

**Raskasmetallien kertyminen mustikan lehtiin, marjoihin ja mustikalla eläviin
toukkiin nikkeli- ja kuparisulaton ympäristössä**

Hanna Holmström

Pro gradu -tutkielma

Turun yliopisto
Biologian laitos
Pvm

Linja: ekologian linja
Erikoistumisala: ekologia ja evoluutiobiologia

Laajuus: 40 op / 40 op

Tarkastajat:

1:

2:

Hyväksytty:

Arvolause:

TURUN YLIOPISTO

Biologian laitos

Luonnontieteiden ja tekniikan tiedekunta

HOLMSTRÖM, HANNA:

Raskasmetallien kertyminen mustikan lehtiin, marjoihin ja mustikalla eläviin toukkiin nikkeli- ja kuparisulaton ympäristössä

Pro gradu -tutkielma, 34 s.

Ekologia

Toukokuu 2020

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin Originality Check -järjestelmällä.

Varpukasveihin kuuluva mustikka (*Vaccinium myrtillus*) on olennainen osa pohjoisten ekosysteemien ravinnekiertoa ja vaikuttaa merkittävästi niiden tuottavuuteen. Harjavallan alueella runsaana metsäkasvina esiintyvä mustikka saattaa olla tärkeä linkki raskasmetallien ylöspäin siirtymisessä alueen ravintoketjuissa. Pro Gradussa tutkin, nostavatko Harjavallan nikkeli- ja kuparisulaton päästöt raskasmetallipitoisuuksia mustikan lehdissä, marjoissa ja niitä ravintonaan käyttävillä toukilla. Lisäksi mitattiin, kuinka paljon raskasmetalleja kertyy mustikan eri kasvinosiin ja onko kasvin osien välillä vaihtelua. Kokeellisessa osassa selvitin, vaikuttaako raskasmetallialtistus mustikalla elävien tunturimittarin toukkien kasvunopeuteen. Tulosten mukaan useimpien metallien pitoisuudet mustikan lehdissä, marjoissa ja toukissa olivat tilastollisesti merkitsevästi korkeampia saastuneella alueella kuin kontrollialueella. Toukista mitattiin keskimäärin pienempiä raskasmetallipitoisuuksia kuin lehdistä, mutta kuitenkin suurempia kuin marjoista. Mustikan kasvinosien välillä havaittiin tilastollisesti merkitsevät erot (lehdet > marjat) kunkin tarkastellun raskasmetallin suhteen. Toukkien kasvua selitti saastumisvyöhyke, sillä saastuneilla alueilla toukkien kasvu oli vähäisempää. Tehdaskompleksin raskasmetallisaasteiden pitoisuudet mustikan lehdissä, marjoissa ja toukissa vähenivät seuraavassa järjestyksessä $Cu > Ni > As > Pb > Cd$ ja etäisyyden kasvaessa alueen olennaisimmasta päästölähteestä. Vaikka raskasmetallipäästöt ovat Harjavallan alueella vuosien mittaan pienentyneet, taustalla on pitkä ajanjakso, jonka aikana alueen maaperä on voimakkaasti saastunut. Ei ole siis yllättävää, että tutkimuksessa havaittiin raskasmetallien yhä kertyvän mustikan marjoihin ja lehtiin sekä mustikalla eläviin toukkiin. Vaikka Harjavallan mustikan marjojen raskasmetallipitoisuudet ovat edelleen tausta-arvoja suurempia, ne eivät kuitenkaan ole terveysriski ihmisille. Mustikan lehtien raskasmetallipitoisuudet ovat suhteellisen korkeita, joten niitä ravintonaan käyttäville eläimille saattaa aiheutua tämän takia haitallisia seurauksia.

ASIASANAT: Mustikka, Tunturimittari, Varpukasvit, Raskasmetallit, Harjavallan

Sisällysluettelo

1. Johdanto.....	4
2. Aineisto ja menetelmät	11
2.1 Tutkimusalue	11
2.2 Tutkimuslajit	12
2.3 Näytteiden esikäsittely ja keräys	13
2.4 Raskasmetallinäytteet ja -analyysit	15
2.5 Tilastolliset analyysit.....	16
3. Tulokset.....	17
4. Pohdinta	20
4.1 Mustikkakasvin eri osat.....	22
4.2 Harjavallan kupari- ja nikkelisulaton pääasialliset raskasmetallisaasteet	24
4.3 Raskasmetallien sisäinen ja ulkoinen altistus.....	26
4.4 Tunturimittarin toukat ja niiden kasvu	26
4.5 Harjavallan alueen nykytila.....	28
4.6 Mahdollisia jatkotutkimuksia	30
6. Kirjallisuus	31

1. Johdanto

Raskasmetalleja on määritelty tieteellisessä kirjallisuudessa lukuisilla eri tavoilla, kuten tiheyden, atomipainon, järjestysluvun, myrkyllisyyden tai muiden kuin kemiallisten ominaisuuksien mukaan (IUPAC 2002). Esimerkiksi tiheyden mukaan määriteltäessä alkuaine voidaan luokitella raskasmetalliksi, mikäli tiheys on suurempi kuin 5 g/cm^3 (Suomen ympäristökeskus 2014). Raskasmetallit voidaan määritellä myös happi-, typpi- ja/tai rikkihakuisuuden perusteella (Nieboer & Richardson 1980) tai muutoin jaksollisen järjestelmän mukaan esimerkiksi siten, että niihin kuuluvat siirtymämetallit, harvinaiset maametallit, ja joitakin alkuaineita p-ryhmästä, jotka eivät ole metalleja tai puolimetalleja (Appenroth 2010). Usein raskasmetalleilla on kuitenkin viitattu sellaisiin metalleihin ja puolimetalleihin, jotka on yhdistetty ympäristön kontaminaatioon tai mahdolliseen toksisuuteen ja ekotoksisuuteen eliöiden kannalta (IUPAC 2002), toisin sanoen niillä on ympäristön ja eliöiden kannalta saastuttavia tai myrkyllisiä vaikutuksia. Näin ollen raskasmetalleihin kuuluvat yleensä ainakin arseeni (As), kadmium (Cd), kromi (Cr), kupari (Cu), lyijy (Pb), elohopea (Hg), mangaani (Mn), nikkeli (Ni), seleeni (Se) ja sinkki (Zn) (Appenroth 2010). Lyijy, elohopea ja kadmium ovat edellä mainituista raskasmetalleista ympäristön kannalta ongelmallisimpia, sillä ne kertyvät helposti eliöihin, rikastuvat ravintoketjuissa ja ovat pieninä pitoisuuksina myrkyllisiä (Suomen ympäristökeskus 2014).

Haitallisilla aineilla, kuten raskasmetalleilla, voi olla sekä luonnollisia että ihmisperäisiä eli antropogeenisiä lähteitä (Paranko 2005). Raskasmetallien luonnollisiin lähteisiin kuuluvat muun muassa malmiesiintymät sekä kallioperän ja vulkaanisten kivien eroosio (Alloway 1991). Kokonaislaskeuman kannalta luonnolliset lähteet tuottavat kuitenkin vain pienen osan luonnossa esiintyvistä raskasmetalleista, sillä merkittävin osa on peräisin ihmisen toiminnasta. Ihmistoiminnan vaikutuksesta ilmaan vapautuu saasteita lukuisista eri lähteistä, kuten teollisuudesta, liikenteestä sekä energian- ja lämmöntuotannosta, jotka ovat globaalilla mittakaavalla tarkasteltuna myös raskasmetallien merkittäviä lähteitä (Paranko 2005). Suomessa ilmakehään päätyvistä Pb-, Cd-, Hg-, As-, Cr-, Cu-, Ni-, V-, ja Zn-päästöistä huomattavin osa on lähtöisin fossiilisten polttoaineiden ja jätteiden poltosta, metallien tuotannosta ja liikenteestä. Erityisesti fossiilisten polttoaineiden poltosta aiheutuneet lyijypäästöt ovat vähentyneet 1990-luvulta lähtien, kun lyijytön bensiini otettiin käyttöön (Suomen ympäristökeskus 2014).

Raskasmetalleilla tiedetään olevan sekä suoria että epäsuoria vaikutuksia ympäristön ja eliöiden kannalta. Suorien vaikutuksien on havaittu liittyvän yleensä raskasmetallien akuuttiin toksisuuteen

eli myrkyllisyyteen (Scheuhammer 1987), kun taas epäsuorat vaikutukset johtuvat ravintoverkon muutoksista ja näkyvät esimerkiksi hyönteissyöjälintujen poikasten suurempana kuolleisuutena (Eeva ym. 2005). Erilaisia ilmansaasteiden aiheuttamia vaikutuksia eliöihin on tutkittu sekä Suomessa (Kubin & Lippo 1996; Derome & Lindroos 1998; Salemaa ym. 2001; Salemaa ym. 2004) että muualla (Hutchinson & Whitby 1974; Lindroos ym. 1996; Nöjd ym. 1996; Kozlov ym. 2000).

Osa raskasmetalleista on kasvien ja eläinten normaalin toiminnan kannalta välttämättömiä hivenaineita (Appenroth 2010), mutta useat ovat silti haitta-aineita ja ympäristömyrkyjä (Paranko 2005). Esimerkiksi raskasmetalleihin kuuluvat lyijy ja kadmium eivät kuulu kasveille tärkeisiin hivenaineisiin ja ne ovat kasvien näkökulmasta vain myrkyllisiä (Kabata-Pendias 2001). Kasveille tärkeitä hivenaineita sen sijaan ovat Marschnerin (1995) mukaan ainakin mangaani, nikkeli, kupari ja sinkki. Edellä mainituista erityisesti kupari on äärimmäisen myrkyllistä ja kasvit tarvitsevat sitä vain hyvin pieniä määriä (Marschner 1995). Kuitenkin kuparia tarvitaan esimerkiksi aineenvaihdunnan prosesseihin, mutta liian suuri kuparipitoisuus puolestaan johtaa muun muassa happiradikaalien määrän nousuun, mikä taas haittaa yhteyttämistä. Erilaisten haitallisten vaikutusten takia raskasmetallien määrän säätely on tärkeää eliöille (Clemens ym. 2002). Tässä yhteydessä onkin hyvä ymmärtää, että määrä tekee myrkyin ja ihmisten tuottamat raskasmetallipäästöt saattavat aiheuttaa ongelmia ylittäessään ympäristön ja eliöiden kantokyvyn (Paranko 2005). Esimerkiksi kasveilla on usein kapeat fysiologiset rajat eri metallien sietämiselle, minkä takia ne säätelevät metallien pitoisuuksia eri tasoilla (esimerkiksi solutasolla) ja myös eri keinoin (esimerkiksi siirtämällä ja varastoimalla) (Clemens ym. 2002). Päästöjen aiheuttamia vaikutuksia ympäristölle voidaan arvioida muun muassa pienimmän vaikutuksiltaan havaittavissa olevan altistuksen eli LOELin (Lowest Observable Effective Level) mukaan (Tyler 2012). Ympäristön kannalta haitallisimmille aineille eli elohopealle, lyijylle ja kadmiumille (Scheuhammer 1987; Suomen ympäristökeskus 2014) on esitetty seuraavat LOEL-arvot humuksessa: Hg 0,75 mg kg⁻¹, Pb: 150 mg kg⁻¹ ja Cd: 3-4 mg kg⁻¹ (Tyler 1992). On kuitenkin tärkeää huomioida, että lajien välillä on eroja raskasmetalleihin liittyvissä vasteissa, toisin sanoen, kaikki eliöt eivät reagoi samalla tavalla raskasmetalleihin ja niiden pitoisuuksiin.

Harjavallan ympäristö on yksi Suomen laajimmista raskasmetallien saastuttamista alueista Tornion ohella (Kubin ym. 2000; Kiikkilä 2003). Harjavallassa on vuodesta 1945 asti toiminut metallien tuotantoon ja jalostamiseen erikoistuneita yrityksiä, kuten muun muassa kuparisulatto ja vuodesta 1960 asti nikkelisulatto, samalla raskaan teollisuuden alueella. Kupari- ja nikkelisulaton pääsaastukkeisiin lukeutuvat nimensä mukaisesti sekä kupari että nikkeli (Kiikkilä 2003), jotka ovat

molemmat raskasmetalleja (Appenroth 2010). Näiden pääsaastukkeiden ohella sulattojen päästöt sisältävät myös muita raskasmetalleja, kuten lyijyä ja arseenia. 1990-luvulle asti kupari- ja nikkelisulatosta ilmaan levinneet saasteet koostuivat mittavista pöly-, raskasmetalli- ja rikkidioksidipäästöistä (Kiikkilä 2003), joiden määrät ovat sittemmin vähentyneet (Tammiranta 2000; Anttila ym. 2003; Saari & Pesonen 2003). Ilmansaasteet ovat kuitenkin 1990-luvun jälkeenkin vaikuttaneet voimakkaasti yhä monilla tavoilla teollisuusalueen lähiympäristöön (Kiikkilä 2003), mikä on nähtävissä lukuisissa Harjavallan alueella tehdyissä tutkimuksissa. Nämä ilmansaasteisiin liittyvät tutkimukset ovat käsitelleet esimerkiksi alueen kasvillisuutta (Fritze ym. 1989; Salemaa & Vanha-Majamaa 1993; Jussila ym. 1997; Salemaa ym. 2001; Salemaa ym. 2004), kasveja syöviä hyönteisiä (Heliövaara & Väisänen 1990; Heliövaara & Väisänen 1991) ja lintuja (Eeva & Lehikoinen 1996; Eeva ym. 1997; Eeva ym. 2005).

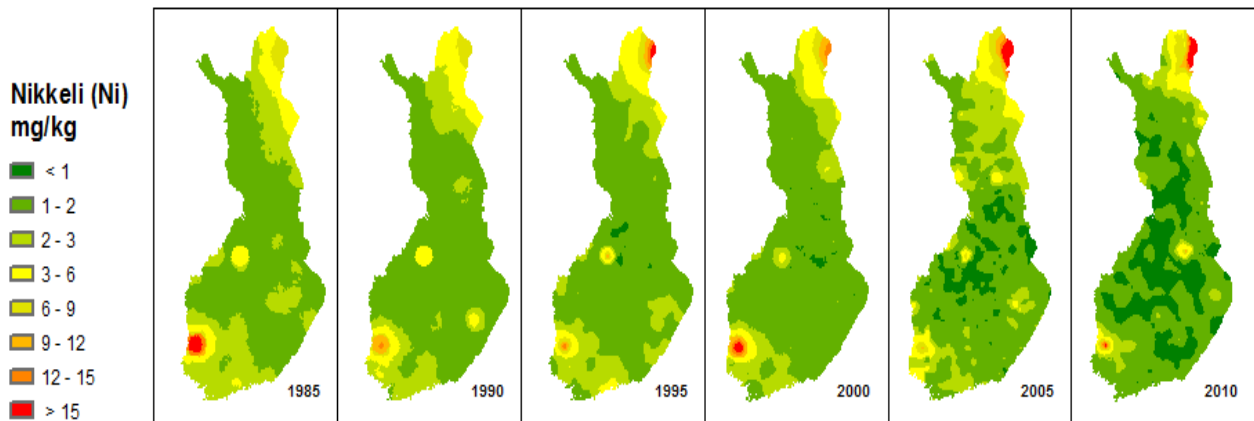
Satakunnassa, Harjavallassa ja sen lähiympäristössä, on myös yleisesti tutkittu ilman laatua erilaisten bioindikaattoritutkimuksien muodossa 1970-luvun alusta lähtien (Laaksovirta & Silvola 1975). Yleisesti ottaen bioindikaattoreilla tarkoitetaan sellaisia eliölajeja, jotka reagoivat ympäristön tilaan ja siinä tapahtuviin muutoksiin herkästi. Joissakin tapauksissa ilman laadun huonontuminen voidaan havaita esimerkiksi bioindikaattorieliölajin lukumäärän vähenemisenä (Keskitalo ym. 2014). Osa Harjavallan alueen ja sen lähiympäristössä toteutetuista tutkimuksista on keskittynyt vain jonkin tietyn indikaattorin tarkasteluun, mutta laajemmissa indikaattoritutkimuksissa on käytetty yksittäisten bioindikaattoreiden sijasta useampia eliölajeja ja joitakin elottoman luonnon ominaisuuksia. Tällaiset laaja-alaiset indikaattoritutkimukset ovat keskittyneet muun muassa jäkäliin, hyönteisiin, puiden harsuuntumiseen, taimien kasvuun ja maaperään (Jussila ym. 1991).

Edellä mainittujen indikaattoreiden ohella ilmansaasteisiin ja erityisesti raskasmetalleihin liittyvää tutkimusta Harjavallassa ja sen ympäristössä on tehty useina vuosina kattavasti myös sammaleilla niin sanotulla sammalpallomenetelmällä, joissa on käytetty lähinnä standardissa suositeltuja lajeja (Laaksovirta & Silvola 1975; Hynninen 1986; Jussila & Jormalainen 1991). Sammaleiden onkin todettu soveltuvan hyvin laskeumaindikaattoreiksi, vaikka niistä mitattujen raskasmetallipitoisuuksien avulla ei voida tarkasti arvioida muiden kasvien raskasmetallipitoisuuksia (Peltola & Stark 2010). Ilman laatuun liittyvien kartoitusten ohella tehdyn menetelmäkehityksen tuloksena Suomessa otettiin käyttöön jäkäläkartoitus, joka oli ensimmäinen Suomessa kehitelty standardi bioindikaattorimenetelmä (Jussila ym. 1999). Jäkälien ja erityisesti sammalien raskasmetallipitoisuuksia on seurattu kattavasti muuallakin Suomessa, sillä ne reagoivat muuta aluskasvillisuutta herkemmin raskasmetallisaasteisiin (Salemaa ym. 2001). Lisäksi niiden suosiota

voidaan selittää sillä, että molemmille on kehitetty standardoidut pitoisuuksien mittaamisen menetelmät (Jussila ym. 1999). Erilaisista eliölajeista ja maaperästä mitattujen raskasmetallipitoisuuksien kautta on pystytty edelleen selvittämään saasteiden esiintymistä ja määrää sekä Harjavallan alueen tilaa (Jussila & Jormalainen 1991; Jussila 1997; Derome & Lindroos 1998; Tammiranta 2000; Salemaa ym. 2001; Saari & Pesonen 2002; Kiikkilä 2003).

Aluskasvillisuuteen ja edelleen putkilokasveihin kuuluvilla varpukasveilla ilmansaasteiden vaikutuksia on tutkittu huomattavasti vähemmän ja pienemmällä mittakaavalla kuin sammalilla ja jäkälillä. Lisäksi varpukasveihin liittyneet tutkimukset ovat Suomessa keskittyneet lähinnä muutamiin tyypillisiin tutkimuslajeihin, kuten kanervaan, variksenmarjaan, sianpuolukkaan, juolukkaan ja puolukkaan (Koski ym. 1988; Salemaa ym. 1999; Levula ym. 2000; Monni ym. 2000a; Monni ym. 2000b; Uhlig ym. 2001; Salemaa & Monni 2003; Bezabeh ym. 2007). Putkilokasveihin kertyy raskasmetalleja erityisesti juurien kautta maaperästä (Marschner 1995), joista kuitenkin vain pieni osa päätyy muihin kasvin osiin (Clemens ym. 2002). Tämä johtuu siitä, että putkilokasveilla, ja erityisesti varpukasveilla, on monia tutkittuja mekanismeja, joilla ne voivat estää raskasmetallien ottoa solujen sisälle (Uhlig & Junttila 2001; Hall 2002; Kandziora-Ciupa ym. 2017) ja näin ollen niillä on havaittu olevan suhteellisen korkea resistenssi eli vastuskyky saasteille (Salemaa ym. 1999). Eri varpukasveilla resistenssi voi kuitenkin vaihdella huomattavasti toisistaan (Salemaa & Monni 2003). Lisäksi raskasmetallien pitoisuudet usein vaihtelevat kasvin eri osien välillä, esimerkiksi puolukalla korkeimmat pitoisuudet on mitattu kuolleista osista, ja pienempiä pitoisuuksia vuotuisista versoista ja marjoista (Salemaa ym. 2004). Marjojen ja lehtien sisältämät raskasmetallipitoisuudet saattavat kuitenkin siirtyä ylöspäin luonnon ravintoketjuissa.

Myös varpukasveihin kuuluvan mustikan (*Vaccinium myrtillus*) raskasmetallipitoisuuksia on tutkittu Suomessa jonkin verran (Koski ym. 1988; Bezabeh ym. 2007; Peltola & Stark 2010; Rautiainen 2012). Metsäntutkimuslaitoksen toimesta mustikoiden versojen sisältämistä raskasmetallipitoisuuksista on tehty laajamittaisempi selvitys Etelä- ja Pohjois-Suomen välillä. Kyseisessä selvityksessä havaittiin, että Pohjois-Suomessa mitatut raskasmetallien pitoisuudet (As, Cd, Ni ja Pb) olivat matalampia kuin Etelä-Suomessa (Peltola & Stark 2010). Metsäntutkimuslaitoksen sammalkartoitukset tukevat tällaista spatiaalista eli sijainnista riippuvaa vaihtelua, sillä monien raskasmetallien laskeumat ovat yleisesti ottaen suurempia Etelä- kuin Pohjois-Suomessa (Metsäntutkimuslaitos 2014; Kuva 1).



Kuva 1. Luonnonvarakeskuksen laatima nikkelin laskeumakartta Suomessa 1985-2010. Merkittävimmät nikkelin päästölähteet Suomessa ovat Harjavallan alueella sijaitseva kupari- ja nikkelisulatto sekä nikkelikemikaaleja ja -metallia valmistava tehdas. Koillis-Lapin runsaat nikkelpitoisuudet eivät johdu kansallisista toimista, vaan Kuolan sulattojen päästöistä, joiden nikkelpäästöt kulkeutuvat ilmvirtausten mukana Venäjältä Suomen puolelle. (<http://www.metla.fi/metinfo/metsienterveys/raskasmetalli/kartta-nikkeli.htm>)

Yllättävää on, että Harjavallan ympäristössä mustikan raskasmetallipitoisuuksia käsitteleviä tutkimuksia on suhteellisen vähän, vaikka mustikka on puolukan ohella toinen alueen kenttäkerroksen kasvillisuutta dominoiva laji (Kiikkilä 2003; Eeva ym. 2005). Lisäksi, kuten edellä mainittiin, Harjavalta on yksi Suomen raskasmetallipäästöjen keskittymistä (Kubin ym. 2000; Kiikkilä 2003), joten se tarjoaa loistavat puitteet raskasmetallien kertymiseen keskittyvään tutkimukseen. Mustikan yleisyyttä alueella selittää sen lajispesifiset ominaisuudet, joiden ansiosta mustikalla on suhteellisen korkea resistenssi erilaisille saasteille (Uhlig & Junttila 2001; Salemaa & Monni 2003; Mroz & Demczuk 2010).

Mustikka voi esimerkiksi juuristossa olevan mykoritsasienensä avulla vähentää raskasmetallien ottoa solujen sisälle ja siten saada suojaa raskasmetallien suorilta myrkyllisistä vaikutuksista (Meharg 2003; Mroz & Demczuk 2010). Lisäksi mustikan lehtien sisältämien fenolihdisteiden avulla mustikka pystyy sietämään myrkyllisten aineiden kertymistä kasvin eri osiin (Bialonska ym. 2007; Parzych 2014). Tämä johtuu siitä, että fenolihdisteillä on taipumus köyhdyttää joidenkin hivenaineiden pitoisuuksia, joista osa on myös raskasmetalleja (Mroz & Demczuk 2010). Fenolihdisteet voivat myös toimia antioksidanttien tavoin ja korvata metalli-ionien tuottamia vapaita radikaaleja (Michalak 2006). Zvereran ja Kozlovin (2005) tutkimuksessa huomattiin myös, että mustikalla on kyky selvitä jopa kaikkein saastuneimmillakin alueilla, joissa kasvien kokonaistiheys

on muutoin äärimmäisen alhainen. Kyseisessä tutkimuksessa huomattiin lisäksi, että ympäristön saastuneisuudella ei ollut vaikutusta mustikan ja puolukan vegetatiivisten varsien keskimääräiseen painoon, eikä vuosikohtaisen vegetatiivisen painon tuotantoon (Zvereran & Kozlov 2005). Tutkimukseni kasvilaji, mustikka (*Vaccinium myrtillus*), on olennainen osa pohjoisten ekosysteemien ravinnekiertoa ja sen on tutkittu vaikuttavan merkittävästi ekosysteemien tuottavuuteen (Uhlig & Junntila 2001; Mroz & Demczuk 2010). Näin ollen Harjavallan alueella runsaana metsäkasvina esiintyvä mustikka, saattaa olla tärkeä linkki raskasmetallien ylöspäin siirtymisessä alueen ravintoketjuissa (Uhlig & Junntila 2001; Parzych 2014).

Tutkimuksessani erityisesti arseenipitoisuuksien määrittäminen on olennaista, sillä useissa ilmansaasteisiin liittyvissä tutkimuksissa sitä ei ole mitattu lainkaan, vaikka arseeni on yksi metallinjalostusteollisuuden pahimpia saasteita. Nikkeli- ja kuparipitoisuudet selvitetään puolestaan sen takia, että alueella toimiva tehdaskompleksi tuottaa runsaasti kyseisiä raskasmetalleja. Muita tutkimuksessani huomioitavia raskasmetalleja, ovat mangaani, koboltti, lyijy, kadmium, sinkki, seleeni ja molybdeeni. Näistä osa, kuten sinkki ja seleeni, ovat myös kasveille ja eläimille tärkeitä hivenaineita (Appenroth 2010). Lisäksi kalsium haluttiin ottaa mukaan, sillä se korvautuu eliöiden aineenvaihdunnassa helposti raskasmetalleilla, jolloin hyönteisten toukkia ravintonaan käyttävillä linnuilla saattaa esiintyä moninaisia luuston rakenteeseen liittyviä ongelmia (Eeva ym. 1997, Eeva ym. 2005).

Tarkastelen Pro gradu -tutkielmassani mittaustuloksien perusteella, 1) nostavatko Harjavallan nikkeli- ja kuparisulaton päästöt raskasmetallipitoisuuksia mustikan lehdissä, marjoissa ja niitä ravintonaan käyttävillä toukilla. Oletukseni on, että metallien tuotantoon ja jalostukseen keskittyvän tehdaskompleksin lähiympäristöstä kerätyistä näytteistä mitatut raskasmetallien pitoisuudet ovat korkeampia kuin kauempaa kerätyistä näytteistä. Tätä kautta saadaan tarpeellista lisätietoa raskasmetallien, kuten arseenin, kuparin ja nikkelin pitoisuuksista Harjavallan ympäristössä.

Mustikan marjoista raskasmetallipitoisuudet selvitetään, sillä luonnonmarjoihin kuuluva mustikka on taloudellisesti yksi Suomen tärkeimmistä luonnontuotteista. Taloudellisen hyödyn ohella suomalaiset poimivat mustikoita omaan käyttöönsä enemmän kuin muita kotimaisia marjoja ja niitä myös syödään eniten (Mikkonen ym. 2007). Mustikkaa käytetäänkin sellaisenaan, erilaisissa ruokatuotteissa ja vaikkapa mustikanversosta tehtyjen yrttijuomien muodossa (Mikkonen ym. 2007, Peltola & Stark 2010). Näin ollen Harjavallan ympäristössä on perusteltua tehdä kattavampia raskasmetalliselvityksiä mustikan marjoilla, jotta voidaan selvittää, ylittävätkö raskasmetallipitoisuudet elintarvikkeille

määriteltyjä niin kutsuttuja akuutteja arvoja. Ihmiseen liittyvän näkökulman ohella marjat ovat mielenkiinnonkohteena myös siksi, että monet mustikalla elävät hyönteisten toukat käyttävät niitä ravintonaan (Atlegrim 1992). Mustikan lehdistä pitoisuuksia mitataan puolestaan erityisesti sen takia, että osa toukista on erikoistunut käyttämään ravintonaan juuri mustikan lehtiä (Atlegrim 1992). Selvittämällä mustikan marjojen ja lehtien sisältämät raskasmetallipitoisuudet, voidaan edelleen myös selvittää, kuinka paljon niitä ravintonaan käyttäviin toukkiin kertyy raskasmetalleja. Siten mustikan marjojen, lehtien ja toukkien sisältämällä raskasmetallipitoisuuksilla saattaa olla merkitystä myös alueen ravintoketjujen (marjat/lehdet → toukat → linnut) ja laajemmin jopa ekosysteemien toiminnan kannalta (Uhlig & Junttila 2001).

Yleisen raskasmetallipitoisuuksien tarkastelun ohella keskityn erityisesti arseeni-, lyijy-, kupari-, nikkeli- ja kadmiumpitoisuuksiin, sillä Harjavallan tehdaskompleksin päästöt koostuvat pääosin näistä raskasmetalleista (Tammiranta 2000; Kiiikkilä 2003). Siten etenkin edellä mainituilla raskasmetalleilla voidaan olettaa olevan haitallisia vaikutuksia eliöiden kannalta. Pro gradu -tutkielmassani tarkoituksena onkin selvittää mustikan lehdistä ja marjoista tehtävien mittausten perusteella, 2) kuinka paljon arseenia, lyijyä, kuparia, nikkeliä ja kadmiumia kertyy mustikan eri kasvinosiin ja onko kasvin eri osien (lehdet ja marjat) välillä vaihtelua. Oletuksena on, että lehdistä mitattavat pitoisuudet ovat korkeampia kuin marjoista mitatut.

Pro gradu -tutkielmassani lasken myös 3) yksinkertaiset lineaariset korrelaatiokertoimien arvot kokeessa mitatuille, arseeni-, lyijy-, kupari-, nikkeli-, ja kadmiumraskasmetallipareille erikseen lehdille, marjoille ja toukille. Tätä kautta on mahdollista tarkastella ja vertailla esimerkiksi lehtien ja marjojen välistä yhteyttä saaste- ja kontrolli-alueilla tietyn raskasmetalliparin suhteen. Oletuksena on, että lehtien, marjojen ja toukkien sisältämät raskasmetallipitoisuudet korreloivat toistensa kanssa. Käytännössä tämä tarkoittaa sitä, että mikäli lehdistä mitataan korkeita arseenin pitoisuuksia, niin tällöin myös marjoista ja toukista mitataan korkeita arseenipitoisuuksia.

Tutkimuksen kokeellisessa osassa tutkin, 4) vaikuttaako raskasmetalleille altistuminen mustikalla elävien tunturimittarin toukkien kasvunopeuteen. Oletuksena on, että raskasmetallialtistus hidastaa toukkien kasvua. Tällöin toukkien kasvu on hitaampaa lähellä tehdaskompleksia ja toisaalta nopeampaa kauempana tehdaskompleksista, minkä tulisi näkyä alueiden välisinä eroina toukkien painoissa. Kaiken kaikkiaan tutkimuksen myötä, voidaan edelleen selvittää, kuinka paljon niitä ravintonaan käyttäviin toukkiin kertyy raskasmetalleja.

2. Aineisto ja menetelmät

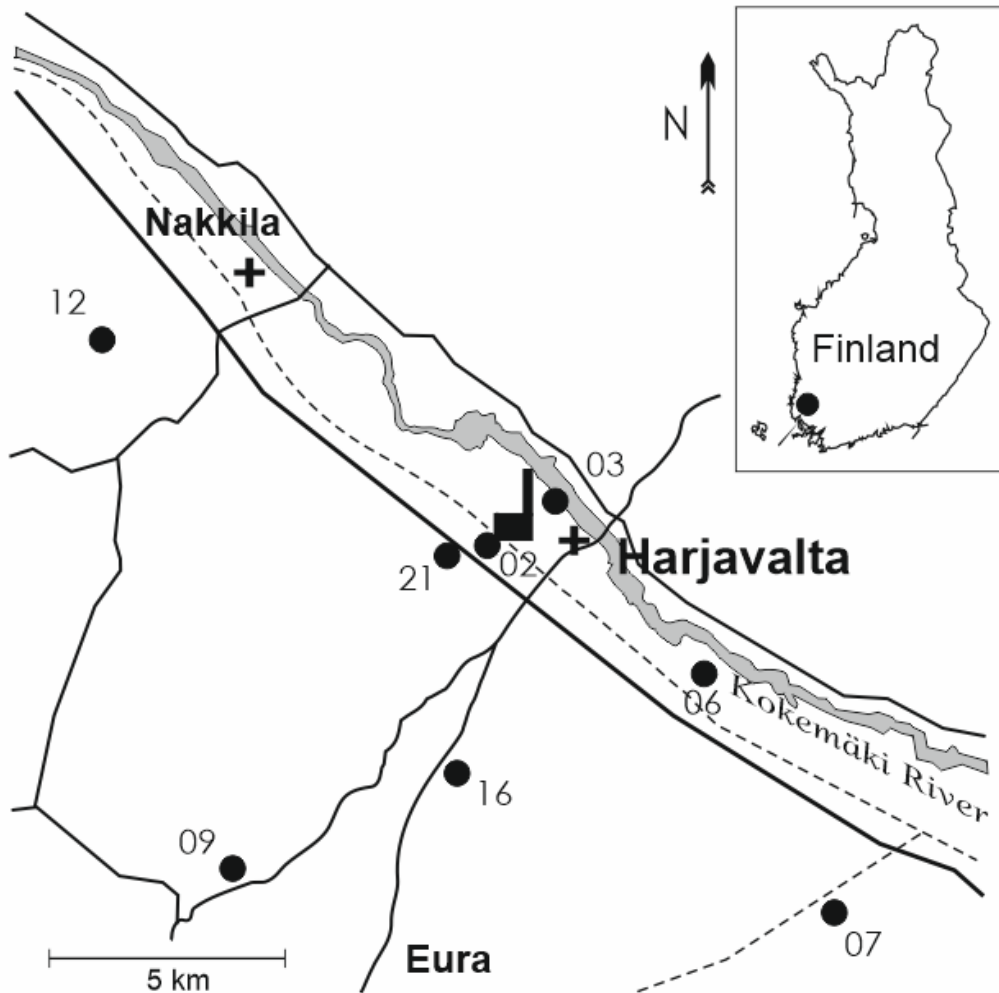
Pro gradu -tutkielmani tavoitteena oli selvittää, kuinka paljon raskasmetalleja kertyy mustikan marjoihin, lehtiin ja mustikalla eläviin toukkiin Harjavallan nikkeli- ja kuparisulaton ympäristössä. Lisäksi tutkimuksen kokeellisen osuuden tarkoituksena oli saada kokonaiskuva siitä, kuinka paljon raskasmetalleja kertyy mustikalla eläviin toukkiin niiden ravinnon kautta. Mustikan marjoista raskasmetallipitoisuudet selvitettiin kahdesta syystä: ensinnäkin mustikka on Suomen suosituin luonnonmarja ja toiseksi monet mustikalla elävät hyönteisten toukat käyttävät niitä ravintonaan. Mustikan lehdet olivat mielenkiinnon kohteena, sillä osa toukista on erikoistunut käyttämään ravintonaan niitä. Mustikalla elävien luonnontoukkien sijaan tutkimuksessa päädyttiin käyttämään muualta tuotuja siirtotoukkia. Mittaamalla raskasmetallipitoisuudet siirtotoukista, saatiin viitteitä toiseen tutkimukseen siitä että, kuinka paljon lintuihin voi kertyä raskasmetalleja maassa elävien ravintokohteiden kautta.

2.1 Tutkimusalue

Tutkimus tehtiin keväällä 2014 Satakunnassa, Harjavallan kunnan seudulla (61°20' P, 22°10' I), jonka keskiössä on Boliden Harjavalta Oy:n omistama kupari- ja nikkelisulatto. Kyseinen tehdaskompleksi ja siihen liittyvä metalliteollisuus tuottaa suurimman osan paikallisista ilman epäpuhtauksista, joista yleisimpiä ovat kupari, lyijy, nikkeli, arseeni, kadmium, sinkki ja rikkidioksidi (Jussila & Jormalainen 1991; Kiikkilä 2003). Tutkimusalueen metsän yleisin puulaji on mänty (*Pinus sylvestris*), joka muodostaa sekametsää kuusen (*Picea abies*) ja koivun (*Betula* spp.) kanssa. Kenttäkerroksen kasvillisuutta dominoivat varpukasveihin kuuluvat puolukka (*Vaccinium vitis-idaea*) ja mustikka (*V. myrtillus*). Saastuneimmilla alueilla, kasvillisuus on laikukasta ja huonosti kehittyntä (Salemaa & Vanha-Majamaa 1993; Kiikkilä 2003). Metsätyyppiluokituksen mukaan (Cajander 1949) Harjavallan ympäristön katsotaan pääosin kuuluvan kanerva- ja mustikkatyypin (Derome & Lindroos 1998).

Tutkimusalueelle on vuonna 1991 perustettu kahdeksan tutkimuspaikkaa, siten, että ne sijaitsevat kolmessa ilmansuunnassa (lounas, kaakko ja luode) ilmansaastegradientin suhteen. Lisäksi tutkimuspaikat on luokiteltu kahteen kategoriaan riippuen etäisyydestä tehdaskompleksiin: vyöhyke 1 eli saastunut alue (<2 km) ja vyöhyke 2 eli kontrollialue (5-11 km). Kukin tutkimuspaikka sisältää vähintään kaksi koealuetta. Siirtotoukilla tehtävää koetta varten tutkimusalueelta valittiin kaksi saastunutta aluetta (Koivula 21 ja Tehdas 02) ja kaksi kontrollialuetta (Panelia 09 ja Levonmäki 07).

Mustikan marja- ja lehtinäytteet puolestaan kerättiin kaikilta tutkimukseen mukaan valituilta tutkimuspaikoilta, jotka olivat Koivula 21, Tehdas 02, Jokivarsi 03, Palokangas 16, Panelia 09, Levonmäki 07, Kallioaro 12 ja Näyhälä 06 (Kuva 2).



Kuva 2. Harjavalan tutkimusalue, jonka keskiössä näkyy tehdaskompleksi sekä tutkimuspaikat numeroituina. Saastuneeseen alueeseen kuuluvat: Koivula 21, Tehdas 02 ja Jokivarsi 03. Kontrollialueeseen kuuluvat: Palokangas 16, Panelia 09, Levonmäki 07, Kallioaro 12 ja Näyhälä 06.

2.2 Tutkimuslajit

Käytin tutkimuslajeina mustikkaa (*Vaccinium myrtillus*) ja tunturimittarin (*Epirrita autumnata*) toukkia. Mustikka on kesävihanta ja monivuotinen puolukoiden sukuun (Ericaceae) kuuluva

tyypillinen kenttäkerroksen laji (Szmeja 1993; Demczuk & Garbiec 2009). Se on myös yleinen Suomen havumetsissä esiintyvä varpukasvi, jota tavataan havumetsien lisäksi Etelä-Suomessa runsaasti lehtomaisilla tuoreilla ja kuivahkoilla kankailla sekä Pohjois-Suomessa kuivillakin kankailla (Roininen & Morkkila 2007). Mustikan marjat ovat syötäviä (Mikkonen ym. 2007) ja ne vaihtelevat väriltään violetin ja mustan välillä (Ritchie 1995). Mustikka tuottaa marjoja usein heinäkuusta syyskuuhun asti (Demczuk & Garbiec 2009). Harjavallan alueella se on puolukan ohella toinen kenttäkerroksen kasvillisuutta dominoiva laji (Derome & Lindroos 1998). Siten se on tärkeä kasvilaji alueen ekosysteemin dynamiikan kannalta, johon se vaikuttaa muun muassa sekä maaperän ravinteiden että hiilen kierron kautta (Kandziora-Ciupa ym. 2017).

Toisena tutkimuslajina käytettävä tunturimittari on yleinen ja laajalle levinnyt mittariperhonen holarktisella alueella (Tamaru ym. 2001). Se esiintyy luonnollisesti myös Harjavallan saastuneilla alueilla, vaikkakin tunturimittarin toukkien tiheydet ja selviytyminen laskee lähestyttäessä päästölähdettä (Ruohomäki ym. 1996). Mittariperhosiin (Geometridae) kuuluvan tunturimittarin toukat otettiin mukaan tutkimukseen, sillä ne ovat generalisteja, jotka syövät koivun lehtien ohella monia muitakin kasveja, kuten muun muassa mustikan lehtiä (Seppänen 1970; Klemola ym. 2003). Lapin tutkimuslaitos Kevolla ja Turun yliopiston biologian laitoksella on vuosien saatossa tehty satoja tunturimittareiden kasvatuskokeita, joten pystyin hyödyntämään tätä kokemusta omassa tutkimuksessani.

2.3 Näytteiden esikäsittely ja keräys

Ennen varsinaista tutkimusta tein pienen tunturimittarin toukkien kasvatuskokeen, jossa kasvatin toukkia munista koteloitumiseen asti huoneenlämmössä, jotta oppisin tunnistamaan tunturimittarin eri kehitysvaiheet. Lisäksi kävin yliopistolla havainnoimassa toukkien kehitystä ja valmistelin Turun yliopiston tiloissa suurempia kasvatusrasioita, joissa kasvatimme Lapin tutkimuslaitos Kevolta tuoduista tunturimittarin munista toukkakehityksen ykkösvaiheen lopun ja kakkosvaiheen alun toukkia. Varsinaisten koetoukkien kasvatus tapahtui siten, että ensin jääkapissa säilytetyt tunturimittarien munat otettiin huoneenlämpöön ja odoteltiin toukkien kuoriutumista (noin 3-4 päivää). Kuoriutumisen jälkeen toukat siirrettiin varovasti sivellintä apuna käyttäen säilytyspurkeista muovirasioihin, joihin oli laitettu ruoaksi puhtaalta alueelta kerättyjä mustikan varpuja. Yhteen rasiaan laitettiin noin 100 toukkaa. Toukat ruokittiin kaksi kertaa ja säilytettiin +6° C lämpötilassa, jotta ne kasvaisivat hitaasti ja kasvua olisi helpompi seurata.

Toukokuun alkupuolella mustikat olivat alkaneet lehteytyä Harjavallan tutkimusalueella, jolloin oli sopiva aika siirtää toukat tutkimuspaikoille. Jokaista maastoon laitettavaa harsopussia kohden valmisteltiin purkki, johon laitettiin pala mustikan varpua, vihreää puutarhalankaa ja kolme toukkaa (Kuva 3). Valmisteltavia purkkeja oli 14 yhtä tutkimuspaikkaa kohden eli kaiken kaikkiaan tutkimusalueelle vietäviä purkkeja oli 56 kappaletta. Valmistellut purkit jätettiin yöksi huoneenlämpöön ja aseteltiin kehikkoon, jotta purkit pysyisivät paikoillaan automatkan ajan. 7.5.2014 toukat vietiin laboratoriosta maastoon Harjavallan tutkimusalueelle. Maastossa etsin tutkimuksessa mukana olleilta neljältä tutkimuspaikalta (Koivula 21, Tehdas 02, Panelia 09 ja Levonmäki 07) toukille sopivia mustikan varpuja, jotka olivat riittävän isoja ja alkaneet jo lehteytyä. Tosin saastuneimmilla alueilla varvut olivat pienempiä, ja lehtisilmut olivat vasta aukeamassa. Toukkien mukana siirretystä mustikan varvun palasta toukat saivat kuitenkin ensi alkuun ravintoa. Toukat siirrettiin purkeista uusille varvuille (yksi varpu/pussi) ja harsopussit (noin 40×30 cm) suljettiin molemmista päistä puutarhalangalla, jotta voitiin minimoida toukkien karkaaminen ja muiden eliöiden pääsy pussin sisälle.



Kuva 3. Laboratoriossa kasvatettuja tunturimittarin toukkia siirretään maastoon neljälle tutkimuspaikalle (14 harsopussia/paikka, 3 toukkaa/pussi).

Toukkien kehitystä käytiin seuraamassa muutamia kertoja toukokuun aikana. Kun toukat olivat silmämääräisen arvion perusteella viimeisessä eli viidennessä toukkavaiheessa ennen koteloitumista, harsopussilliset varvut leikattiin tyvestä irti ja kuljetettiin Turun yliopistolle 26.5.2014. Yliopistolla toukkien tuorepainot punnittiin saman päivän aikana ja niiden pituudet mitattiin viivoittimella, jonka jälkeen ne pakastettiin yksittäisissä Eppendorf-putkissa. Samoista harsopusseista, joista toukat kerättiin, otettiin myös lehtinäytteet, joiden tuorepainot punnittiin ja pakastettiin Minigrip-pusseissa. Näin ollen kerättyjä lehtinäytteitä oli yhtä paljon kuin toukkanäytteitäkin eli 56 kappaletta (4 tutkimuspaikkaa, joista kerättiin kustakin 14 näytettä).

Loppukesästä, tarkemmin 28.7.2014, kerättiin vielä raskasmetallianalyysiä varten mustikan marjoja ja lehtiä kahdeksalta eri tutkimuspaikalta (Koivula 21, Tehdas 02, Jokivarsi 03, Palokangas 16, Panelia 09, Levonmäki 07, Kallioaro 12 ja Näyhälä 06; Kuva 2). Kultakin tutkimuspaikalta kerättiin marjoja ja lehtiä viideltä eri mustikan varvulta, joten sekä marja- että lehtinäytteitä oli 40 kappaletta. Lehti- ja marjanäytteet otettiin aina samoista mustikan varvuista, jotta ne olisivat keskenään vertailukelpoisia. Kaikki näytteet säilöttiin omiin, suljettuihin, Minigrip-pusseihin ja niiden tuorepainot punnittiin paluumatkan jälkeen Turun yliopistolla.

2.4 Raskasmetallinäytteet ja -analyysit

Kun viimeisetkin näytteet oli kerätty tutkimusta varten ja tuotu Turun yliopiston tiloihin, otettiin 29.7.2014 myös aiemmin pakastetut toukat ja lehdet pois pakastimesta. Kaikki toukka-, lehti- ja marjanäytteet kuivatettiin lämpökaapissa $+40^{\circ}$ C lämpötilassa, jonka jälkeen niiden kuivapainot mitattiin. Kuivaamisen jälkeen yksittäiset toukat yhdistettiin siten, että samassa harsopussissa olleet toukat olivat yhdessä Eppendorf-putkessa ja muodostivat siten aina yhden toukkanäytteen. Lopuksi kaikki toukka-, lehti- ja marjanäytteet jauhettiin hienoksi micro pestle -tikuilla ja niiden keskimääräiset jauhettujen näytteiden kuivapainot (\pm keskihajonta) olivat 77 ± 22 mg toukille, 1635 ± 78 mg lehdille ja 1336 ± 102 mg marjoille. Tämän jälkeen yhteensä 72 käsiteltyä toukka- ($n = 24$), lehti- ($n = 24$) ja marjanäytettä ($n = 24$) lähetettiin Åbo Akademiin vielä jatkokäsittelyä ja raskasmetallianalyseja varten.

Åbo Akademiassa kaikkien näytteiden joukkoon lisättiin 2 millilitraa typpihappoa (HNO_3) ja 0,5 millilitraa puhdasta vettä ja ne laitettiin edelleen liuottamista varten mikrouunisysteemiin (Milestone High Performance Microwave Digestion Unit mls 1200 mega). Liuottamisen jälkeen näytteet laimennettiin vielä 50 millilitraan de-ionisoidulla vedellä. Alkuaineiden pitoisuudet (As, Ca, Cd, Co,

Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Zn) määritettiin ICP-MS-mittauslaitteella (Elan 6100 DRC, PerkinElmer-Sciex, Boston, USA). Mittauslaitteen kalibrointi tehtiin Spex Certiprepin sertifioidulla liuoksella (Claritas PPT, Multi element solution 2A). Suurimmalla osalla metalleista niiden pienin havaitsemisraja oli noin 1 ng/l. Referenssimateriaalina käytettiin sertifioitua simpukan kudosta (ERMCE278K-8G). Keskimääräiset saannot (\pm keskivirhe) kahdeksassa referenssinäytteessä olivat: As $96 \pm 0.6\%$, Ca $98 \pm 5.6\%$, Cd $91 \pm 0.6\%$, Co $101 \pm 0.5\%$, Cu $100 \pm 0.7\%$, Mn $98 \pm 1.2\%$, Ni $120 \pm 0.9\%$, Pb $95 \pm 1.1\%$, Se $151 \pm 9.3\%$ ja Zn $87 \pm 0.6\%$. Alkuaineiden pitoisuudet ilmoitetaan muodossa $\mu\text{g/g}$ näytteiden mitatuista kuivapainoista.

2.5 Tilastolliset analyysit

Tein tilastolliset analyysit SAS tilasto-ohjelmalla. Tilastollista tarkastelua varten otin raskasmetallipitoisuuksista ensin kymmenkantaiset logaritmit, jotta niiden jakaumat olisivat normaalijakautuneita. Tämän jälkeen testasin vielä normalisuudet SAS:in UNIVARIATE proseduurilla.

1. Parametrisen kahden riippumattoman otoksen t-testin tein saaste- ja kontrollialueille, erikseen lehtien, toukkien ja marjojen raskasmetallipitoisuuksille, jotta oli mahdollista tarkastella, nostavatko Harjavallan sulaton päästöt tutkimuksessa mukana olleiden raskasmetallien ja muiden alkuaineiden pitoisuuksia.

2. Kasvin eri osien (lehdet ja marjat) raskasmetallipitoisuuksien vaihtelun havainnoimiseksi tein puolestaan parittaisen t-testin, sillä otokset riippuvat toisistaan, kun vertaillaan samasta mustikan varvusta otettuja pitoisuuksia toisiinsa.

3. Sulaton pääasiallisille saastukkeille (arseeni, lyijy, kupari, nikkeli ja kadmium) laskin Pearsonin korrelaatiokertoimien arvot jokaiselle kokeessa mitatulle raskasmetalliparille erikseen lehdille, marjoille ja toukille. Näin pystyn tarkastelemaan ja vertailemaan, onko korrelaatiota esimerkiksi lehtien ja marjojen välillä saaste- ja kontrollialueilla tietyn raskasmetalliparin suhteen.

4. Toukkien kasvun tarkastelemiseksi laskin ensin lehtien vesipitoisuuden, sillä lehden laadulliset muutokset ovat olennaisia tunturimittarin toukkien kasvun kannalta (Haukioja 2003). Alueiden välisiä eroja toukkien kasvussa tarkasteltiin lineaarisella sekamallilla (LMM) (Littell 2006), jossa selitettävänä vastemuuttujana oli toukkien tuorepaino ja selittävinä kiinteinä tekijöinä

saastumisvyöhyke, tutkimusalue pesitettyinä vyöhykkeen sisään ja lehtien vesipitoisuusprosentti. Laitoin harsopussin malliin satunnaistekijäksi, koska yksittäiset toukat, jotka olivat kasvaneet saman pussin sisällä samalla varvulla eivät ole itsenäisiä toistoja. Mallin vapausasteet laskin Kenward-Rogerin menetelmällä. Testasin mallin jäännösvaihtelun normaalisuuden UNIVARIATE proseduurilla. Tuloksissa esitän mallista estimoidut ns. pienimmän neliösumman keskiarvot 95% luottamusväleineen.

3. Tulokset

Useimpien metallien pitoisuudet mustikan lehdissä, marjoissa ja toukissa olivat tilastollisesti merkitsevästi korkeampia saastuneella alueella kuin kontrollialueella (T-testin p-arvo on pienempi kuin 0,05) (Taulukko 1). Kuitenkaan tilastollisesti merkitsevää eroa alueiden välillä ei löytynyt, kun tarkastelin kalsiumin, mangaanin, kadmiumin ja sinkin pitoisuuksia lehdissä sekä vastaavasti kuparin ja molybdeenin pitoisuuksia marjoissa. Toukkien metallipitoisuuksia tarkasteltaessa vain sinkin kohdalla en havainnut tilastollisesti merkitsevää eroa alueiden välillä (Taulukko 1).

Taulukosta 1 voidaan havaita myös, että pääsääntöisesti raskasmetallien pitoisuudet ovat kaikkein korkeimmat lehdissä. Marjoja ja lehtiä vertaillen ainoastaan molybdeenin määrä on pienempi lehdissä kuin marjoissa kontrollialueella. Lehtien raskasmetallipitoisuuksia tarkastellessa voidaan puolestaan huomata, että kuparin, sinkin, ja molybdeenin pitoisuudet ovat puolestaan alhaisempia lehdissä kuin toukissa kontrollialueella. Lisäksi saastuneella alueella sinkin ja seleenin pitoisuudet ovat toukista mitattuja pitoisuuksia alhaisemmat.

Taulukko 1. Raskasmetallien pitoisuudet ($\mu\text{g/g}$, kuivapainoa kohti) mustikan lehdissä (saastunut + kontrolli: $n = 12 + 12$), marjoissa ($n = 12 + 12$) ja tunturimittarin toukissa ($n = 12 + 12$) logaritmiselta asteikolta takaisinmuunnetuin arvoin (keskiarvo, 95 % luottamusvälin päätepiisteet, minimi ja maksimi) saastuneen ja kontrollialueen tutkimuspaikoilla. T-testin arvojen vapausasteiden vaihtelu johtuu siitä, ovatko ryhmien varianssit todettu erisuuriksi vai ei. Tummennettuna näkyvät tilastollisesti merkitsevät t-testin p-arvot, joiden kohdalla on punaisella korostettuna korkeampi ja sinisellä alhaisempi metallipitoisuus alueittain.

Alkuaine	Kontrolli				Saastunut				t-testi	p-arvo	
	keskiarvo	95% luottamusväli	maksimi	minimi	keskiarvo	95% luottamusväli	maksimi	minimi			
L e h d e t	Ca	6872	4809-9819	12888	2551	7222	5054-10320	13034	4285	0,34 _{20,9}	0,73
	Mn	654	266-1605	2952	50,5	414	169-1017	1656	124	-1,04 _{18,3}	0,31
	Co	0,074	0,050-0,11	0,14	0,04	0,30	0,21-0,45	1,43	0,06	4,37 _{22,0}	0,0006
	As	0,14	0,11-0,18	0,44	0,07	1,02	0,79-1,29	3,86	0,17	5,21 _{17,8}	<0,0001
	Pb	0,19	0,11-0,35	0,76	0,09	0,85	0,48-1,52	5,07	0,18	3,65 _{22,0}	0,0014
	Ni	3,40	2,28-5,06	12,82	1,17	12,92	8,67-19	30,2	2,15	4,05 _{19,9}	0,0005
	Cu	6,12	3,84-9,76	13,36	3,64	20,64	13,0-32,9	82,2	5,82	3,97 _{22,0}	0,0013
	Cd	0,056	0,023-0,14	0,86	0,01	0,12	0,050-0,29	1,18	0,03	1,43 _{14,8}	0,17
	Zn	16,5	10,7-25,6	47,6	9,48	15,6	10,0-24,2	56,2	7,58	-0,23 _{21,4}	0,82
	Se	0,084	0,055-0,13	0,13	0,05	0,19	0,13-0,30	1,52	0,04	2,36 _{22,0}	0,036
Mo	0,076	0,045-0,13	0,20	0,03	0,27	0,16-0,45	1,52	0,09	3,60 _{17,7}	0,0016	
M a r j a t	Ca	765	514-1137	1315	371	939,18	632-1396	2256	655	1,47 _{21,8}	0,15
	Mn	102	55,8-185	413	13,8	69,5	38,1-126	166	29,3	-1,11 _{17,3}	0,28
	Co	0,012	0,0074-0,019	0,02	0,01	0,044	0,027-0,069	0,10	0,01	5,01 _{19,9}	0,0001
	As	0,020	0,013-0,031	0,08	0,01	0,15	0,095-0,23	0,41	0,02	4,85 _{19,9}	<0,0001
	Pb	0,027	0,018-0,042	0,05	0,02	0,07	0,044-0,10	0,23	0,02	3,38 _{22,0}	0,0047
	Ni	1,67	1,19-2,35	3,51	0,94	3,66	2,60-5,16	8,77	0,84	3,11 _{17,3}	0,0051
	Cu	5,38	4,31-6,72	9,06	4,29	6,64	5,31-8,29	9,09	4,23	2,13 _{21,7}	0,44
	Cd	0,025	0,0086-0,072	0,17	0,01	0,052	0,018-0,15	0,60	0,01	1,58 _{21,9}	0,13
	Zn	10,2	7,24-14,4	17,2	6,44	9,46	6,71-13,3	27,1	7,09	-0,53 _{21,8}	0,60
	Se	0,024	0,016-0,037	0,04	0,01	0,052	0,034-0,078	0,25	0,02	2,96 _{22,0}	0,0096
Mo	0,13	0,056-0,29	0,48	0,03	0,095	0,041-0,22	0,36	0,03	-0,81 _{21,8}	0,43	
T o u k a t	Ca	917	803-1047	1466	706	758	664-866	861	603	-2,98 _{16,8}	0,0084
	Mn	135	100-180	333	77,8	63,8	47,6-85,6	100	24,3	-4,23 _{20,9}	0,0003
	Co	0,011	0,0080-0,015	0,03	0,01	0,039	0,028-0,054	0,09	0,02	6,05 _{21,3}	<0,0001
	As	0,039	0,029-0,052	0,09	0,02	0,48	0,36-0,64	0,63	0,30	17,52 _{17,3}	<0,0001
	Pb	0,079	0,059-0,11	0,16	0,05	0,20	0,15-0,27	0,64	0,13	5,86 _{20,7}	<0,0001
	Ni	0,37	0,25-0,56	0,84	0,24	0,99	0,66-1,49	2,71	0,40	4,38 _{22,0}	0,0005
	Cu	8,81	7,05-11,0	11,4	6,44	12,1	9,65-15,1	33,6	8,92	2,73 _{16,4}	0,014
	Cd	0,0081	0,0055-0,012	0,02	0,00	0,026	0,018-0,039	0,06	0,01	6,04 _{20,2}	<0,001
	Zn	59,1	53,8-64,9	74,5	47,7	61,7	56,2-67,8	69,3	50,2	0,91 _{18,3}	0,37
	Se	0,074	0,056-0,098	0,15	0,04	0,23	0,17-0,30	0,32	0,11	8,17 _{20,9}	<0,0001
Mo	0,24	0,15-0,36	0,61	0,06	0,15	0,10-0,23	0,25	0,10	-2,24 _{15,5}	0,0401	

Toukkien ja marjojen raskasmetallipitoisuuksissa voidaan puolestaan havaita enemmän vaihtelua, eikä voida selkeästi sanoa, että toukissa on alhaisemmat tai korkeammat pitoisuudet raskasmetallien suhteen (Taulukko 1). Esimerkiksi kalsiumin, mangaanin, arseenin, lyijyn, sinkin ja molybdeenin

pitoisuudet toukissa ovat korkeampia kuin lehdissä kontrollialueella, mutta toisaalta muiden raskasmetallien pitoisuudet ovat alhaisempia. Saastuneella alueella puolestaan arseenin, lyijyn, kuparin, sinkin, seleenin ja molybdeenin pitoisuudet ovat korkeampia toukissa kuin marjoissa ja loput tarkastelussa olleet ovat taas alhaisempia. Vesipitoisuudet (keskiarvo \pm keskihajonta) tutkimuksessa olivat $59.3 \pm 8.4\%$ (n = 40) lehdille, $83.4 \pm 3.2\%$ marjoille (n = 40) ja $69.8 \pm 4.6\%$ toukille (n = 84).

Taulukko 2. Parittainen t-testi raskasmetallipitoisuuksista ($\mu\text{g/g}$, kuivapainoa kohti) samasta mustikan varvusta otetuille lehdille (n = 24) ja marjoille (n = 24). Tummennettuna näkyvät tilastollisesti merkitsevät t-testin p-arvot.

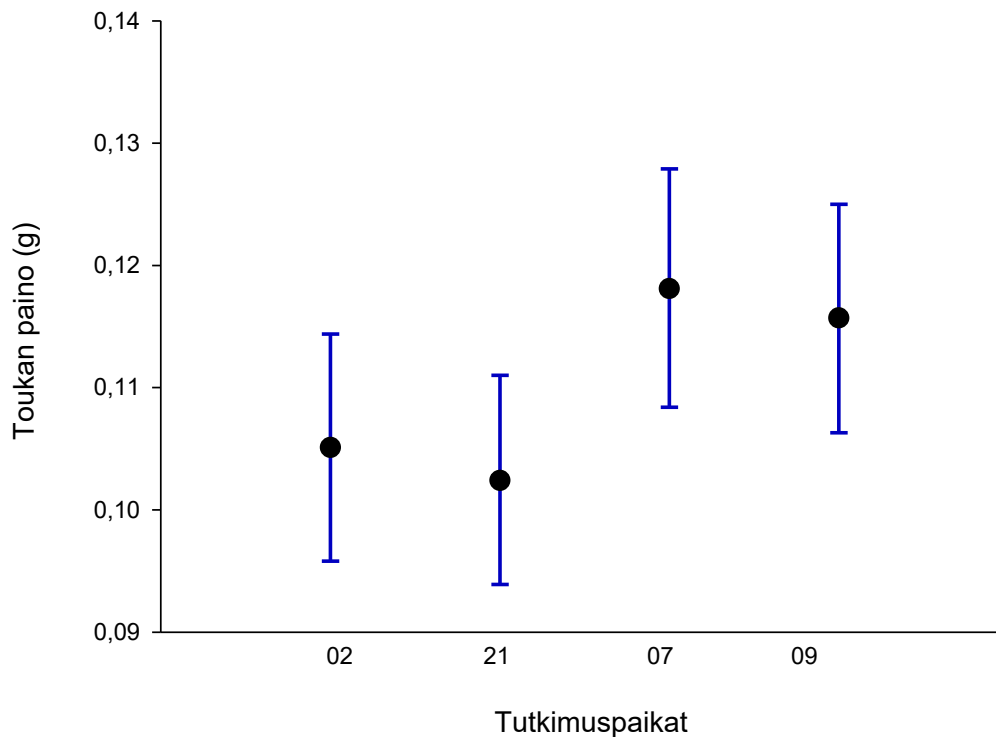
Raskasmetalli	Erotuksen (lehti-marja) keskiarvo \pm 95% luottamusväli	Parittainen t-testi	p-arvo
As	0,77 \pm 0,48	19,97	<0.0001
Pb	0,88 \pm 0,62	15,29	<0.0001
Ni	7,54 \pm 3,59	9,17	<0.0001
Cu	12,82 \pm 9,99	3,78	0.0010
Cd	0,12 \pm 0,085	8,1	<0.0001

Mustikan eri osien, eli lehtien ja marjojen, välillä voidaan selkeästi havaita tilastollisesti merkitsevät erot (lehdet > marjat; $p < 0,05$) kunkin tarkastellun raskasmetallin suhteen, jotka ovat arseeni, lyijy, nikkeli, kupari ja kadmium (Taulukko 2).

Lehtien ja marjojen väliset korrelaatiot olivat selvästi positiivisia tutkituille raskasmetalleille: arseeni $r = 0,94$, lyijy $r = 0,83$, nikkeli $r = 0,88$, kupari $r = 0,64$ ja kadmium $r = 0,93$ (kaikki p-arvot $< 0,001$, n = 24 mustikanvarpua). Lehtien ja toukkien sekä marjojen ja toukkien välillä ei havaittu korrelaatiota ($p > 0,05$).

Toukkien kasvua (eli tuorepainoa kasvatuskokeen lopussa) selitin saastumisvyöhykkeellä, vyöhykkeen sisälle pesitetyllä tutkimusalueella ja lehtien vesipitoisuudella. Lehtien vesipitoisuus ei selittänyt toukkien kasvua ($F_{1, 31} = 0,00$, $p = 0,99$). Vyöhyke selittää toukkien kasvua, sillä saastuneiden alueiden ja kontrollialueiden välinen ero on tilastollisesti merkitsevä ($F_{1, 38} = 8,40$, $p = 0,0062$). Saastuneilla alueilla toukkien kasvu oli vähäisempää (Kuva 4). Tutkimusalueiden erot vyöhykkeen sisällä eivät olleet merkitseviä ($F_{2,37} = 0,15$, $p = 0,86$), koska toukkien kasvun erot

saastuneen alueen sisällä (df = 37,12, t-testisuure = 0,41 ja p-arvo = 0,68) ja toisaalta kontrollialueen sisällä (df = 36,67, t-testisuure = 0,37 ja p-arvo = 0,71) eivät eronneet (Kuva 4). Siten voidaan sanoa, että eri tutkimusalueen tutkimuspaikat itsessään eivät selitä toukkien kasvua, vaan sitä selittää itse saastumisvyöhyke.



Kuva 4. Toukkien painot (g) ja 95 %:n luottamusvälit saastuneen alueen (02, 21) ja kontrollialueen (07, 09) tutkimuspaikoilla.

4. Pohdinta

Erilaisten metallien määrän säätely on pääsääntöisesti hyvin tarkkaa kasveilla ja säätelyä tehdään monin tavoin ja eri tasoilla. Kuitenkaan tämä metallien säätely ei ole täydellistä, joten kasvien täytyy selviytyä myös ei-toivottujen alkuaineiden, kuten raskasmetallien kertymisestä niihin (Clemens ym. 2002). Varpukasvit ovat yleisesti ottaen suhteellisen resistenttejä raskasmetalleille, sillä niillä on erilaisia mekanismeja, joilla raskasmetallien ottoa solujen sisälle voidaan estää (Salemaa ym. 1999; Uhlig & Junntila 2001; Hall 2002; Kandziora-Ciupa ym. 2017). Kuitenkin varpukasvien juurten ravinnonotto keskittyy lähinnä ylempiin maaperän kerrostumiin, joissa ilmakehästä peräisin olevien metallien akkumulaatio eli kertyminen käytännössä tapahtuu (Derome & Lindroos 1998; Salemaa

ym. 2001; Ettler 2016). Tämän takia, erilaisista varpukasveille tyypillisistä mekanismeista huolimatta, osa raskasmetalleista pääsee nimenomaan maaperässä olevien juurien kautta kasvin solujen sisälle (Marschner 1995). Tällaisessa tilanteessa voidaan puhua sisäisestä raskasmetallialtistuksesta, jossa juurien sisään ottamien ravinteiden mukana myös raskasmetallit siirtyvät edelleen varpukasvien muihin osiin, kuten varteen, lehtiin ja marjoihin (Barcan ym. 1998; Uhlig & Junttila 2001; Zverera & Kozlov 2005; Parzych 2014). Tärkeää on kuitenkin huomioida, että vain osa juuristoon päässeistä raskasmetalleista päätyy sen kautta edelleen muihin kasvin osiin (Clemens ym. 2002). Lisäksi sisäisen altistuksen ohella osa varpukasvien raskasmetallialtistuksesta tulee ulkoisesti, suoraan ilmasta.

Tutkimuslajina käytetty mustikka ei ole raskasmetallien suhteen poikkeus muiden varpukasvien joukossa. Nimittäin myös mustikalla on suhteellisen korkea resistanssi erilaisille saasteille sekä erilaisia lajispesifisiä mekanismeja, jotka vaikuttavat raskasmetallien kertymiseen (Uhlig & Junttila 2001; Salemaa & Monni 2003; Bialonska ym. 2007; Mroz & Demczuk 2010; Parzych 2014). Nämä erilaiset tekijät eivät kuitenkaan tarkoita sitä, ettei mustikkaan voisi kertyä raskasmetalleja tai, että siitä mitatut raskasmetallien pitoisuudet olisivat alhaisia. Lisäksi mustikalla on kyky selvitä kaikkein saastuneimmillakin alueilla (Zvereran & Kozlov 2005) ja se kestää hyvin myös pitkäaikaista altistumista raskasmetalleille (Salemaa ym. 2001; Uhlig & Junttila 2001). Näin ollen mustikasta mitattavat raskasmetallien pitoisuudet saattavat olla hyvinkin korkeita sekä päästölähteiden lähiympäristössä että sellaisilla alueilla, jotka ovat aiemmin olleet pitkän aikaa raskasmetallien saastuttamia.

Näyttääkin siltä, että tutkimukseni tulokset tukevat aikaisempien varpukasveihin ja edelleen mustikkaan sekä raskasmetalleihin liittyvien tutkimusten tuloksia. Tutkimuksessani mielenkiinnonkohteena olleet mustikan lehdet ilmentävät erityisen hyvin raskasmetallipitoisuuksia, sillä lehdistä mitattujen raskasmetallien pitoisuudet olivat suhteellisen korkeita (Taulukko 1). Lisäksi tulosten mukaan pitoisuudet olivat suurempia saastuneilla alueilla kuin kontrollialueilla (Taulukko 1). Siten mustikan lehdistä mitatut pitoisuudet tukivat sekä Zvereran ja Kozlovin (2005) että Uhligin ja Junttilan (2001) tekemien tutkimusten tuloksia, joissa päästölähteiden lähellä olevista mustikan lehdistä mitattiin kaikkein suurimmat raskasmetallien pitoisuudet. Lisäksi myös Kandziora-Ciupa ym. (2017) totesivat mustikan lehdillä tehdyssä tutkimuksessa, että raskasmetallien pitoisuudet lehdissä vähenivät etäisyyden kasvaessa varsinaisesta päästölähteestä. Tämä on myös havaittavissa tutkimuksessani, sillä saastuneet alueet sijaitsivat lähempänä Boliden Harjavalta Oy:n tehdaskompleksia kuin kontrollialueet ja niin ikään saastuneilta alueilta mitatut raskasmetallien

pitoisuudet olivat yleisesti ottaen suurempia kuin kontrollialueilta mitatut. Oletettavasti mustikan lehtiä voidaan käyttää myös hyvänä raskasmetalli-indikaattorina, koska niiden avulla pystyttiin kertomaan muun muassa raskasmetallisaasteiden esiintymisestä ja määrästä sekä Harjavallan alueen nykytilasta.

Myös mustikan marjat ilmaisevat lehtien ohella raskasmetallisaastumisen vyöhykkeisyyttä Harjavallan alueella (Taulukko 1) ja kuvaavat siten hyvin eri alueiden välisiä eroja raskasmetallipitoisuuksissa. Tämä sopii myös aiempaan tietoon, sillä esimerkiksi Demczukin ja Garbiecin (2009) tutkimuksessa saatiin selville, että kupari- ja alumiinisulattojen läheisissä metsissä kasvaneissa mustikan marjoissa olivat korkeammat raskasmetallipitoisuudet kuin kauempana vertailun kohteina olleissa metsissä kasvaneissa mustikan marjoissa. Mustikan marjoista mitatut raskasmetallien pitoisuudet ovat kuitenkin kauttaaltaan pienempiä kuin lehdistä mitatut pitoisuudet (Taulukko 1). Näin ollen mustikan marjat eivät ilmennä yhtä hyvin ympäristönsä raskasmetalleja kuin lehdet, joten niiden voidaan sanoa olevan melko huonoja indikaattoreita raskasmetalleille verrattuna lehtiin. Myös Tuomisen (1997) mukaan marjat ovat melko huonoja indikaattoreita raskasmetalleille, sillä niihin kertyy niitä hitaasti ja vähän. Kuitenkin mustikan marjoihin voi kertyä raskasmetalleja, mikäli marjat kasvavat sellaisilla alueilla, jotka ovat pitkään olleet raskasmetallien saastuttamia (Tuominen 1997). Tällainen tilanne onkin juuri tutkimusalueeseeni kuuluvan Harjavallan nikkeli- ja kuparisulaton ympäristössä. Tutkimuksessani lehtiä ja marjoja ei pesty, joten saadut tulokset ilmentävät suoraan sekä raskasmetallien sisäistä että ulkoista kuormitusta Harjavallan ympäristössä.

4.1 Mustikkakasvin eri osat

Havaitsin tilastollisesti merkitseviä eroja mustikan lehti- ja marjanäytteiden sisältämissä raskasmetallipitoisuuksissa (Taulukko 2). Lehdistä mitattiin korkeammat arseenin, nikkelin, lyijyn, kadmiumin ja kuparin pitoisuudet kuin marjoista. Lehdistä mitattuja korkeampia raskasmetallipitoisuuksia voidaan selittää monien eri tekijöiden avulla.

Esimerkiksi Tuominen (1997) havaitsi tutkimuksessaan, että mustikan lehtiin yleisesti ottaen kertyy metalleja herkemmin kuin marjoihin, mikä johtuu niiden fysiologisista ja ekologisista erityispiirteistä. Barcanin ym. (1998) tutkimuksessa puolestaan havaittiin, että mustikalla raskasmetallit kulkeutuvat välillisesti ravinteiden mukana maaperästä mustikan juuriin ja edelleen sieltä lehtiin ja marjoihin, mutta marjoihin ei kerääny yhtä herkästi muusta ympäristöstä suoraan raskasmetalleja kuin lehtiin. Tämä johtuu siitä, että mustikan marjat ovat lehtiä paljon paremmin suojauneita ulkoisilta

vaikutuksilta (Barcan ym. 1998) eli toisin sanoen lehdet ovat herkempiä ulkoiselle raskasmetallialtistumiselle kuin marjat. Lisäksi raskasmetallien ulkoinen kuormitus saattaa johtaa edelleen esimerkiksi lehtien pinnan rikkoutumiseen (Barcan ym. 1998), sillä lehtisolukko on yhteyttävänä rakenteena huokoista ja siinä on ilmarakoja, jolloin raskasmetallihiukkaset saattavat kiinnittyä lehtiin helpommin kuin marjoihin. Tällöin metallit pääsevät entistä helpommin solujen sisälle.

Ulkoisen ja sisäisen raskasmetallialtistumisen ohella toinen hyvin todennäköinen selitys lehdistä mitattuihin korkeampiin raskasmetallien pitoisuuksiin liittyy ajalliseen tarkasteluun. Esimerkiksi Wojtun ym. (2017) totesivat tutkimuksessaan, että mustikasta mitatut raskasmetallien pitoisuudet olivat kaikkein korkeimmat kasvukauden lopulla, joten ajallinen tarkastelu on oleellista havaittujen pitoisuuksien kannalta. Nimittäin, lehtiin raskasmetalleja ehtii kertyä aina niiden lehteytyemisestä (noin toukokuun alusta) talven tuloon saakka, sillä mustikka on kesävihanta. Sen sijaan mustikka tuottaa marjoja yleensä vain muutaman kuukauden ajan (noin heinä-syyskuu) (Demczuk & Garbiec 2009), joskin vuosittaisia ja alueellisia eroja esiintyy Suomessakin (esimerkiksi Etelä- vs. Pohjois-Suomi) (Peltola & Stark 2010; Metsäntutkimuslaitos 2014). Lisäksi tutkimuksen lehti- ja marjanäytteet kerättiin jo heinäkuun lopulla, mikä on entisestään lyhentänyt aikaa, jolloin raskasmetalleja on voinut edes kertyä niihin. Näin ollen ajallista tarkastelua ajatellen, ei liene yllättävää, että marjoista mitatut raskasmetallien pitoisuudet ovat pienempiä kuin lehdistä mitatut.

Mielenkiintoista olisi myös selvittää muita mahdollisia tekijöitä, jotka voivat selittää havaintoja. Mahdollista on ainakin, että marjojen korkea vesipitoisuus on yksi selittävä tekijä, sillä raskasmetallit mitattiin kuivapainoa kohden. Tällöin sama raskasmetallipitoisuus tuoreessa näytteessä antaa eri tuloksen kuivapainoa kohti, kun vesipitoisuus on eri ja se voi näkyä alhaisempina raskasmetallipitoisuuksina marjojen kohdalla (Eeva ym. 2018). Tämä voi entisestään nostaa raskasmetallipitoisuuksia lehdistä ja selittää havaittuja eroja mustikan eri osissa. Lisäksi tässä yhteydessä on hyvä ottaa jälleen huomioon, että näytteitä ei pesty, joten tulokset kuvastavat sekä raskasmetallien ulkoista että sisäistä kuormitusta. Kaiken kaikkiaan muun muassa edellä mainitut tekijät selittävät eroja mustikan eri kasvin osista mitatuista raskasmetallien pitoisuuksista ja vastaavat kysymykseen, miksi lehdistä mitattiin korkeampia pitoisuuksia kuin marjoista.

Raskasmetallien pitoisuudet olisivat todennäköisesti olleet vielä suurempia, mikäli ne olisi mitattu mustikan varsista, sillä monivuotisena kasvina, varsiin ehtii kertyä raskasmetalleja vuoden ympäri (Szmeja 1993; Demczuk & Garbiec 2009). Lisäksi mustikan monivuotisten varsien on tutkittu

rikastavan metalleja vielä tehokkaammin kuin lehtien (Aulio & Ojala 1983) eli toisin sanoen varsiin kertyy haitallisia aineita muusta ympäristöstä vielä herkemmin. Kozanecka ym. (2002) ja Parzych (2014) havaitsivat niin ikään tutkimuksissaan, että erityisesti sinkkiä kertyy enemmän mustikan varsiin kuin lehtiin.

4.2 Harjavallan kupari- ja nikkelisulaton pääasialliset raskasmetallisaasteet

Havaitsin tehdaskompleksin raskasmetallisaasteiden pitoisuuksien vähenevän seuraavassa järjestyksessä $Cu > Ni > As > Pb > Cd$ tarkastelun kohteena olleissa mustikan lehdissä, marjoissa ja toukissa Harjavallan kupari- ja nikkelisulaton lähiympäristössä. Kuparin ja nikkelin korkeat pitoisuudet johtuvat siitä, että Boliden Harjavalta Oy on keskittynyt erityisesti näiden metallien tuotantoon ja jalostamiseen ja siten tehdaskompleksin ilmansaasteista suuri osa on kuparia ja nikkeliä (Kiikkilä 2003). Tehdaskompleksin tuottamat kuparin ja nikkelin ilmansaasteet nostavat luonnollisesti myös näiden raskasmetallisaasteiden pitoisuuksia tehdaskompleksin lähiympäristössä (Jussila & Jormalainen 1991; Kiikkilä 2003), mikä on nähtävissä tutkimukseni tuloksissakin (Taulukko 1). Lisäksi kupariin ja nikkeliin liittyvä metalliteollisuus tuottaa kupari- ja nikkeli-päästöjen ohella myös muita raskasmetallipäästöjä. Näihin kuuluvat merkittävässä määrin ainakin arseeni, lyijy ja kadmium (Paranko 2005), mikä taas selittää niiden korkeita mitattuja pitoisuuksia tehdaskompleksin lähiympäristössä (Taulukko 1).

Harjavallan kupari- ja nikkelisulaton pääasiallisista raskasmetallisaasteista etenkin kuparin kertyminen kertoo usein voimakkaasta ympäristön saastumisesta, sillä sitä kasvit tarvitsevat vain hyvin pieniä määriä (Marschner 1995; Barcan ym 1998). Kuparin ohella myös nikkeli kuuluu kasveille tärkeisiin hivenaineisiin (Marschner 1995), joskin se ei yhtä myrkyllistä. Kuitenkin sen korkeat pitoisuudet kasvillisuudessa poikkeavat luontaisesta määrästä, sillä kasvit yleisesti ottaen pystyvät rajoittamaan sen ottoa ja siten estämään mahdollisia haitallisia seurauksia (Hall 2002). Arseenin puolestaan on tutkittu kulkeutuvan ympäristöön lähinnä veden mukana (Barcan ym. 1998), mutta sitä kulkeutuu ympäristöön myös erityisesti kupari-, tina- ja kultakaivosteollisuuden tuottamien päästöjen mukana (Paranko 2005). Tutkimuksessani kyse on Harjavallan kupari- ja nikkelisulaton toiminnan vaikutuksesta ilmaan päätyneistä arseenipäästöistä, sillä arseeni kuuluu tehdaskompleksin muihin pääasiallisiin saastukkeisiin lyijyn ja kadmiumin ohella (Kiikkilä 2003). Lyijy puolestaan on kaikkein yleisin ympäristössä esiintyvä myrkyllinen raskasmetalli, jota löydetään sekä elottomasta että elollisesta luonnosta (Barcan ym. 1998). Lyijyn korkeita pitoisuuksia Harjavallan alueella selittää lähinnä ihmisen toiminta, eikä luonnolliset esiintymät. Tämä johtuu siitä, että kupari- ja

nikkelisulaton lähiympäristön maaperään on vuosikymmenten aikana ehtinyt kertymään lyijypitoista laskeumaa ja saastuneen maaperän kautta se kulkeutuu yhä alueen eliöstöön. Näin ollen, vaikka lyijyn ja muidenkin raskasmetallien päästöt ovat pienentyneet Harjavallan alueella (Tammiranta 2000; Anttila ym. 2003; Kiikkilä 2003; Saari & Pesonen 2003), maaperän kautta tuleva altistus näkyy edelleen muun muassa lyijyn korkeina pitoisuuksina mustikan lehdissä, marjoissa ja niillä eläneillä toukilla. Kadmiumin korkeita pitoisuuksia selittää se, että sitä esiintyy sellaisissa malmeissa, jotka ovat edelleen usein yhteydessä muun muassa kupariteollisuuteen (Paranko 2005), kuten tässäkin tapauksessa. Lisäksi kyseinen raskasmetalli ei ole yleisesti ottaen elintärkeä kasveille, joten niille ei ole välttämättä kehittynyt erityisiä mekanismeja kadmiumin säätelylle (Clemens ym. 2002). Tämä voi edelleen selittää sen pitoisuuksia kupari- ja nikkelisulaton lähiympäristön kasvillisuudessa. Lisäksi Gjengedal ja Steinnes (1994) havaitsivat tutkimuksessaan, että mustikka ilmentää hyvin erityisesti ilmasta peräisin olevia kadmiumpäästöjä.

Edellä mainittujen tehdaskompleksien pääasiallisten raskasmetallisaastukkeiden ohella, toisaalta myös mangaanin ja sinkin pitoisuudet olivat suhteellisen korkeat. Sinkki jäi kuitenkin tutkimuksessa pois tarkemmasta raskasmetallien tarkastelusta, sillä sen määrä on kasveissa aika hyvin säädeltyä (Gjengedal & Steinnes 1994), eikä se ole kovin myrkyllistä verrattuna esimerkiksi arseeniin tai kupariin (Paranko 2005). Mangaanin korkeita pitoisuuksia alueella selittää muun muassa mustikan kyky kerätä kyseistä raskasmetallia tehokkaasti erityisesti varsisiin ja lehtiin (Parzych 2014; Kandziora-Ciupa ym. 2017; Wojtun ym. 2017). Siten on ymmärrettävää, että mangaanin pitoisuudet näkyvät verrattain suurina arvoina mustikan lehdissä ja edelleen myös marjoissa.

Mustikan lehdistä ja marjoista (sekä niillä eläneistä siirtotoukista) mitatut arseenin, lyijyn, kuparin, nikkelin ja kadmiumin pitoisuudet kertovat niin ikään siitä, että etäisyyden kasvaessa Harjavallan alueen olennaisimmasta päästölähteestä eli Boliden Harjavalta Oy:n tehdaskompleksista, myös kyseisten raskasmetallien pitoisuudet pienenevät vähitellen. Tämä oli odotettavissa, sillä esimerkiksi Demzugin ja Garbiecin (2009) tutkimuksessa mustikan marjoista mitatut raskasmetallien pitoisuudet (Mn, Fe, Zn, Cd, Ni ja Pb) olivat korkeampia lähellä päästölähdettä. Samoin Puolassa tehdyssä tutkimuksessa havaittiin, että monet raskasmetallien pitoisuudet mustikan varsissa ja lehdissä olivat korkeampia saastuneilla alueilla lähellä päästölähdettä sekä niiden läheisyydessä kuin muualla (Wojtun ym. 2017). Lisäksi Ettlerin (2016) katsausartikkelissa havaittiin, että etäisyyden kasvaessa varsinaisesta päästölähteestä, myös maaperän saastuneisuus väheni, mikä vastaa myös Harjavallan alueella tehtyjen tutkimuksien tuloksia (esim. Eeva ym. 2018)

4.3 Raskasmetallien sisäinen ja ulkoinen altistus

Tutkimukseni tarkoituksena on tarkastella yleisesti mustikan lehtien ja marjojen raskasmetallipitoisuuksia ja saada siitä kokonaiskuva, joten työn kannalta ei ollut oleellista yrittää erottaa raskasmetallien sisäistä ja ulkoista altistusta toisistaan. Lisäksi mustikkaa ravintonaan käyttäneiden siirtotoukkien avulla haluttiin saada viitteitä raskasmetallien mahdollisesta siirtymisestä ravintoketjussa eteenpäin, jolloin myöskin olisi ollut turhaa poistaa ulkoinen altistus. Mustikan lehtien ja toukkien sekä marjojen ja toukkien välillä ei näkynyt yhtä suoraviivaista korrelaatiota raskasmetallien suhteen kuin lehtien ja marjojen välillä. Tämä voi kuitenkin johtua siitä, että toukat oli kerätty eri mustikan varvuista kuin lehdet ja marjat. Lehdet ja marjat kerättiin myöhemmin samasta mustikan varvusta, sillä marjoja ei ollut vielä alkukesällä, kun toukat olivat jo viimeisessä kehitysvaiheessaan. Mustikan lehtien ja marjojen välillä huomattiin vahva positiivinen lineaarinen riippuvuus, jossa lehtien raskasmetallipitoisuuksien (Ar, Cd, Cu, Ni ja Pb) ollessa suuria myös saman varvun marjojen sisältämät raskasmetallipitoisuudet olivat suuria.

4.4 Tunturimittarin toukat ja niiden kasvu

Niin ikään toukista mitatut tehdaskompleksin pääasialliset raskasmetallisaasteet (As, Cd, Cu, Ni ja Pb) saivat suurimmat mitatut arvonsa saastuneella alueella. Toukista mitatut raskasmetallien pitoisuudet olivat kuitenkin keskimäärin pienempiä kuin lehdistä mitatut, mutta kuitenkin suuremmat kuin marjoista mitatut. Siten alueen yleisimpien raskasmetallien pitoisuudet näyttävät noudattavat seuraavaa trendiä lehdet > toukat > marjat. Havaitsin mustikan lehtiä ravintonaan käyttäneiden tunturimittarin toukkien kasvun hidastuneen saastuneella alueella. Toukkien hidastunut kasvu saattaa johtua monesta eri tekijästä, kuten metallien myrkyllisyydestä tai ravinnon huonontuneesta laadusta.

Andrahennadin ja Pickeringin (2008) tutkimuksessa havaittiin *Mamestra configurata*- perhoslajin toukkien kuolleisuuden lisääntymisen johtuneen arseenin korkeasta pitoisuudesta, joka oli peräti 18 µg/g toukkien kuivapainosta. Tutkimuksessani vastaava pitoisuus oli saastuneella alueella vain n. 0,5 µg/g). Kadmiumilla puolestaan havaittiin olevan negatiivisia vaikutuksia lehtinunnan (*Lymantria dispar*) toukkien kasvuun, kun toukkien käyttämän ravinnon kadmiumpitoisuus oli 30 µg/g kuivapainoa kohden (eli LOEC kadmiumille ravinnon kautta oli 30 µg/g) (Matic ym. 2016). Tämä on monikymmenkertainen pitoisuus tutkimuksessani mitattuun lehtien kadmiumpitoisuuteen, 0,21 µg/g, verrattuna. Tunturimittarin toukilla tehdyssä tutkimuksessa kuparin ja/tai nikkelin pitoisuuksien ylittäessä 20 µg/g ravintona olleiden koivun lehtien kuivapainosta, toukkien esiintymisen ja

populaation tiheyden huomattiin alentuneen. Tarkemmin tarkasteltuna kyseisessä tutkimuksessa määriteltiin myös erikseen mitatut raskasmetallien pitoisuudet lehtien kuivapainosta, jotka olivat kuparille 20,6 µg/g ja nikkelille 12,9 µg/g (Ruohomäki ym. 1996). Tutkimuksessani mustikan lehdistä mitattiin jopa edellistä korkeammat pitoisuudet, jotka olivat kuparille 31,3 µg/g ja nikkelille 17,2 µg/g kuivapainosta. Lisäksi kyseisten raskasmetallien maksimiarvot, jopa erikseen tarkasteltuna (Cu 82,2 µg/g ja Ni 30,2 µg/g) ylittivät reilusti Ruohomäen ym. (1996) 20 µg/g rajan, jonka ylityksen seurauksena toukilla havaittiin erilaisia negatiivisia vaikutuksia.

Toisessa Harjavallan tutkimusalueella tehdyssä kokeessa, jossa tunturimittarin toukat käyttivät ravintonaan koivujen lehtiä, havaittiin myös toukkien kasvavan hitaammin ja lisäksi niiden kotelot painoivat tavallista vähemmän (van Ooik ym. 2007). Vastaavasti Klemolan ym. (2003) tutkimuksessa arvioitiin, että hyvälaatuinen ravinto voi selittää toukkien nopeaa kasvua (katso myös Kause ym. 1999). Muissa tutkimuksissa on niin ikään osoitettu, että mustikan lehtien ravinnekoostumus saattaa muuttua alueilla, jotka ovat metallien saastuttamia (Loponen ym. 1997; Mroz & Demzuk 2010). Tällaiset muutokset saattavat johtaa toissijaisten aineenvaihduntatuotteiden (esimerkiksi alkaloidien) kasvaneisiin määriin lehdissä, jotka edelleen vaikuttavat negatiivisesti toukkiin (Suomela ym. 1995; Haukioja 2003). Lisäksi saastuneilla alueilla lehtien vesipitoisuus saattaa olla tavallista pienempi (Salemaa ym. 2001), joka myöskin huonontaa lehtien laatua ja voi hidastaa toukkien kasvua. Kuitenkaan omassa tutkimuksessani lehtien vesipitoisuuksissa ei havaittu eroa saastuneen alueen ja kontrollialueen välillä, joten se ei näytä selittävän eroja toukkien kasvussa.

Edellä mainittujen sekä oman tutkimukseni perusteella raskasmetallien korkeat määrät toukkien ravinnossa, näyttävät hidastavan toukkien kasvua suoraan myrkyllisyyden kautta, vaikkakin osittain havaitut raskasmetallien pitoisuudet olivat huomattavasti pienempiä kuin muissa tutkimuksissa. Tutkimuksessani ei kuitenkaan voida sulkea pois huonosta ravinnon laadusta johtuvia vaikutuksia toukkien kasvuun, sillä kuten edelläkin mainittiin, vesipitoisuuden ohella myös erilaiset ravinnekoostumuksen muutokset voivat vaikuttaa negatiivisesti toukkiin. Olennaista kuitenkin tässä yhteydessä on, että hidastunut kasvu saastuneella alueella nähtiin myös toukkien painon eroissa. Saastuneella alueella toukkien paino olikin pienempi kuin kontrollialueella. Samalla Harjavallan tutkimusalueella Sillanpään ym. (2009) tutkimuksessa ei löydetty koivuista kerättyjen tunturimittarin toukkien painoissa suoraan eroa alueiden välillä. Kuitenkin tunturimittarien toukkien kokonaisbiomassan havaittiin olevan pienempi saastuneella alueella, joka viittaisi siihen, että tehtaan lähialue ei ole olosuhteiltaan paras mahdollinen tunturimittareille.

4.5 Harjavallan alueen nykytila

Kasvit säätelevät yleisesti ottaen hyvin tehokkaasti raskasmetallien pitoisuuksia (Clemens ym. 2002), joten esimerkiksi mustikan lehdistä mitatut raskasmetallien korkeat pitoisuudet kertovat jo itsessään siitä, että Harjavallan alueella on jokin syy, joka selittää raskasmetallisaasteiden määrää. Jotta voitaisiin sanoa, että Harjavallan alue ei ole enää ”mustikan näkökulmasta” katsoen raskasmetallien saastuttama, pitäisi mustikasta mitattujen pitoisuuksien vastata niin kutsuttuja normaaleja pitoisuuksia (Kabata-Pendias 2001). Tässä yhteydessä ei keskitytä niinkään kertymisen mahdolliseen myrkyllisyyteen, vaan sen sijaan kasvien fysiologisiin tarpeisiin (Clemens ym. 2002). Nämä kasveille määritellyt normaalit pitoisuudet perustuvat tutkimuksiin, joissa on selvitetty eri alkuaineiden pitoisuuksia, joilla kasvien fysiologiset tarpeet saadaan tyydytettyä. Tutkimusten mukaan useimpien kasvilajien fysiologiset tarpeet saadaan tyydytettyä, kun mitatut pitoisuudet ovat seuraavat: 15-30 µg/g sinkille, 2 µg/g kuparille, 10-25 µg/g mangaanille (Kabata-Pendias 2001). Tulosten mukaan sinkin pitoisuudet ovat riittävät tyydyttämään fysiologiset tarpeet, sillä mustikan lehdistä mitatut sinkin keskimääräiset pitoisuudet ovat normaalin vaihteluvälin sisällä (Taulukko 1). Kuparin ja mangaanin pitoisuudet puolestaan ylittävät reilusti edellä mainitut normaalit pitoisuudet sekä kontrolli- että saastuneella alueella (Taulukko 1). Lehtien keskimääräinen kuparin pitoisuus on kaikkein korkein saastuneella alueella, jossa se on jopa 20,64 µg/g. Lehtien keskimääräinen mangaanin pitoisuus on sen sijaan korkein kontrollialueella 653,71 µg/g, mutta saastuneellakin alueella sen on erittäin korkea ja keskimäärin 414,39 µg/g (Taulukko 1).

Saastuneen alueen alhaisemmat mangaanin pitoisuudet johtuvat todennäköisesti siitä, että tehdaskompleksin tuottamat korkeat kupari- ja nikkelipäästöt aiheuttavat maaperän happamoitumista, minkä on tutkittu johtavan mangaanin huuhtoutumiseen kasvien juurten ulottumattomiin (Tuominen 1997). Mangaanin korkeat pitoisuudet muutoin voivat selittyä sillä, että yleisestikin Harjavallan ympäristön maaperästä on mitattu mangaanin korkeita pitoisuuksia, mikä luonnollisesti näkyy siten myös mustikasta mitatuista pitoisuuksissa (Eeva ym. 2018). Lisäksi Clemens ym. (2002) on todennut, että monilla kasvilajeilla on taipumusta jopa hyperakkumuloida joitakin raskasmetalleja itseensä, jolloin jotakin raskasmetallia voi kertyä todella suuria määriä kasvin eri osiin. Mangaanin korkeiden pitoisuuksien perusteella voisi väittää, että Harjavallan alue on edelleen raskasmetallien kyllästämä, mutta silloin oltaisiin hakoteillä. Nimittäin, kasvit yleisesti ottaen kestävät hyvin korkeitakin mangaanin pitoisuuksia ja usein vasta 500 µg/g aiheuttaa toksisia vaikutuksia (Parzych 2014). Lisäksi tässä yhteydessä on erityisen olennaista ottaa huomioon mustikan lajispesifinen kyky kerätä kyseistä raskasmetallia erityisen tehokkaasti (Reimann ym. 2001; Boyd 2007). Näin ollen mangaanin korkeat

pitoisuudet eivät välttämättä ilmaise voimakasta saastumista Harjavallan alueella.

Mangaania parempi mittari tässä yhteydessä onkin mitatut kuparin pitoisuudet. Tämä johtuu siitä, että kuparia tarvitaan vain hyvin pieni määrä kasvien fysiologisen tarpeen tyydyttämiseksi (Marschner 1995) ja normaalin määrän ylittäessään, se aiheuttaa suhteellisen nopeasti ongelmia kasvien aineenvaihdunnassa (Clemens ym. 2002). Edellä mainittujen lehtien sisältämien pitoisuuksien lisäksi voidaan tarkastella myös marjojen sisältämiä kuparin pitoisuuksia. Normaalisti marjoissa on kuparia noin 5 µg/g kuiva-ainetta kohden, mutta esimerkiksi vuonna 1984 Harjavallasta kerätyistä mustikan marjoista sitä oli kaksinkertainen määrä eli 10 mg/kg (mg/kg = µg/g) (Aulio 1987). Tässä yhteydessä on kuitenkin hyvä pitää mielessä, että tiedossa ei ole tarkkaa sijaintitietoa näytteiden ottopaikasta, joten tuloksia ei voi suoraan verrata toisiinsa. Lisäksi tulosteni mukaan kuparin pitoisuus oli noin 7 µg/g kuiva-ainetta kohden saastuneella alueella vuonna 2014, mutta toisaalta korkein mitattu pitoisuus oli 9 µg/g (Taulukko 1), joka on lähellä Aulion (1987) mittaamia pitoisuuksia. Näyttää kuitenkin siltä, että kuparin pitoisuudet ovat kuitenkin pienentyneet vuosien saatossa, kuten muissakin tutkimuksissa on todettu (muun muassa Tammiranta 2000; Kiikkilä 2003).

Lähemmän tarkastelun kohteena olleen kuparin pitoisuudet mustikan eri kasvin osissa kertovat mielestäni siitä, että Harjavalta on edelleen raskasmetallien saastuttamaa aluetta, vaikka se ei varmastikaan ole enää yhtä saastunut kuin aiemmin. Tärkeää onkin pitää mielessä, että vaikka Harjavallan alueella raskasmetallien päästöt ovat vuosien mittaan pienentyneet huomattavasti (Kiikkilä 2003), taustalla on kuitenkin pitkä ajanjakso, jonka aikana erityisesti tehdaskompleksin läheinen maaperä on voimakkaasti saastunut (Sippola & Erviö 1986). Kuparin ohella myös lyijyn ja kadmiumin korkeat pitoisuudet tehdaskompleksin lähiympäristön kasvillisuudessa kertovat alueen saastuneisuudesta, sillä kumpikaan niistä ei kuulu edes kasveille tärkeisiin hivenaineisiin (Kabata-Pendias 2001). Ei ole siis yllättävää, että tutkimuksessa havaittiin raskasmetallien yhä kertyvän mustikan marjoihin ja lehtiin sekä mustikalla eläviin toukkiin Harjavallan nikkeli- ja kuparisulaton ympäristössä. Suurin osa raskasmetallialtistuksesta Harjavallan alueella on todennäköisesti peräisin saastuneesta maaperästä, mutta osa altistuksesta tulee edelleen suoraan ilmasta (tehdaskompleksin piipuista).

Vaikka Harjavallan mustikan marjojen raskasmetallipitoisuudet ovat edelleen tausta-arvoja suurempia, positiivinen asia on se, että ne eivät ole terveysriski ihmisille, joten kyseisellä alueella ei ole tarvetta rajoittaa marjojen käyttöä. Myös Tuominen (1997) totesi Harjavallan alueella mitatuista mustikan marjojen pitoisuuksissa saman huomion. Mustikan lehtien raskasmetallipitoisuudet

puolestaan ovat yhä suhteellisen suuria, joten esimerkiksi niitä ravintonaan käyttäville eläimille saattaa aiheutua tämän takia erilaisia haitallisia seurauksia (Aulio 1987; Eeva ym. 2018). Myös Parzych (2014) totesi tutkimuksessaan, että raskasmetallien kertyminen kasveihin johtaa edelleen niiden kulkeutumiseen ravintoketjujen seuraaville tasoille. Tutkimuksessani toukista mitattiin keskimäärin pienempiä raskasmetallipitoisuuksia kuin lehdistä, mutta suurempia kuin marjoista. Näin ollen näyttää siltä, että mustikan lehtiä syöviin toukkiin saattaa hyvinkin ruoan kautta kertyä myös raskasmetalleja ja että raskasmetallit ovat kulkeutuneet ravintoketjun seuraavalle tasolle.

4.6 Mahdollisia jatkotutkimuksia

Mustikalla elävien toukkien sisältämien raskasmetallipitoisuuksien avulla voidaan mahdollisesti saada viitteitä myös siitä, kuinka paljon lintuihin voi kerääntyä mm. arseenia, kuparia ja nikkeliä maassa olevien ravintokohteiden kautta. Monet linnut käyttävätkin mustikalla eläviä toukkia ravintonaan (Eeva ym. 1997; Eeva ym. 2005) ja erityisesti talitiaiset ovat erikoistuneet toukkiin ravinnonlähteenään (Eeva ym. 2005). Tosin ne keräävät suurimman osan poikasille tarkoitettusta ruuasta muualta kuin varvikosta, mutta sen sijaan kirjosiepot hankkivat lähes kolmasosan ruuastaan kenttäkerroksesta (Eeva ym. 1997). Niiden ruokavalio koostuu lähinnä aikuisista hyönteisistä, mutta toisaalta huomattava osa eli noin kolmannes ravinnosta on toukkia (Eeva ym. 2005). Lisäksi voisi olla mielenkiintoista selvittää, onko marjojen ja lehtien välillä eroa juurista, ravinteiden, kautta kulkeutuneiden raskasmetallien määrissä kyseisiin kasvin osiin.

Kiitokset

Pro Graduni maastotyöskentelyssä minua on ollut mukana avustamassa TY:n tutkimusteknikko Jorma Nurmi, jolle olen kiitollinen saamastani avusta. Lisäksi haluan erityisesti kiittää kaikesta saamastani avusta ja hyvästä ohjauksesta ohjaajiani Tero Klemolaa ja Tapio Eevaa, jotka molemmat toimivat Tutun yliopistolla yliopistonlehtoreina ja ekologia ja evoluutiobiologian dosentteina.

6. Kirjallisuus

- Alloway, B. J. 1991. General principles. Teoksessa: *Heavy metals in soils* (Alloway, B.J., toim.), s3–39. Blackie Academic & Professional Press, Glasgow
- Andrahennadi, R., Pickering, I.J. 2008. Arsenic accumulation, biotransformation and localisation in bertha armyworm moths. *Environmental Chemistry* 5:413–419
- Anttila, P., Alaviippola B, Salmi T. Air quality in Finland—monitoring results in relation to the guideline and limit values and comparisons with European concentration levels. *Air Quality* 33:1–101
- Appenroth, K. 2010. Definition of “heavy metals” and their role in biological systems. Teoksessa: *Soil heavy metals* (Soil Biology, toim.), s19–29. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Atlegrim, O. 1992. Mechanisms regulating bird predation on an herbivorous larva guild in boreal coniferous forest. *Holarctic ecology. Ecography* 15:19–24
- Atlegrim, O. 1989. Exclusion of birds from bilberry stands: impact on insect larval density and damage to the bilberry. *Oecologia* 79:136–39
- Aulio, K. 1987. Korkeita metallipitoisuuksia Harjavallan tehdasalueen marjakasveissa. *Ympäristö ja Terveys* 18:43–45
- Aulio, K. & Ojala, A. 1983 Selective utilization of copper and zinc in three species of *Vaccinium* (Ericaceae). *Journal of plant nutrition* 6:177–183
- Barcan, V.S., Kovnatsky, E.F., Smetannikova, M.S. 1998. Absorption of heavy metals in wild berries and edible mushrooms in an area affected by smelter emissions. *Water, Air and Soil Pollution* 103:173–195
- Bezabeh W., Ollus F. & Finell M. 2007. Sienien ja marjojen raskasmetallipitoisuuksien tutkiminen Pietarsaaren seudulla. *Hanketiivistelmä* s1–4
- Bialonska, D., Zobel, A.M., Kuras, M., Tykarska, T. & Sawicka-Kapusta, K. 2007. Phenolic compounds and cell structure in bilberry leaves affected by emissions from a Zn- Pb smelter. *Water Air Soil Pollution* 181:123–133
- Boyd, R.S. 2007. The defense hypothesis of elemental hyperaccumulation: status, challenges and new directions. *Plant and Soil* 293:153–176
- Cajander, A.K. 1949. Forest types and their significance. *Acta Forestalia Fennica* 56:1–71
- Chen, C., Stemberger, R., Klaue, B., Blum, J., Pickhardt, P. & Folt, C. 2000. Accumulation of heavy metals in food web components across a gradient of lakes. *Limnology and Oceanography* 45:1525–1536
- Clemens, S., Palmgren, M. & Krämer, U. 2002. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends in Plant Science* 7:309–315
- Eeva, T., Holmström, H., Espin, S., Sanchez-Virosta, P. & Klemola, T. 2018. Leaves, berries and herbivorous larvae of bilberry *Vaccinium Myrtillus* as sources of metals in food chains at a Cu-Ni smelter site. *Chemosphere* 210:859–866
- Eeva, T. & Lehikoinen, E. 1996. Growth and mortality of nestling great tits (*Parus major*) and pied flycatchers (*Ficedula hypoleuca*) in a heavy metal pollution gradient. *Oecologia* 108:631–639
- Eeva, T., Lehikoinen, E. & Pohjalainen, T. 1997. Pollution-related variation in food supply and breeding success in two hole-nesting passerines. *Ecology* 78:1120–1131
- Eeva, T., Ryömä, M. & Riihimäki, J. 2005. Pollution-related changes in diets of two insectivorous passerines. *Oecologia* 145:629–639
- Ettler, V. 2016. Soil contamination near non-ferrous metal smelters: a review. *Applied Geochemistry* 64:56–74
- Demczuk, M. & Garbiec, K. 2009. Heavy metals in edible fruits. A case study of bilberry *Vaccinium myrtillus* L. *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych* 40:307–312
- Derome, J. & Lindroos, A. 1998. Effects of heavy metal contamination on macronutrient availability and acidification parameters in forest soil in the vicinity of the Harjavalta Cu-Ni smelter, SW Finland. *Environmental Pollution* 99:225–232
- Fritze, H., Niini, S., Mikkola, K. & Mäkinen, A. 1989. Soil microbial effects of a Cu-Ni smelter in southwestern Finland. *Biology and Fertility Soils* 8:87–94
- Gjengedal, E., Steinnes, E., 1994. The mobility of metals in the soil-plant system in manipulated catchments - plant-species suitable for biomonitoring of Cd, Pb, Zn, and Rb. *Ecological Engineering* 3:267–278
- Hall, J.L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany* 53:1–11
- Haukioja, E. 2003. Putting the insect into the birch-insect interaction. *Oecologia* 136:161–168
- Heliövaara, K. & Väisänen, R. 1990. Air pollution levels and abundance of forest insects. (Kauppi, P., Anttila, P. & Kenttämies, K., toim.). Teoksessa: *Acidification in Finland*. . s447–467. Springer-Verlag, Berlin–Heidelberg
- Heliövaara, K. & Väisänen, R. 1991. Bark beetles and associated species with high heavy metal tolerance. *Journal of Applied Entomology* 111:397–405
- Hutchinson, T.C. & Whitby, L.M. 1974. Heavy-metal pollution in the Sudbury mining and smelting region of Canada, I. Soil and vegetation contamination by nickel, copper, and other metals. *Environmental Conservation* 1:123–132

- Hynninen, V. 1986. Monitoring of airborne metal pollution with moss bags near an industrial source at Harjavalta, southwest Finland. *Annales Botanici Fennici* 23:83–90
- IUPAC. 2002. "Heavy metals" - a meaningless term?. *Pure Applied Chemistry* 74:793–807
- Kabata-Pendias, A. 2001. Trace elements in soils and plants. (Alina Kabata-Pendias & Henryk Pendias .toim) s1–413. CRC Press, Boca Raton
- Kandziora-Ciupa, M., Nadgorska-Socha, A., Barczyk, G. & Ciepal, R. 2017. Bioaccumulation of heavy metals and ecophysiological responses to heavy metal stress in selected populations of *Vaccinium myrtillus* L. and *Vaccinium vitis-idaea* L. *Ecotoxicology* 27:966–980.
- Kause, A., Ossipov, V., Haukija, E., Lempa, K., Hanhimäki, S. & Ossipova, S. 1999. Multiplicity of biochemical factors determining quality of growing birch leaves. *Oecologia* 120:102–112
- Keskitalo, M., Hakala, K., Jalli, H., Jalli, M., Jauhainen, K., Känkänen, H., Laine, A. & Salo, T. 2014. Monisopu – Monipuolisella kasviviljelijällä satoa ja kestävyttä (2009-2014) – hankkeen loppuraportti.
- Kiikkilä, O. 2003. Heavy-metal pollution and remediation of forest soil around the Harjavalta Cu-Ni smelter, in SW Finland. *Silva Fennica* 37:399–415
- Klemola, T., Ruohomäki, K., Tanhuanpää, M. & Kaitaniemi, P. 2003. Performance of a spring-feeding moth in relation to time of oviposition and bud-burst phenology of different host species. *Ecological Entomology* 28:319–327
- Koski, E., Venäläinen, M. & Nuorteva, P. 1988. The influence of forest type, topographic location and season on the levels of Al, Fe, Zn, Cd and Hg in some plants in Southern Finland. *Annales Botanici Fennici* 25:365–370
- Kozanecka, T., Chojnicki, J. & Kwasowski, M. 2002. Content of heavy metals in plant from pollution-free regions. *Polish Journal of Environmental Study* 11:395–399
- Kozlov, V., Haukioja, E. & Kovnatsky, E.F. 2000. Uptake and excretion of nickel and copper by leaf-mining larvae of *Eriocrania semipurpurella* (Lepidoptera: Eriocraniidae) feeding on contaminated birch foliage. *Environmental Pollution* 108:303–310
- Kubin, E., Lippo, H. & Poikolainen, J. 2000. Heavy metal loading. (Mälkönen, E., toim.), s60–71. Teoksessa: *Forest condition in a changing environment – the Finnish case*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- Jussila, I. 1991. A bioindicator study on the effects of air pollution on forest ecosystem at Pori-Harjavalta district in SW-Finland. *SYKEsarja B* 15:1–112
- Jussila, I. & Jormalainen, V. 1991. Spreading of heavy metals and some other air pollutants at Pori-Harjavalta district in SW-Finland. *SYKEsarja B* 4:1–58.
- Jussila, I., Laihonon, P. & Jormalainen, V. 1991. A bioindicator study on the effects of air pollution on forest ecosystem at Pori - Harjavalta district in SW-Finland. - *SYKEsarja B* 2: 1–62.
- Jussila I, Joensuu E, Laihonon P. 1999. Ilman laadun bioindikaattorisearanta metsäympäristössä. (Loukola, K., Murto, R. & Suominen, V., toim.), s59–57. Teoksessa: *Ympäristöopas*. Helsingin seudun ympäristöpalvelut, Helsinki.
- Laaksovirta, K. & Silvola, J. 1975. Effect of air pollution by copper, sulphuric acid and fertilizer factories on plants at Harjavalta, W. Finland. *Annales Botanici Fennici* 12:81–88
- Levula, T., Saarsalmi, A. & Rautavaara, A. 2000. Effects of ash fertilization and prescribed burning on macronutrient, heavy metal, sulphur and 137Cs concentrations in lingonberries (*Vaccinium vitis-idea*) *Forest Ecology and Management* 126:269–279.
- Lindroos, A.-J., Derome, J., Nikonov, V. & Niska, K. 1996. Influence of sulphur and heavy metal emissions from Monchegorsk, Northwest Russia, on percolation water quality in *Pinus sylvestris* stands. *Scandinavian Journal of Forest Research* 11:97–103
- Littell, R.C. 2006. SAS for mixed models. (toim. SAS institute), 814s. Inc, Cary, NC.
- Loponen, J., Ossipov, V., Koricheva, J., Haukioja, E., Pihlaja, K., 1997. Low molecular mass phenolics in foliage of *Betula pubescens* Ehrh. in relation to aerial pollution. *Chemosphere* 34:687–697
- Matic, D., Vlahovic, M., Kolarevic, S., Mataruga, V.P., Ilijin, L., Mrdakovic, M., Gacic, B.V. 2016. Genotoxic effects of cadmium and influence on fitness components of *Lymantria dispar* caterpillars. *Environmental Pollution* 218:1270–1277
- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic, London 889s
- Meharg, A.A. 2003. The mechanistic basis interactions between mycorrhizal associations and toxic metal cations. *Mycological Research* 107:1253–1265
- Metsäntutkimuslaitos. 2018. Raskasmetallit. <http://www.metla.fi/metinfo/metsienterveys/raskasmetalli/kartta-nikkeli.htm>, vierailu 10.12.2019
- Metsäntutkimuslaitos. 2016. Raskasmetallit. <http://www.metla.fi/metinfo/metsienterveys/raskasmetalli/tulokset.htm>, vierailu 24.2.2016
- Michalak, A. 2006. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environmental Studies* 15:523–530
- Mikkonen, H., Moisio, S. Timonen, 2007. Luonnonmarjojen hyödyntäminen Suomessa. *Arktiset aromit Ry* 26s

- Monni S, Salemaa M. & Millar N. 2000a. The tolerance of *Empetrum nigrum* to copper and nickel. *Environmental Pollution* 109:221–229
- Monni S, Salemaa M, White C, Tuittila E. & Huopalaainen M. 2000b. Copper resistance of *Calluna vulgaris* originating from the pollution gradient of a Cu–Ni smelter, in Southwest Finland. *Environmental Pollution* 109:211–219
- Mroz, L., Demczuk, M. 2010. Contents of phenolics and chemical elements in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) leaves from copper smelter area (Sw Poland). *Polish Journal of Ecology* 58:475–486
- Mälkönen, E., Derome, J., Fritze, H., Helmisaari, H.-S., Kukkola, M., Kytö, M., Saarsalmi, A. & Salemaa, M. 1999. Compensatory fertilization of Scots pine stands polluted by heavy metals. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 55:239–268
- Nieboer, E. & Richardson, D. 1980. The replacement of the nondescript term 'heavy metals' by a biologically and chemically significant classification of metal ions. *Environmental Pollution* 1:3–26
- Nöjd, P., Mikkola, K. & Saranpää, P. 1996. History of forest damage in Monchegorsk, Kola; a retrospective analysis based on tree-rings. *Canadian Journal of Forest Research* 26:1805–1812
- Paranko, J. 2005. Ympäristökemikaalit. (toim.) s172–210. Teoksessa: *Maailmanlaajuiset ympäristöongelmat*. Turun yliopiston täydennyskoulutuskeskus, Turku
- Parzych, A., 2014. The heavy metal content of soil and shoots of *Vaccinium myrtillus* L. in the Slowinski National Park. *Lesne Prace Badawcze* 75:217–224
- Peltola, R. & Stark, S. 2010. Differences in metal concentrations in juniper (*Juniperus communis*) and bilberry (*Vaccinium myrtillus*) shoots collected from northern and southern Finland. Conference paper in Circumpolar agricultural and land use resources - prospects and perspectives for circumpolar productions and industries. *Bioforsk* s16–17
- Tammiranta A. 2000. Selvitys Harjavallan maaperän saastuneisuudesta ja toimenpidetarpeiden arviointi. Suomen ympäristökeskus s1–87
- Rautiainen, O, P. 2012. Raskasmetallit kasvillisuudessa ampumaradalla. Pro Gradu. Metsätieteiden laitos, Helsinki s1–53
- Reimann, C., Koller, F., Kashulina, G., Niskavaara, H. & Englmaier, P. 2001. Influence of extreme pollution on the inorganic chemical composition of some plants. *Environmental Pollution* 115:239–252
- Ritchie J.C. 1956. Biological flora of the British Isles: *Vaccinium myrtillus*. *Journal of Ecology* 44:291–199
- Roininen, K. & Mökkilä, M. 2007. Selvitys marjojen ja marjasivuvirtojen hyödyntämispotentiaalista Suomessa. Sitra s1–36
- Ruohomäki, K., Kaitaniemi, P., Kozlov, M., Tammaru, T., Haukioja, E. 1996. Density and performance of *Epirrita autumnata* (Lepidoptera: Geometridae) along three air pollution gradients in northern Europe. *Journal of Applied Ecology* 33:773–785
- Saari H, & Pesonen R. Ilmanlaatumittaukset Harjavallassa huhti-syyskuussa 2002. 2003. Finnish Meteorological Institute, Air Quality Research, Helsinki. Research Report s1–55
- Salemaa, M., Derome, J., Helmisaari, H.-S., Nieminen, T. & Vanha-Majamaa, I. 2004. Element accumulation in boreal bryophytes, lichens and vascular plants exposed to heavy metal and sulfur deposition in Finland. *The Science of the Total Environment* 324:141–160
- Salemaa, M. & Vanha-Majamaa L. 1993. Forest vegetation change along a pollution gradient in SW Finland. *Proceedings of the Finnish Conference of Environmental Sciences, Kuopio University Publications C. Natural and Environmental Sciences* 14:101–104
- Salemaa, M., Vanha-Majamaa, I. & Gardner, P. 1999. Compensatory growth of two clonal dwarf shrubs, *Arctostaphylos uva-ursi* and *Vaccinium uliginosum* in a heavy metal polluted environment. *Plant Ecology* 141:79–91
- Salemaa, M., Vanha-Majamaa, I. & Derome, J. 2001. Understorey vegetation along a heavy-metal pollution gradient in SW Finland. *Environmental Pollution* 112:339–350
- Salemaa, M. & Monni, S. 2003. Copper resistance of the evergreen dwarf shrub *Arctostaphylos uva-ursi*: an experimental exposure. *Environmental Pollution* 126:435–443
- SAS Institute Inc. 2013. Base SAS 9.4 Procedures Guide: Statistical Procedures.
- Seppänen, E.J. 1970. Suomen Suurperhostoukkien Ravintokasvit. WSOY.
- Sillanpää, S., Salminen, J.-P., Eeva, T. 2009. Breeding success and lutein availability in Great tit (*Parus major*). *Acta Oecology* 35:805–810
- Suomela, J., Ossipov, V., Haukioja, E. 1995. Variation among and within mountain birch trees in foliage phenols, carbohydrates, and amino-acids, and in growth of *Epirrita autumnata* Larvae. *Journal of Chemical Ecology* 21:1421–1446
- Suomen ympäristökeskus. 2014. Raskasmetallit. http://www.ymparisto.fi/fi-FI/Kartat_ja_tilastot/Ilman_epapuhtauksien_paastot, vierailu 25.2.2014.
- Scheuhammer, A. M. 1987. The chronic toxicity of aluminium, cadmium, mercury, and lead in birds: A review. *Environmental Pollution* 46:263–295
- Sippola, J. & Erviö, R. 1986. Raskasmetallit maaperässä ja viljelykasveissa Harjavallan tehtaiden ympäristössä. *Ympäristö ja terveys* 17:270–275

- Szmeja K. 1993. Abundance and spatial organization dynamics of *Vaccinium myrtillus* and *V. vitis-idaea* populations. *Fragmenta Floristica et Geobotanica* 38:569–580
- Tammaru, T., Tanhuanpää, M., Ruohomäki, K., Vanatoa, A., 2001. Autumnal moth - why autumnal? *Ecological Entomology* 26:646–654
- Tamminen, P., Starr, M. & Kubin, E. 2004. Element concentrations in boreal, coniferous forest humus layers in relation to moss chemistry and soil factors. *Plant and Soil* 259:51–58
- Tammiranta, A. 2000. Study of soil contamination in Harjavalta area and assessment of need for measures. *Finnish Environmental* 418:1–87
- Taulavuori, K., Laine, K., Taulavuori, E., 2013. Experimental studies on *Vaccinium myrtillus* and *Vaccinium vitis-idaea* in relation to air pollution and global change at northern high latitudes: a review. *Environmental Exploration of Botany* 87:191–196
- Tuominen, T. 1997. Metsämarjojen raskasmetallipitoisuus. *Luonnon Tutkija* 3:1–7
- Tyler, G. 1992. Critical concentrations of heavy metals in the mor horizon of Swedish forests. Swedish environmental protection agency. Swedish Environmental Protection Agency Solna, Sweden. Technical Report 4078, s38
- Uhlig, C., Junttila, O. 2001. Airborne heavy metal pollution and its effects on foliar elemental composition of *Empetrum hermaphroditum* and *Vaccinium myrtillus* in Sør-Varanger, northern Norway. *Environmental Pollution* 114:461–69
- Uhlig, C., Salemaa, M., Vanha-Majamaa, I., Derome, J. 2001. Element distribution in *Empetrum nigrum* microsites at heavy metal contaminated sites in Harjavalta, western Finland. *Environ. Pollut.* 112:435–442
- van Ooik, T., Rantala, M.J., Saloniemi, I. 2007. Diet-mediated effects of heavy metal pollution on growth and immune response in the geometrid moth *Epirrita autumnata*. *Environmental Pollution* 145:348–354
- Wojtun, B., Samecka-Cymerman, A., Zolnierz, L., Rajs, A., Kempers, A.J. 2017. Vascular plants as ecological indicators of metals in alpine vegetation (Karkonosze, SW Poland). *Environmental Science Pollution Control Series* 24:20093-20103
- Zvereva, E.L. & Kozlov, M.V. 2005. Growth and reproduction of dwarf shrubs, *Vaccinium myrtillus* and *V. vitis-idaea*, in a severely polluted area. *Basic Applied Ecology* 6:261–274