not in three-year-old ones, suggesting that protective and repair mechanisms do cope effectively with stresses in three-year-old needles. The result is not completely in agreement with other authors (BAVCON et al., 1996; ŠPRTOVÁ et al., 1999), who quote the cumulative effect of UV-B at F_v/F_m values on spruce. ETS values are significantly lower for one-year-old needles, but not for mature needles at the subalpine stand. Total chlorophyll content is significantly lower for one- and three-year-old needles, but not for two-year-old needles, which exhibited higher chlorophyll a/b ratio. The low total chlorophyll content of three-year-old needles may be due to premature senescence of foliage from the subalpine stand.

Old needles contain a lower concentration of chlorophyll (SULLIVAN & TERAMURA, 1988). The higher chlorophyll a/b ratio of two-year-old needles may be linked with high PAR and UV radiation; the chloroplasts of two-year-old needles are well protected against over-excitation and the chlorophyll a/b ratio remains high. Total UV-B absorbing pigments of two-year-old needles at the subalpine stand were 52% higher than lowland samples. Total pigments of one- and three-year-old needles did not differ. Three-year-old needles contained lower concentration of UV-B absorbing pigments than two-year-old ones, which may be due to the transportation of the dissolved pigments to the cell wall conjugated pigments or to an overdose of UV-B, which already leads to decreased synthesis instead of inducing it. The conclusion as to what the effect of single stress factor on physiological response could not be drawn out, but the combined effect of UV-B and other factors to Norway spruce trees at the subalpine stand has been determined.

8 ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem vsem, ki so na različne načine sodelovali pri nastajanju te magistrske naloge, tudi tistim, ki niso posebej omenjeni, pa so prispevali kamenček k mozaiku.

Zahvaljujem se ustanovam, ki so materialno omogočile moje raziskovalno delo, in sicer Oddelku za biologijo Biotehniške fakultete, Nacionalnemu inštitutu za biologijo, Botaničnemu vrtu Univerze v Ljubljani, Gozdarskemu inštitutu Slovenije in Ministrstvu za znanost in tehnologijo RS.

Posebej se zahvaljujem mentorici doc. dr. Alenki Gaberščik, Oddelek za biologijo, za pomoč pri izboru teme, kritično razpravljanje, sodelovanje pri tehnični izpeljavi naloge in nenazadnje za topel osebni odnos, ki je pripomogel k plodnemu razvijanju idej.

Zahvaljujem se prof. dr. Andreju Martinčiču, Oddelek za biologijo, za tehtne nasvete, pomoč pri spoznavanju aparatov in recenzijo naloge. Zahvaljujem se tudi prof. dr. Francu Batiču, Oddelek za agronomijo Biotehniške fakultete, za recenzijo naloge in spodbude, da sem se spoprijela s sedanjim delom.

Najlepše se zahvaljujem direktorju Botaničnega vrta, dr. Jožetu Bavconu, da nam je odstopil poskusne grede, za konstruktivne pripombe in pomoč pri postavitvi poskusa. Obenem lepa hvala tudi gospem Tatjani Mandelj, Janji Makše in gospodu Abdulahu Rexhepi, Botanični vrt Univerze v Ljubljani, za pomoč pri vzgoji rastlin.

Zahvaljujem se mag. Mateji Germ in mag. Zdenki Mazej, z Nacionalnega inštituta za biologijo, za pomoč pri spoznavanju biokemijskih analiznih metod kot tudi za prijateljske spodbude. Najlepša hvala Miljanu Šišku, dipl. biol., za potrpežljivo pomoč pri odpravljanju tehničnih zapletov. Za nasvete pri praktičnem delu hvala tudi gospe Andreji Jerebic.

Zahvaljujem se doc. dr. Hojki Kraigher, Gozdarski inštitut Slovenije, za uvajanje v raziskovalno delo v prvem letu mojega podiplomskega študija.

Najlepša hvala vsem sodelavcem s Katedre za ekologijo, posebej še gospe Dragici Luznar, za praktično pomoč in prijetno delovno vzdušje.

Nenazadnje se zahvaljujem staršem za nesebično podporo.

Miha, hvala za razumevanje in neumorno idejno ter praktično sodelovanje.

9 VIRI

- ABELES, F. B., 1986: Plant chemiluminescence. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 37, s. 49-72
- ADAMS, W. W. / BARKER, D. H., 1998: Seasonal changes in xanthophyll cycle dependent energy dissipation in *Yuca glauca* Nuttall. *Plant, Cell & Environ.* 21, s. 501-511
- ADAMSE, P. / BRITZ, S. / CALDWELL, C. L., 1994: Amelioration of UV-B damage under high irradiance. II. Role of blue light photoreceptors. *Photochem. Photobiol.* 60, s. 110-115
- ADAMSE, P. / BRITZ, S. J., 1996: Rapid fluence-dependent responses to UV-B radiation in cucumber leaves: The role of UV-absorbing pigments in damage protection. *J. Plant Physiol.* 148 (1-2), s. 57-62
- AMBASHT, N. K. / AGRAWAL, M., 1995: Physiological responses of field grown *Zea mays* L. plants to enhanced UV-B radiation. *Biotronics* 24 (0), s. 15-23
- AUSTIN, J. / BUTCHART, N. / SHINE, K. P., 1992: Possibility of an Arctic ozone hole in a doubled-CO₂ climate. *Nature* 360, s. 221-225
- BALAKUMAR, T. / VINCENT, H. B. / PALIWAL, K., 1993: On the interaction of UV-B radiation with water stress in crop plants. *Physiol. Plant.* 87, s. 217-222
- BARBER, J., 1987: Rethinking the structure of the photosystem two reaction centre. *Trends Biochem. Sci.* 12, s. 123-124
- BARNES, P. W. / JORDAN, P. W. / GOLD, W. G. / FLINT, S. D. / CALDWELL, M. M., 1988: Competition, morphology and canopy structure in wheat (*Triticum aestivum* L.) and wild oat (*Avena fatua* L.) exposed to enhanced UV-B radiation. *Funct. Ecol.* 2, s. 219-220
- BARNES, P. W. / FLINT, S. D. / CALDWELL, M. M., 1990: Morphological responses to crop and weed species of different growth forms to UV-B radiation. *Am. J. Bot.* 77, s. 1354-1360
- BASIOUNY, F. M. / VAN, T. K. / BIGGS, R. H., 1978: Some morphological and biochemical characteristics of C₃ and C₄ plants irradiated with UV-B. *Physiol. Plant* 42, s. 29-32
- BAVCON, J. / GABERŠČIK, A. / BATIČ, F., 1996: Influence of UV-B radiation on photosynthetic activity and chlorophyll fluorescence kinetics in Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) seedlings. *Trees* 10, s. 172-176
- BAVCON, J. / DRUŠKOVIČ, B. / GOGALA, N., 1997: Effects of increased UV-B radiation on mitosis in Norway spruce (*Picea abies*). *Cytogenetic studies of forest trees and shrub species.* (Ž. Borzan, S. E. Schlarbaum, eds.) 1. IUFRO Cytogenetics Working Party, sept. 1993, Croatia, s. 203-209
- BAZZAZ, F. A. / CHIARELLO, N. R. / COLEY, P. D. / PITELKA, L. F., 1987: Allocating resources to reproduction and defence. *Bio. Science* 37, s. 58-67
- BEGGS, C. J. / STOLZER-JEHLE, A. / WELLMAN, E., 1985: Isoflavonoid formation as an indicator of UV stress in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) leaves. The significance of photorepair in assessing potential damage by increased solar UV-B radiation. *Plant Physiol.* 79, s. 630-634
- BJÖRKMAN, O. / DEMMIG, B., 1987: Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170, s. 489-504

- BJÖRKMAN, O. / DEMMIG-ADAMS, B., 1994: Regulation of photosynthetic light energy capture, conversion, and dissipation in leaves of higher plants. *Ecophysiology of Photosynthesis*. (E. D. Sulze, M. M. Caldwell, eds.). Springer Verlag, Berlin, s. 17-48
- BJÖRN, L. O. / MURPHY, T. M., 1993: Computer calculation of solar UV radiation at ground level. *Environmental UV Photobiology* (A. R. Young, L. O. Björn, J. Moan, W. Nultsch, eds.). Plenum Press, New York, s. 63-69
- BJÖRN, L. O., 1998: UV-B effects: targets and receptors. *Concepts in photobiology: photosynthesis and photomorphogenesis* (G. S. Singhal in sod., eds.). Narosa Publishing House, New Delhi, s. 793-804
- BOGENRIEDER, A. / DOUTE, Y., 1982: The effect of UV on photosynthesis and growth in dependence of mineral nutrition (*Lactuca sativa* L. and *Rumex alpinus* L.) I. *Biological Effects of UV-B Radiation* (H. Bauer, M. M. Caldwell, M. Tevini, R. C. Worrest, eds.). Gesellschaft für Strahlen- Umweltforschung mbH. München, Germany, s. 164-168
- BORNMAN, J. F. / BJÖRN, L. O. / OLSSON, E., 1986: Effects of UV radiation on fluorescence induction kinetics in isolated tylakoids and intact leaves. *Stratospheric ozone reduction, solar UV radiation and plant life*. (R. C. Worrest, M. M. Caldwell, eds.) NATO ASI Series G: Ecological Sciences 8, Springer Verlag, Berlin, s. 185-197
- BORNMAN, J. F. / VOGELMANN, T. C., 1988: Penetration of blue and UV radiation measured by fiber optics in spruce and fir needles. *Physiol. plant.* 72, s. 699-705
- BORNMAN, J. F., 1989: Target sites of UV-B radiation in photosynthesis of higher plants. *J. Photochem. Photobiol.* 4, s. 145-158
- BORNMAN, J. F. / VOGELMANN, T. C., 1991: The effect of UV-B radiation on leaf optical properties measured with fibre optics. *J. Exp. Bot.*, s. 547-554
- BORNMAN, J. F. / TERAMURA, A. H., 1993: Effects of UV-B radiation on terrestrial plants. *Environmental UV photobiology* (A. R. Young, L. O. Björn, J. Moan, W. Nultsch, eds.). Plenum Press, New York, s. 427-471
- BORNMAN, J. F. / OLSSON, L. C. / HAN, T. / VOGELMANN, T. C., 1999: UV-B radiation reduces susceptibility of *Brassica napus* to photoinhibition during cold stress as measured by microscale photoacoustics and radiolabelled carbon dioxide. Doc. dissertation. Lund University.
- BORS, W. / LANGEBARTELS, C. / MICHEL, C. / SANDERMANN, H., 1989: *Phytochemistry* 28, s.1589
- BRANDLE, J. R. / CAMPBELL, W. F. / SISSON, W. B. / CALDWELL, M. M., 1977: Net photosynthesis, electron transport capacity and ultrastructure of *Pisum sativum* L. exposed tu UV-B radiation. *Plant Physiol.* 60, s. 165-169
- BRANDT, K. / GIANNI, A. / LERCARI, B., 1995: Photomorphogenic responses to UV radiation III: A comparative study of UV-B effects on antocyanin and flavonoid accumulation in wild-type and aurea mutant of tomato (*Lycopersion esculentum* Mill.). *Photochem. Photobiol.* 62, s. 1081-1087
- BRAUN, J. / TEVINI, M., 1993: Regulation of UV-protective pigment synthesis in the epidermal layer of rye seedlings (*Secale cereale* L. cv. kustro). *Photochem. photobiol.* 57, s. 318-323

- BRIDGE, M. A. / KLARMAN, W. L., 1973: Soybean phytoalexin, hydroxyphaseollin, induced by UV radiation. *Phytopathology* 63, s. 606-609
- BRUNS, B. / HAHLBROCK, K. / SCHÄFER, E., 1986: Fluence dependence of the ultraviolet-light-induced accumulation of chalcone synthase mRNA and effects of blue and far-red light in cultured parsley cells. *Planta* 169, s. 393-398
- CALDWELL, M. M., 1968: Solar UV radiation as an ecological factor for alpine plants. *Ecological Monographs* 38, s. 243-268
- CALDWELL, M. M. / ROBBERECHT, R. / HOLMAN, S. / NOWAK, R. / CAMP, L. B. / FLINT, S. D. / HARRIS, G. / TERAMURA, A. H., 1979: Higher plant responses to elevated UV irradiance. Annual Report 1978 NAS-9-14871, NASA
- CALDWELL, M. M. / ROBBERECHT, R. / NOWAK, R. S., 1982: Differential photosynthetic inhibition by UV radiation in species from arctic-alpine life zone. *Arctic Alpine Research* 14, s. 195-202
- CALDWELL, M. M. / ROBBERECHT, R. / FLINT, S.D., 1983: Internal filters: prospects for UV acclimation in higher plants. *Physiol. Plant.* 58, s. 445-450
- CALDWELL, M. M. / TERAMURA, A. H. / TEVINI, M., 1989: The changing solar UV climate and the ecological consequences for higher plants. *Trends Ecol. Evol.* 4, s. 363-367
- CALDWELL, M. M. / FLINT, S. D. / SEARLES, P. S., 1994: Spectral balance and UV-B sensitivity of soybean. A field experiment. *Plant Cell Environ.* 17, s. 267-276
- CAMM, E. L. / McCALLUM, J. / LEAF, E. / KOUPAI-ABYANZANI, M. R., 1993: Cold-induced purpling of *Pinus contorta* seedlings depends on previous daylength treatment. *Plant, Cell and Environm.* 16, 761-764
- CAMPOS, J. L. / FIGUERAS, X. / PINOL, M. T. / BORONAT, A. / TIBURCIO, A. F., 1991: Carotenoid and conjugated polyamine level as indicator of UV-C induced stress in *Arabidopsis thaliana*. *Photochem. Photobiol.* 53, s. 689-693
- CAPE, J. N. / PERCY, K. E., 1993: Environmental influences on the development of spruce needle cuticles. *New Phytologist* 125, s. 787-799
- CEN, Y. P. / BORNMAN, J. F., 1990: The response of bean plants to UV-B radiation under different irradiances of background visible light. *J. Exp. Bot.* 41, s. 1489-1495
- CEN, Y. P. / BORNMAN, J. F., 1993: The effect of exposure to enhanced UV-B radiation on the penetration of monochromatic and polychromatic UV-B radiation in leaves of *Brassica rapus*. *Physiol. Plant.* 87, s. 249-255
- CHAPPELL, J. / HALBROCK, K., 1984: Transcription of plant defence genes in response to UV light or fungal elicitor. *Nature* 311, s. 76-78
- CLARK, J. B. / LISTER, G. R., 1975: Photosynthetic action spectra of trees. II. The relationship of cuticle structure to the visible and ultraviolet spectral properties of needles from four coniferous species. *Plant Physiol.* 55, s. 407-413
- CRITCHLEY, C., 1998: Photoinhibition. *Photosynthesis: a comprehensive treatise.* (ed. A. S. Ragheendra) Cambridge, University Press, s. 264-272
- CRUTZEN, P. J., 1972: SSTs: threat to the earth's ozone shield. *Ambio* 1, s. 41-51

- CUADRA, P. / HARBORNE, J. B., 1996: Changes in epicuticular flavonoids and photosynthetic pigments as a plant response to UV-B radiation. *Z. Naturforsch.* 51c, s. 670-680
- ČRV-NOVAK, M., 2000: Vpliv UV-B sevanja na navadni pljučnik (*Pulmonaria officinalis*). Dipl. nal. Univerza v Ljubljani, BF, Odd. za biol. (v pripravi)
- DAY, T. A. / VOGELMANN, T. C. / DELUCIA, E. H. , 1992: Are some plant life forms more effective than others in screening out ultra violet-B radiation? *Oecologia, Heidelberg* 92 (4), s. 513-519
- DAY, T. A. / HOWELLS, B. W. / RICE, J. W., 1993: UV absorbtion and epidermal transmittance spectra in foliage. *Physiol. Plant.* 92(2), s. 207-218
- DAY, T. A. / DEMCHIK, S. M., 1996: Influence of enhanced UV-B radiation on biomass allocation and pigment concentrations in leaves and reproductive structures of greenhouse-grown *Brasica rapa*. *Vegetatio* 127, s. 109-116
- DAY, T. A. / HOWELLS, B. W. / RUHLAND, C. T., 1996: Changes in growth and pigment concentrations with leaf age in pea under modulated UV-B radiation field treatments. *Plant Cell Environ.* 19(1), s. 101-108
- DeLUCIA, E. H. / DAY, T. A. / VOGELMAN, T. C., 1992: UV-B and visible light penetration into needles of two species of subalpine conifers during foliar development. *Plant, Cell Env.* 15, s. 921-929
- DEMMIG-ADAMS, B., 1990: Carotenoids and photoprotection in plants: a role for the xanthophyll zeaxanthin. *Biochem. Biophys. Acta* 1020, s. 1-24
- DEMMIG-ADAMS, B. / ADAMS, W. W., 1992: Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annual Review of Plant physiology and Plant Molecular Biology* 43, s. 599-626
- DHINDSA, R. S. / PLUMB-DHINDSA, P. / THORPE, T. A., 1981: Leaf senescence: Corelated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *J. Exp. Bot.* 32, s. 93-101
- DIFFEY, B. L., 1991: Solar UV radiation effects on biological systems. *Phys. Med. Biol.* 36, s. 299-328
- DILLENBURG, L. R. / SULLIVAN, J. H. / TERAMURA, A. H., 1995: Leaf expansion and development of photosynthetic capacity and pigments in *Liquidambar styraciflua* - effects of UV-B radiation. *Am. J. Bot.* 82, s. 878-885
- DIXON, R. A. / DEY, P. M. / LAMB, C. J., 1983: Phytoalexins: Enzymology and molecular biology. *Advances in Enzymology* (A. Meister, ed.). John Wiley, New York, s. 1-136
- DOUGLAS, C. / HOFFMAN, H. / SCHULZ, W. / HAHLBROCK, K., 1987: Structure and elicitor or UV-light-stimulated expression of two 4-coumarate coenzyme liegase genes in parsley. *EMBO* 6, s. 1189-1196
- DRUMM-HERREL, H. / MOHR, H., 1981: A novel effect of UV-B in a higher plant (*Sorghum vulgare*). *Photochem. Photobiol.* 33, s. 391-398
- DUELL-PFAFF, N. / WELLMANN, E., 1982: Involvement of phytochrome and a blue-light photoreceptor in UV-B induced flavonoid synthesis in parsley (*Petroselinum hortense Hoffm.*) cell suspension cultures. *Planta* 156, s. 213-217

- ENSMINGER, A. P. / SCHÄFER, E., 1992: Blue and UV-B light photoreceptors in parsley cells. *Photochem. Photobiol.* 55, s. 437-447
- FISCUS, E. L. / BOOKER, F. L., 1995: Is increased UV-B a threat to crop photosynthesis and productivity? *Photosynth. Res.* 43, s. 81-92
- FLINT, S. D. / CALDWELL, M. M., 1984: Partial inhibition of *in vitro* pollen germination by simulated solar UV-B radiation. *Ecology* 65, s. 792-795
- FLORES, H. E., 1990: Polyamines and plant stress. *Stress Responses in Plants: Adaptation and Acclimation Mechanisms* (12) (R. G. Alscher, J. R. Cumming, eds.). Wiley-Liss, New York, s. 217-239
- FREDERICK, J. E., 1993: UV sunlight reaching the Earth's surface: a review of recent research. *Photochem. Photobiol.* 57, s. 175-178
- GALLO, R. L. / KOCHEVAR, I. E. / GRANSTEIN, R. D., 1989: *Photochem. Photobiol.* 49, s. 655
- GENTY, B. / BRIANTAIS, J.-M. / BAKER, N. R., 1989: The relationship between quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochem. Biophys. Acta* 990, s. 87-92
- GERM, M., 2000: Vpliv spremembe medija in povečanega UV-B sevanja pri vrstah *Mysotis palustris* in *Batrachium trichophyllum*. Dok. disertacija. Univerza v Ljubljani, BF. Odd. za biol., (v pripravi)
- GONZALEZ, R. / PAUL, N. D. / PERCY, K. / AMBROSE, M. / McLAUGHLIN, C. K. / BARNES, J. D. / ARESES, M. / WELLBURN, A. R., 1996: Responses to UV-B radiation (280-315 nm) of pea (*Pisum sativum*) lines differing in leaf surface wax. *Physiol. Plant.* 98, s. 852-860
- GORDON, D. C. / PERCY, K. E. / RIDING, R. T., 1998: Effects of UV-B radiation on epicuticular wax production and chemical composition of four *Picea* species. *New Phytol.* 138, s. 441-449
- GWYNN-JONES, D. / LEE, J. A. / CALLAGHAN, T. V., 1997: Effects of enhanced UV-B radiation and elevated carbon dioxide concentrations on a subarctic forest heath ecosystem. *Plant Ecology* 128, s. 242-249
- HADA, M. / TSURUMI, S. / SUZUKI, M. / WELLMANN, E. / HASIMOTO, T., 1996: Involvement and non-involvement of pyrimidine dimer formation in UV-B effects on *Sorghum bicolor* Moench seedlings. *J. Plant. Physiol.* 148, s. 92-99
- HAHLBROCK, K. / SCHEEL, D., 1989: Physiology molecular biology of phenylpropanoid metabolism. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 30, s. 105-130
- HALLIWELL, B., 1984: Oxygen-derived species and herbicide action. *Physiol. Plant.* 15, s. 21-24
- HERMS, D. A. / MATTSO, W. J., 1992: The dilemma of plants: to grow or defend. *Quarterly Review of Biology* 67, s. 283-335
- HOFMANN, D. J., 1996: Recovery of Antarctic ozone hole. *Nature* 384, s. 222-223
- HRUSZKEWYCZ, A. M., 1988: Evidence for mitochondrial DNA damage by lipid peroxidation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 153, s. 191-197
- HULL, H. M. / MORTON, H. L. / WHARRIE, J. R., 1975: Environmental influences on cuticle development and resultant foliar penetration. *Bot. Rev.* 41, s. 421-452

- HUNER, N. P. A. / ÖQUIST, G. / HURRY, V. M. / KROL, M. / FALK, S. / GRIFFITH, M., 1993: Photosynthesis, photoinhibition and low temperature acclimation in cold tolerant plants. *Photosynth. Res.* 37, s. 19-39
- HUSAIN, S. R. / CILLARD, J. / CILLARD, P., 1987: Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. *Photochem.* 26, s. 2489-2491
- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA), 1985. *Seed sci. Technol.*, s.13
- IWANZIK, W. / TEVINI, M. / DOHNT, G. / VOSS, M. / WEISS, W. / GRÄBER, O. / RENGER, G., 1983: Action of UV-B radiation on photosynthetic primary reactions in spinach chloroplasts. *Physiol. Plant.* 58, s. 401-407
- JAHNEN, J. / HAHLBROCK, H., 1988: Differential regulation and tissue-specific distribution of enzymes of phenylpropanoid pathways in developing parsley seedlings. *Planta* 173, s. 453-458
- JANSEN, M. A. K. / GREENBERG, B. M. / EDELMAN, M. / MATTOO, A. K. / GABA, V., 1996: Accelerated degradation of the D₂ protein of photosystem II under UV radiation. *Photochem. Photobiol.* 63 (6), s. 814-817
- JEFFREY, S.W. / HUMPHREY, G. F., 1975: New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c₁ and c₂ in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem. Physiol. Pflanzen* 167, 8, s.191-194
- JOHNSTON, H. S., 1971: Reduction of stratospheric ozone by nitrogen oxide catalysts from supersonic transport exhaust. *Science* 173, s. 517-522
- JONES, A. E. / SHANKLIN, J. D., 1995: Continued decline of total ozone over Halley, Antarctica, since 1985. *Nature* 376, s. 409-411
- JORDAN, B. R. / CHOW, W. S. / STRID, A. / ANDERSON, J. M., 1991: Reduction in *cab* in *psb A* RNA transcripts in response to supplementary UV-B radiation. *FEBS Lett.* 284, s. 5-8
- JORDAN, B. R. / HE, J. / CHOW, W. S. / ANDERSON, J. M., 1992: Changes in mRNA levels and polypeptide subunits of ribulose 1,5-biphosphate carboxylase in response to supplementary UV-B radiation. *Plant Cell Environ.* 15, s. 91-98
- JOSEFSSON, W., 1996: Measurements of total ozone, National Environmental Monitoring 1993/1994. Swedish Environmental Protection Agency, Stockholm. ISBN 91-620-4405-2
- KARABOURNIOTSI, G. / KOFIDIS, G. / FASSEAS, C., 1998: Polyphenol deposition in leaf hairs of *Olea europea* (*Oleaceae*) and *Quercus ilex* (*Fagaceae*). *Am. J. Bot.* 85 (7), s. 1007-1012
- KRAMER, G. F. / NORMAN, H. A. / KRIZEK, D. T. / MIRECKI, R. M., 1991: Influence of UV-B radiation on polyamines, lipid peroxidation and membrane lipids in cucumber. *Phytochemistry* 30, s. 1119-1125
- KRAMER, G. F. / KRIZEK, D. T. / MIRECKI, R. M., 1992: Influence of photosynthetically active radiation and spectral quality on UV-B induced polyamine accumulation in soybean. *Phytochemistry* 31, s. 1119-1125
- KRAUSE, G. H. / WEIS, F., 1991: Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42, s. 313-349
- KRIZEK, D. T., 1975: Influence of UV radiation on germination and early seedling growth. *Physiol. Plant.* 34, s. 182-186

- KUBASEK, W. L. / SHIRLEY, B. W. / McKILLOP, A. / GOODMAN, H. M. / BRIGGS, W., 1992: Regulation of flavonoid biosynthetic genes in germinating *Arabidopsis* seedlings. *Plant Cell* 4, s. 1229-1236
- KUĆ, J., 1984: Phytoalexins and disease resistance mechanisms from a perspective of evolution and adaptation. *Origins and Development of Adaptation*. Pitman Books, London, s. 100-118
- KUMAR S. P. / PREETHA, A. / SANKHALKAR, S. / RAJENDRA, S., 1998: Photochemical and biochemical changes in wheat seedlings exposed to supplementary UV-B radiation. *Plant Science* 132 (1), s. 21-30
- LANDRY, L. G. / CHAPPLE, C. C. S. / LAST, L. R., 1995: *Arabidopsis* mutants lacking phenolic sunscreens exhibit enhanced UV-B injury and oxidative damage. *Plant Physiol.* 109, s. 1159-1166
- LARCHER, W., 1980: *Physiological plant ecology*. 2nd ed. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York. s. 17
- LARSON, R. A., 1988: The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry* 27, s. 969-978
- LERCARI, B. / SODI, F. / LIPUCCI DI PAOLA, M., 1990: Photomorphogenic responses to UV radiation: involvement of phytochrome and UV photoreceptors in the control of hypocotyl elongation in *Lycopersion esculentum*. *Physiol. Plant.* 79, s. 668-672
- LEE, D. W. / BRAMMEIER, S. / SMITH, A. P., 1987: The selective advantages of anthocyanins in developing leaves of mango and cacao. *Biotropica* 19, s. 40-49
- LICHTENTHALER, H. K., 1993: The plant prenyllipids, including carotenoids, chlorophylls, and preylquinones. *Lipid metabolism in plants* (T. S. Moore, ed.). CRC Press, Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, s. 427-470
- LICHTSCHEIDL-SCHULTZ, I., 1985: Effects of UV-C and UV-B on cytomorphology and water permeability of inner epidermal cells of *Allium cepa*. *Physiol. Plant.* 63, s. 269-276
- LI-COR, 1987: LI-6200, the manuals. LI-COR Inc., Lincoln, Nebraska, USA
- LIU, L. / McCLURE, J. W., 1995: Effects of UV-B on activities of enzymes of secondary phenolic metabolism in barley primary leaves. *Physiologia Plantarum* 93, s. 734-739
- LOIS, R., 1994: Accumulation of UV-absorbing flavonoids induced by UV-B radiation in *Arabidopsis thaliana* L. *Planta* 194, s. 498-503
- LONCHAMPT, M. / GUARDIOLA, B. / SICOT, N. / BERTRAND, M. / PERDRIX, I. / DUHAULT, J., 1989: Protective effects of purified flavonoid fraction against reactive oxygen radicals. *Arzneim.-Forsch., Drug. Res.* 39(II), s. 882-885
- ŁUKASZEK, M. / POSKUTA, J. W., 1996: Chlorophyll a fluorescence kinetics and CO₂ exchange rates in light and darkness in leaves of tall fescue as affected by UV radiation. *Physiol. Plant.* 18 (4), s. 345-350
- LYDON, J. / TERAMURA, A. H. / COFFMAN, C. B., 1987: UV-B radiation effects on photosynthesis, growth and cannabinoid production of two *Cannabis sativa* chemotypes. *Photochem. Photobiol.* 46, s. 201-206

- MACKERNESS-SOHEILA, A. H. / SURPLUS, S. L. / JORDAN-BRIAN, R. / BRIAN, T., 1998: Effects of supplementary UV-B radiation on photosynthetic transcripts at different stages of leaf development and light levels in pea (*Pisum sativum* L.): Role of active oxygen species and antioxidant enzymes. *Photochem. Photobiol.* 68 (1), s. 88-96
- MADRONICH, S., 1993: The atmosphere and UV-B radiation at ground level. *Environmental UV photobiology* (A. R. Young, L. O. Björn, J. Moan, W. Nultsch, eds.). Plenum Press, New York, s. 1-39
- MADRONICH, S. / MCKENZIE, R. L. / CALDWELL, M. M. / BJÖRN, L. O., 1995: Changes in UV radiation reaching the Earth's surface. *Ambio* 24, s. 143-152
- MADRONICH, S. / MCKENZIE, R. L. / BJÖRN, L. O. / CALDWELL, M. M., 1998: Changes in biologically active UV radiation reaching the Earth's surface. *Environmental Effects on Ozone Depletion*. United Nations Environment Programme, Ozone Secretariat, s. 1-27
- MARTIN, C. / GERATZ, T., 1993: Control of pigment biosynthesis genes during petal development. *Plant Cell* 5, s. 1253-1264
- MAZEJ, Z., 2000: Vpliv povečanega UV-B sevanja na dve potopljeni vrsti *Myriophyllum spicatum* in *Potamogeton alpinus*. Dok. disertacija. Univerza v Ljubljani, BF, Odd. za biol., (v pripravi)
- MELIS, A. / NEMSON, J. A. / HARRISON, M. A., 1992: Damage to functional components and partial degradation of photosystem II reaction center proteins upon chloroplast exposure to UV-B radiation. *Biochem. Biophys. Acta* 1100, s. 312-320
- MIDDLETON, E. H. / TERAMURA, A. H., 1993: The role of flavonol glycosides and carotenoids in protecting soybean from UV-B damage. *Plant Physiol.* 103, s. 741-752
- MIDDLETON, E. H. / TERAMURA, A. H., 1994: Understanding photosynthesis, pigment and growth responses induced by UV-B and UV-A irradiances. *Photochem. and Photobiol.* 60, s. 38-45
- MOHR, H., 1994: Coaction between pigment systems. *Photomorphogenesis in Plants* (R. E. Kendrick, G. H. M. Kronenberg, eds.). Kluwer Academic Publ., Dordrecht, s. 353-373
- MOLINA, M. J. / ROWLAND, F. S., 1974: Stratospheric sink for chlorofluoromethanes: chlorine atoms catalyzed destruction of ozone. *Nature* 249, s. 810-812
- MURALI, N. S. / TERAMURA, A. H., 1985a: Effects of UV.B irradiance on soybean VI. Influence of phosphorus on growth and flavonoid content. *Physiol. Plant.* 63, s. 413-416
- MURALI, N. S. / TERAMURA, A. H., 1985b: Effects of UV.B irradiance on soybean VII. Biomass and concentration and uptake of nutrients at varying P supply. *J. Plant Nutr.* 8, s. 177-192
- MURALI, N. S. / TERAMURA, A. H., 1986a: Effects of supplemental UV-B radiation on the growth and physiology of field-grown soybean. *Environ. Exp. Bot.* 26, s. 233-242
- MURALI, N. S. / TERAMURA, A. H., 1986b: Effectiveness of UV-B radiation on the growth and physiology of field-grown soybean modified by water stress. *Photochem. Photobiol.* 44, s. 215-219
- MURALI, N. S. / TERAMURA, A. H. / RANDALL, S. K., 1988: Response differences between two soybean cultivars with contrasting UV-B radiation sensitivities. *Photochem. Photobiol.* 48, s. 653-657
- MURPHY, T. M., 1983: Membranes as targets of UV radiation. *Physiol. Plant.* 58, s. 381-388

- MUSIL, C. F., 1996: Accumulated effect of elevated UV-B radiation over multiple generations of the arid-environment annual *Dimorphotheca sinuata* DC (Asteraceae). *Plant, Cell and Env.* 19, s. 1017-1027
- NEWSHAM, K. K. / McLEOD, A. R. GREENSLADE, P. D. / EMMETT, B. A., 1996: Appropriate controls in outdoor UV-B supplementation experiments. *Global Change Biology* 2. s. 319-324
- NILSEN, E. T. / ORCUTT, D. M., 1996: The physiology of plants under stress. John Wiley & Sons, New York. s. 689
- OLSSON, L. C. / VEIT, M. / WEISSENBÖCK, G. / BORNMAN, J. F., 1998: Differential flavonoid response to enhanced UV-B radiation in *Brassica napus*. *Phytochem.* 49 (4), s. 1021-1028
- OPTI-SCIENCES, INC., 1995: OS-500 modulated fluorometer. Operation manual. Haverhill, MA, s. 85
- PACKARD, T. T., 1971: The measurement of respiratory electron activity in marine phytoplankton. *J. Mar. Res.* 29, s. 235-244
- PANAGOPOULOS, I. / BORNMAN, J. F. / BJÖRN, L. O., 1990: Effects of UV radiation and visible light on growth, fluorescence induction, ultraweak luminiscence and peroxidase activity in sugar beet plants. *Photobiochem Photobiol.* 8, s. 73-87
- PANG, Q. / HAYS, J. B., 1991: UV-B-inducible and temperature sensitive photoreactivation of cyclobutane pyrimidine dimers in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol.* 95, s. 536-543
- PEAK, M. J. / PEAK, J. G., 1990: Hydroxyl radical quenching agents protect against DNA breakage caused by both 365 nm UV-A and gamma radiation. *Photochem. Photobiol.* 51, s. 649-652
- PRATHER, M. / MIDGLEY, P. / ROWLAND, F. S. / STOLARSKI, R., 1996: The ozone layer: the road not taken. *Nature* 381, s. 551-554
- QUAITE, F. E. / SUTHERLAND, B. M. / SUTHERLAND, J. C., 1992: Action spectrum for DNA damage in alfalfa lowers predicted impact of ozone depletion. *Nature* 358, s. 576-578
- RAU, W. / SCHROTT, E. L., 1987: Blue light control of pigment biosynthesis. *Blue Light responses: Phenomena and Occurrence in Plants and Microorganisms* 1. (H. Senger, ed.) CRC Press, Boca Raton, FL, s. 43-64
- RAU, W. / SEIGNER, L. / SCHROTT, E. L., 1991: The role of carotenoids in photoprotection against harmful effects of UV-B radiation. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* 372, s. 539
- RENGER, G. / VOSS, M. / GRÄBER, P. / SCHULZE, A., 1986: Effect of UV-B irradiation on different partial reactions of the primary processes of photosynthesis. *Stratospheric Ozone Reductions, Solar Ultraviolet Radiation and Plant Life* (R. C. Worrest, M. M. Caldwell, eds.). Springer Verlag, Berlin, NATO ASI Series G. 8, s. 171-184
- RENGER, G. / VOLKER, M. / ECKERT, H. J. / FROME, R. / HOHM-VEIT, S. / GRABER, P., 1989: On the mechanism of PS II deterioration by UV-B radiation. *Photochem. Photobiol.* 49, s. 97-105
- RICH, P. R. / BONNER, W. D., 1987: The sites of superoxide anion generation in higher plant mitochondria. *Arch. Biochem. Biophys.* 188, s. 206-213
- ROBBERECHT, R. / CALDWELL, M. M., 1978: Leaf epidermal transmittance of UV radiation and its implications for plant sensitivity to UV radiation induced injury. *Oecologia* 32, s. 277-287

- ROBBERECHT, R. / CALDWELL, M. M. / BILLINGS, W. D., 1980: Leaf UV optical properties along a latitudinal gradient in the arctic-alpine life zone. *Ecology* 61, s. 612-619
- ROUSSEAU, M. C. / BALLARÉ, C. L. / SCOPEL, A. L. / SEARLES, P. S. / CALDWELL, M. M., 1998: Solar UV-B radiation affects plant-insects interactions in a natural ecosystem of Tierra del Fuego (southern Argentina). *Oecologia* (v tisku)
- SATO, T. / KUMAGI, T., 1997: Role of UV-absorbing compounds in genetic differences in the resistance to UV-B radiation in rice plants. *Breeding Science* 47, s. 21-26
- SCHMELZER, E. / JAHNEN, W. / HAHLBROCK, K., 1988: In situ localization of light induced chalcone synthase mRNA, chalcone synthase and flavonoid end products in epidermal cells of parsley leaves. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85, s. 2984-2993
- SCHMELZER, E. / KROEGER-LEBUS, S. / HAHLBROCK, K., 1989: Temporal and spatial patterns of gene expression around sites of attempted fungal infection in parsley leaves. *Plant Cell* 1, s. 993-1001
- SCHREIBER, U. / BILGER, W. / HORMANN, H. / NEUBAUER, C., 1998: Chlorophyll fluorescence as a diagnostic tool: basics and some aspects of practical relevance. *Photosynthesis, a comprehensive treatise*. (A. S. Raghavendra, ed.) University Press, Cambridge, s. 320-336
- SCHULZE, E. D., 1986: Carbon dioxide and water vapor exchange in response to drought in the atmosphere and in the soil. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 37, s. 510-514
- SEARLES, P. S. / CALDWELL, M. M. / WINTER, K., 1995: Response of five tropical dicotyledon species to natural solar UV-B radiation. *Am. J. Bot.* 82, s. 445-453
- SEARLES, P. S. / FLINT, S. D. / DIAZ, S. B. / ROUSSEAU, M. C. / BALLARÉ, C. L. / CALDWELL, M. M., 1998: Solar UV-B radiation influence on *Sphagnum* bog and *Carex* fen ecosystems: first field season findings in Tierra del Fuego, Argentina. *Global Change Biology* (v tisku)
- SEYFRIED, M. / FUKSHANSKY, L., 1983: Light gradients in plant tissue. *Appl. Opt.* 22, s. 1402-1408
- STAPLETON, A. E. / THORNER, C. S. / WALBOT, V., 1997: UV-B component of sunlight causes measurable damage in field-grown maize (*Zea mays* L.): developmental and cellular heterogeneity of damage and repair. *Plant Cell Environ.* 20, s. 279-290
- STAXÉN, I. / BERGOUNIOUX, C. / BORNMAN, J. F., 1993: Effect of UV radiation on cell division and microtubule organisation in *Petunia hybrida* protoplasts. *Protoplasma* 173, s. 70-76
- STEINMÜLLER, D. / TEVINI, M., 1985: Action of ultraviolet radiation (UV-B) upon cuticular waxes in some crop plants. *Planta* 164, s. 557-564
- STRICKLAND, J. D. H. / PARSONS, T. R., 1972: A practical handbook of seawater analysis. *Limnological analyses*. (R. G. Wetzel, G. E. Likens, eds.) Springer Verlag, New York (1995), s. 158-159
- STRID, A. / CHOW, W. S. / ANDERSON, J. M., 1990: Effects of supplementary UV-B radiation on photosynthesis in *Pisum sativum*. *Biophys. Biochem. Acta* 1020, s. 260-268
- STRID, A. / CHOW, W. S. / ANDERSON, J. M., 1994: UV-B damage and protection at the molecular level in plants. *Photosynthesis Res.* 39, s. 475-489

- STRID, A. / CHOW, W. S. / ANDERSON, J. M., 1996: Changes in the relaxation of electrochromic shifts of photosynthetic pigments and in the levels of mRNA transcripts in leaves of *Pisum sativum* as a result of exposure to supplementary UV-B radiation: The dependency on the intensity of the photosynthetically active radiation. *Plant Cell Physiol.* 37 (1), s.61-67
- SULLIVAN, J. H. / TERAMURA, A. H., 1988: The effects of UV-B radiation on seedling growth in the Pineaceae. *Am. J. Bot.* 75, s. 225-230
- SULLIVAN, J. H. / TERAMURA, A. H., 1992: The effects of UV-B radiation on loblolly pines 2. Growth of field-grown seedlings. *Tree Structure and and Function* 6, s. 115-120
- SULLIVAN, J. H. / TERAMURA, A. H. / ZISKA, L. H., 1992: Variation in UV-B sensitivity in plants from a 3000 m elevation gradient in Hawaii. *Am. J. Bot.* 79, s. 737-743
- SULLIVAN, J. H. / HOWELLS, B. W. / RUHLAND, C. T. / DAY, T. A., 1996: Changes in leaf expansion and epidermal screening effectiveness in *Liquidambar styraciflua* and *Pinus taeda* in response to UV-B radiation. *Physiologia Plantarum* 98, s. 349-357
- ŠPRTOVÁ, M. / MAREK, M. V. / NEDBAL, L. / PRÁŠIL, O. / KALINA, J., 1999: Sesonal changes of photosynthetic assimilation of Norway spruce under the impact of enhanced UV-B radiation. *Plant Sci.* 142, s. 37-45
- ŠPRTOVÁ, M. / MAREK, M. V., 1999: Sesonal changes of photosynthetic assimilation and chlorophyll a fluorescence parameters of Norway spruce under impact of enhanced UV-B radiation. COST E6 - forest tree physiology research. Workshop. Abstracts. Slovenia, Gozd Martuljek, sept. 1999, s. 32
- TAKAHAMA, U., 1988: Oxidation of flavonols by hydrogen peroxide in epidermal and guard cells of *Vicia faba* L. *Plant Cell Physiol.* 29, s. 433-438
- TAKAHAMA, U. / EGASHIRA, T. / WAKUMATSU, K., 1989: Hydrogen peroxide-dependent synthesis of flavonols in mesophyll cells of *Vicia faba* L. *Plant Cell Physiol.* 30, s. 951-955
- TAKEUCHI, Y. / AKIZUKI, M. / SHIMIZU, H. / KONDO, N. / SUGAHARA, K., 1989: Effect of UV-B (290-320nm) irradiation on growth and metabolism of cucumber cotyledons. *Physiol. Plant.* 76, s. 425-430
- TAUSZ, M. / BYTNEROWICZ, A. / WEIDNER, W. / ARBAUGH, M. J. / PADGETT, P. / GRILL, D., 1999: Pigments and photoprotection in needles of *Pinus ponderosa* trees with and without symptoms of ozone injury. *Phyton* 39, s. 219-224
- TERAMURA, A. H., 1980: Effects of UV-B irradiances on soybean I. Importance of photosynthetically active radiation in evaluating UV-B irradiance effects on soybean and wheat growth. *Physiol. Plant.* 48, s. 333-339
- TERAMURA, A. H. / CALDWELL, M. M., 1981: Effects of UV-B irradiances on soybean. IV. Leaf ontogeny as a factor in evaluating UV-B irradiance effects on net photosynthesis. *Am. J. Bot.* 68, s. 934-941
- TERAMURA, A. H. / TEVINI, M. / IWANZIK, M., 1983: Effects of UV-B irradiance on plants during mild water stress. I. Effects on diurnal stomatal resistance. *Physiol. Plant.* 57, s. 175-180

TERAMURA, A. H. / PERRY, M. C. / LYDON, J. / MCINTOSH, M. S. / SUMMERS, E. G., 1984a: Effects of UV-B radiation on plants during mild water stress III. Effects on photosynthetic recovery and growth in soybean. *Physiol. Plant.* 60, s. 484-492

TERAMURA, A. H. / FORSETH, I. N. / LYDON, J., 1984b: Effects of UV-B radiation on plants during mild water stress IV. The insensitivity of soybean internal water relations to UV-B radiation. *Physiol. Plant.* 60, s. 484-492

TERAMURA, A. H. / SULLIVAN, J. H., 1987: Soybean growth responses to enhanced levels of UV-B radiation under greenhouse conditions. *Am. J. Bot.* 74, s. 975-979

TERAMURA, A.H. / SULLIVAN, J. H. / LYDON, J., 1990a: Effects of UV-B radiation on soybean yield and seed quality: A 6-year field study. *Physiol. Plant.* 80, s. 5-11

TERAMURA, A.H. / SULLIVAN, J. H. / ZISKA, L. H., 1990b: Interaction of elevated UV-B radiation and CO₂ on productivity and photosynthetic characteristics in wheat, rice and soybean. *Plant Physiol.* 94, s. 470-475

TERAMURA, A. H. / TEVINI, M. / BORNMAN, J. F. / CALDWELL, M. M. / KULANDAIVELU, G. / BJÖRN, L. O., 1991: Terrestrial plants. Environmental Effects of Ozone Depletion. 1991 Update, UNEP Environmental Effects Panel Report, Nairobi, Kenya, s. 25-32

TERAMURA, A. H. / SULLIVAN, J. H., 1994: Effects of UV-B radiation on photosynthesis and growth of terrestrial plants. *Photosynthesis research* 39, s. 463-473

TEVINI, M. / IWANZIK, W. / TERAMURA, A. H., 1983a: Effects of UV-B radiation on plants during mild water stress II. Effects on growth, protein and flavonoid content. *Z. Pflanzenphysiol.* 110, s. 459-467

TEVINI, M. / THOMA, U. / IWANZIK, W., 1983b: Effects of enhanced UV-B radiation on germination, seedling growth, leaf anatomy and pigments of some crop plants. *Z. Pflanzenphysiol.* 109, s. 435-448

TEVINI, M. / STEINMÜLLER, D. / IWANZIK, W., 1986: Über die Wirkung erhöhter UV-B-Strahlung in Kombination mit anderen Stressfaktoren auf Wachstum und Funktion von Nutzpflanzen. BPT-Bericht, Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung, München, 6/68, s. 1-172

TEVINI, M. / TERAMURA, A. H., 1989: UV-B effects on terrestrial plants. *Photochem. Photobiol.* 50, s. 479-487

THIMIJJAN, R. W. / CARNS, H. R. / CAMPBELL, L. E., 1978: Final report (EPA-IAG-D6-0168): Radiation sources and relative environmental control for biological and climatic effects of UV research (BACER), Environmental Protection Agency, Washington, DC.

TORABINEJAD, J. / CALDWELL, M. M. / FLINT, S. D. / DORHAM, S., 1998: Susceptibility of pollen to UV-B radiation: An assay of 34 taxa. *A. J. Bot.* 85 (3), s. 360-369

TOSSERAMS, M. / BOLINK, E. / ROZEMA, J., 1997: The effect of enhanced UV-B radiation on germination and seedling development of plant species occurring in a dune grassland ecosystem. *Plant Ecol.* 128, s.138-147

- VAN, T. K. / GARRARD, L. A. / WEST, S. H., 1977: Effects of 298nm radiation on photosynthetic reactions of leaf discs and chloroplast preparations of some crop species. *Environ. Exp. Bot.* 17, s. 107-112
- VAN DE STAALJ, J. W. M., 1994: The impact of elevated UV-B radiation levels on the reproductive biology of a highland and lowland population of *Silene vulgaris*. Doc. thesis, Vrije Universiteit, Amsterdam.
- VEIT, M. / BILGER, W. / MÜHLBAUER, T. / BRUMMET, W. / WINTER, K., 1996: Diurnal changes in flavonoids. *J. Plant. Physiol.* 148, s. 478-482
- VIERSTRA, R. D. / JOHN, T. R. / POFF, K. L., 1982: Kaempferol 3-o-galactoside, 7-o-rhamnoside is the major green fluorescing compound in the epidermis of *Vicia faba*. *Plant Physiol.* 69, s. 522-525
- WARNER, C. W. / CALDWELL, M. M., 1983: Influence of photon flux density in the 400-700nm waveband on inhibition and photosynthesis by UV-B (280-320nm) irradiation in soybean leaves: Separation of indirect and immediate effects. *Photochem. Photobiol.* 38, s. 341-346
- WELLMANN, E., 1975: Der Einfluss physiologischer UV-Dosen auf Wachstum und Pigmentierung von Umbelliferenkeimlingen. *Industrieller Pflanzenbau* (E. Bancher, ed.), Technische Universität Wien, s. 229-239
- WILSON, M. I. / GHOSH, S. / GHERHARDT, K. E. / HOLLAND, N. / BABU, T. S. / EDELMAN, M. / DUMBROFF, E. B. / GREENBERG, B. M., 1995: In vivo photomodification of ribulose-1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase holoenzyme by UV-B radiation. *Plant Physiol.* 109 (1), s. 221-229
- WINGATE, V. P. M. / LAWTON, M. A. / LAMB, C. J., 1988: Glutathione causes a massive and selective induction of plant defense genes. *Plant Physiol.* 87, s. 206-210
- YASUI, A. / EKER, A. P. M. / YASUHIRA, S. / YAJIMA, H. / KOBAYASHI, T. / TAKAO, M. / OIKAWA, A., 1994: A new class of DNA photolyases present in various organisms including placental mammals. *EMBO Journal* 13, s. 6143-6151
- YATSUHASHI, H. / HASHIMOTO, T., 1982: Multiplicative action of a UV-B photoreceptor and phytochrome in antocyanin synthesis. *Photochem Photobiol.* 41, s. 673-680
- YU, S.-G. / BJÖRN, L., 1996: Differences in UV-B sensitivity between PS II from grana lamellae and stroma lamellae. *J. Photochem. Photobiol., Biology* 34, s. 35-38
- YU, S.-G. / BJÖRN, L., 1997: Effects of UV-B radiation on light-dependent and light-independent protein phosphorylation in thylakoid proteins. *J. Photochem. Photobiol., Biology* 37, s. 212-218
- ZISKA, L. H. / TERAMURA, A. H., 1992: CO₂ enhancement of growth and photosynthesis in rice (*Oryza sativa*): Modification by increased UV-B radiation. *Plant Physiol.* 84, s. 269-276
- ZISKA, L. H. / TERAMURA, A. H. / SULLIVAN, J. H., 1992: Physiological sensitivity of plants along an elevational gradient to UV-B radiation. *Am. J. Bot.* 79, s. 863-871