

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Tjaša SEDOVNIK

**VPLIV HITRIH NEVTRONOV NA KROMOSOMSKE
MUTACIJE IN HIMERNOST KLASOV PRI
JEČMENU**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2007

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Tjaša SEDOVNIK

**VPLIV HITRIH NEVTRONOV NA KROMOSOMSKE MUTACIJE IN
HIMERNOST KLASOV PRI JEČMENU**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**IMPACT OF FAST NEUTRONS ON CHROMOSOMAL MUTATIONS
AND CHIMERIC STRUCTURE OF BARLEY SPIKES**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2007

Diplomsko delo je zaključek Univerzitetnega študija agronomije. Seme ječmena je bilo obsevano v reaktorju Inštituta Jožef Stefan, posejano pa na laboratorijskem polju Biotehniške fakultete in domačem vrtu v Vižmarjih.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorja diplomskega dela imenovala akademika prof. dr. Ivana Krefta.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednica: prof. dr. Katja VADNAL
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: akademik prof. dr. Ivan KREFT
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: prof. dr. Anton TAJNŠEK
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisana se strinjam z objavo svoje naloge v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddala v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Tjaša SEDOVNIK

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Dn
DK UDK 631.528.1:633.16:575.224:539.125:311.1(043.2)
KG žlahtnjenje rastlin / ječmen / mutacije / hitri nevtroni / statistična analiza
KK AGRIS F30
AV SEDOVNIK, Tjaša
SA KREFT, Ivan (mentor)
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
LI 2007
IN VPLIV HITRIH NEVTRONOV NA KROMOSOMSKE MUTACIJE I
HIMERNOST KLASOV PRI JEČMENU
TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP XI, 24, [13] str., 4 pregl., 6 sl., 2 pril., 28 vir.
IJ sl
JI sl/en
AI Pri raziskavi je bilo uporabljeno seme dvovrstne jare sorte ječmena 'Orthege', ki je bilo obsevano v jedrskem reaktorju Inštituta Jožef Stefan z različnimi odmerki sevanja s hitrimi nevtroni. Obsevano seme ter seme kontrole je bilo posejano spomladi 2005 na dveh lokacijah. Namen raziskave je bil ugotoviti, kako je obsevanje semen ječmena s hitrimi nevtroni vplivalo na himernost ter na fertilitnost oz. sterilnost glavnih klasov rastlin prve generacije ter ali se je s povečevanjem odmerka večala stopnja prizadetosti v fertilitnosti klasov. Predvidevano je bilo, da se glavni klas pri ječmenu razvije iz približno dveh inicialnih celic. Za vsak glavni klas so se na diagram v Excelu nanašali podatki o številu vseh klaskov, legi in številu fertilitnih klaskov (klaski s semenom) ter legi in številu sterilnih klaskov (klaski brez semena). Diagrami teh klasov so bili razdeljeni na dve lateralni polovici (leva in desna) ter na bazalno in apikalno polovico. Z uporabo hi-kvadrat testa je bilo ugotovljeno, da pri rastlinah iz obsevanih semen obstajajo večje statistične razlike v fertilitnosti med obema lateralnima polovicama kakor med apikalno in bazalno polovico. Prav tako je bilo ugotovljeno, da je bila najbolj prizadeta fertilitnost klasov tistih rastlin, katerih semena so bila obsevana z največjim odmerkom hitrih nevtronov.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn
DC UDC 631.528.1:633.16:575.224:539.125:311.1(043.2)
CX plant breeding / barley / mutations / fast neutrons / statistics
CC AGRIS F30
AU SEDOVNIK, Tjaša
AA KREFT, Ivan
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy
PY 2007
TI IMPACT OF FAST NEUTRONS ON CHROMOSOMAL MUTATIONS AND
CHIMERIC STRUCTURE OF BARLEY SPIKES
DT Graduation Thesis (University studies)
NO XI, 24, [13] p., 4 tab., 6 fig., 2 ann., 28 ref.
LA sl
AL sl/en
AB In this research barley seeds of two-rowed spring variety 'Orthega' were treated with fast neutrons at different dose rates in a nuclear reactor at the Institute Jožef Stefan. Irradiated and non-irradiated seeds (control) were sown at two locations in spring 2005. The purpose of the investigation was to establish the impact of fast neutrons on chimerism and fertility (or sterility) of apical spikes of M1 generation, and to find out if increasing the dose lowers fertility. It was expected that apical spike develops from about two initial cells. Fertility differences between both lateral spike halves and between basal and apical spike halves were scored. Using chi-square test it was confirmed that statistical differences between both lateral spike halves were observed more frequently than between basal and apical halves. It was also observed that fertility was the most affected in the plant spikes obtained from the seeds of which were irradiated at largest dose rate.

KAZALO VSEBINE

	Ključna dokumentacijska informacija	III
	Key words documentation	IV
	Kazalo vsebine	V
	Kazalo preglednic	VII
	Kazalo slik	VIII
	Kazalo prilog	IX
	Okrajšave in simboli	X
1	UVOD	1
1.1	CILJ RAZISKOVANJA IN DELOVNE HIPOTEZE	1
1.1.1	Cilji raziskovanja	1
1.1.2	Delovne hipoteze	2
2	PREGLED OBJAV	3
2.1	JEČMEN (<i>HORDEUM VULGARE</i>)	3
2.2	SEVANJE	3
2.2.1	Nevtronsko sevanje in nevtroni	4
2.2.1.1	Cepitev in jedrska verižna reakcija	4
2.3	VPLIVI SEVANJA NA ORGANIZEM	5
2.3.1	Vplivi na rastline	6
2.3.2	Vplivi na celice	7
2.3.3	Sterilnost	7
2.3.4	Himernost	8
3	MATERIAL IN METODE	10
3.1	IZVEDBA POSKUSA	10
3.2	OBDELAVA KLASOV	12
3.2.1	Odstotek fertilnosti	12
3.2.2	Test hi-kvadrat	13
3.2.3	Računanje s hi-kvadratom	14
3.2.3.1	Primerjava posameznih polovic obsevanih klasov s kontrolo	15
3.2.3.2	Primerjava lateralnih polovic (leve in desne) ter apikalne polovice z bazalno	15

4	REZULTATI	17
5	RAZPRAVA IN SKLEPI	19
5.1	RAZPRAVA	19
5.2	SKLEPI	20
6	POVZETEK	21
7	VIRI	23
	ZAHVALA	
	PRILOGE	

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Primerjava posameznih polovic glavnega klasa po obsevanju z odmerkom E s kontrolo	17
Preglednica 2: Primerjava posameznih polovic glavnega klasa po obsevanju z odmerkom D s kontrolo	17
Preglednica 3: Primerjava lateralnih polovic ter zgornje s spodnjo polovico pri klasih obsevanih z D in E	18
Preglednica 4: Primerjava klasov D in E s kontrolo glede na odstotek statistično značilnih polovic	18

KAZALO SLIK

Slika 1: Različna stopnja fertilitnosti M1 klasov pri enakem odmerku obsevanja semen	9
Slika 2: Razporeditev semena v štiri ponovitve na laboratorijskem polju biotehniške fakultete	10
Slika 3: Razporeditev semena v dve gredici na vrtu v Vižmarjih	11
Slika 4: Razdelitev klasa na četrtine	12
Slika 5: Vnos podatkov v diagram v Excelu (1=fertilni klasek, 0=sterilni klasek)	12
Slika 6: Razdelitev diagrama na dve lateralni ter bazalno in apikalno polovico ter izračun fertilitnosti	13

KAZALO PRILOG

Priloga A: Izračun hi-kvadrata za posamezne polovice klasov ter za primerjavo lateralnih in apikalne z bazalno polovico pri kontroli, odmerku D in odmerku E

Priloga B: Odstotek fertlnosti posameznih polovic klasov pri kontroli, odmerku D in odmerku E

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

1B1T	testiranje B (1000 radov), 1.gredica, 1. ponovitev
1C1T	testiranje C (1500 radov), 1.gredica, 1. ponovitev
1D1T	testiranje D (2100 radov), 1.gredica, 1. ponovitev
1E1T	testiranje E (3000 radov), 1.gredica, 1. ponovitev
1K1T	kontrola K (neobsevano), 1. gredica, 1. ponovitev
2B1T	testiranje B (1000 radov), 2.gredica, 1. ponovitev
2C1T	testiranje C (1500 radov), 2.gredica, 1. ponovitev
2D1T	testiranje D (2100 radov), 2.gredica, 1. ponovitev
2E1T	testiranje E (3000 radov), 2.gredica, 1. ponovitev
2K1T	kontrola K (neobsevano), 2. gredica, 1. ponovitev
2B2T	testiranje B (1000 radov), 2.gredica, 2. ponovitev
2C2T	testiranje C (1500 radov), 2.gredica, 2. ponovitev
2D2T	testiranje D (2100 radov), 2.gredica, 2. ponovitev
2E2T	testiranje E (3000 radov), 2.gredica, 2. ponovitev
2K2T	kontrola K (neobsevano), 2. gredica, 2. ponovitev
B1	testiranje B (1000 radov), 1. ponovitev
B2	testiranje B (1000 radov), 2. ponovitev
B3	testiranje B (1000 radov), 3. ponovitev
B4	testiranje B (1000 radov), 4. ponovitev
C1	testiranje C (1500 radov), 1. ponovitev
C2	testiranje C (1500 radov), 2. ponovitev
C3	testiranje C (1500 radov), 3. ponovitev
C4	testiranje C (1500 radov), 4. ponovitev
DNK	deoksiribonukleinska kislina
D1	testiranje D (2100 radov), 1. ponovitev
D2	testiranje D (2100 radov), 1. ponovitev
D3	testiranje D (2100 radov), 1. ponovitev
D4	testiranje D (2100 radov), 1. ponovitev
E1	testiranje E (3000 radov), 1. ponovitev

E2	testiranje E (3000 radov), 2. ponovitev
E3	testiranje E (3000 radov), 3. ponovitev
E4	testiranje E (3000 radov), 4. ponovitev
itd.	in tako dalje
IR	infra rdeča
K1	kontrola K (neobsevano), 1. ponovitev
K2	kontrola (neobsevano), 1. ponovitev
K3	kontrola (neobsevano), 1. ponovitev
K4	kontrola (neobsevano), 1. ponovitev
npr.	na primer
oz.	oziroma
pbl.	približno
RNK	ribonukleinska kislina
sod.	sodelavci
SP	stopinje prostosti
t. i.	tako imenovano
t. j.	to je
UV	ultra vijolična
vr.	vrečka
α	stopnja značilnosti
χ^2	hi-kvadrat

1 UVOD

Mutacije so dedne spremembe in so temeljni vir genske variabilnosti pri vseh živih organizmih (Borojević, 1986: 77). V naravi lahko nastajajo naključno (spontane mutacije) in je njihov nastanek nepredvidljiv, lahko pa so povzročene umetno z različnimi mutageni ter jih imenujemo inducirane mutacije. Mutacije so večinoma za organizem škodljive in pogosto povzročijo propad mutiranega osebka, obstajajo pa tudi takšne, ki so za osebek koristne.

Mutagen oz. mutagena snov je fizikalen ali kemični dejavnik, ki poveča pogostost mutacij (Amon, 2004) ter povzroči t. i. izzvane mutacije. Med kemične mutagene spadajo alkilne snovi, bazni analogi, akridini, antibiotiki, dušikova kislina, itd., med fizikalne pa predvsem toplota ter radioaktivno sevanje, kamor prištevamo rentgenske žarke, gama žarke, UV sevanje ter sevanje delcev, kamor poleg alfa in beta žarkov spadajo tudi hitri nevtroni (Rozman, 2004).

Umetno povzročene mutacije so pogosto, poleg v naravi že obstoječe dedne raznolikosti, kjer v čim večjem številu naravnih populacij iščemo ustrezne gene, izhodišče žlahtnjenja rastlin. Pri tem na rastline visoko rodovitnih vrst mutageno delujemo ter nato iz mutacijskega materiala poskušamo izbrati rastline, ki se od prvotne sorte razlikujejo npr. v izboljšani kakovosti in povečani količini beljakovin (Kreft, 1972). Glavni cilji mutacijskega žlahtnjenja rastlin so predvsem boljša rast in produktivnost, izboljšanje kvantitete in tehnološke kvalitete končnih proizvodov (olja, proteinov, vlaken, ogljikovih hidratov), večja odpornost na bolezni, insekte, sušo, herbicide (Joshua in Bhatia, 1984: 128).

Pri raziskavah rastlinskih mutacij je glavni trud že dolga leta usmerjen k odkrivanju bolj učinkovitih mutagenov. Precejšen del ekonomsko pomembnega mutacijskega materiala, ki je zaslužen za nastanek novih priporočenih kultivarjev, je pravzaprav nastal slučajno kot stranski rezultat pri osnovnem proučevanju mutageneze. Tak material je bil označen za mutacijskega zaradi lahko prepoznavnih, predvsem morfoloških sprememb, njegova uporabnost za žlahtniteljske namene pa je bila pogosto odkrita popolnoma slučajno. Vendar pa je prav tak mutacijski material razpršil začetni dvom o ekonomski vrednosti induciranja rastlinskih mutacij, nastalih npr. po tretiranju z gama žarki ali nevtroni. Sedaj je na razpolago velika izbira močnih mutagenov ter učinkovitih postopkov tretiranja z mutageni (Micke, 1984: 1).

1.1 CILJ RAZISKOVANJA IN DELOVNE HIPOTEZE

1.1.1 Cilji raziskovanja

Pri raziskavi smo uporabili seme dvovrstne jare sorte ječmena 'Orthege', ki je bilo obsevano v reaktorju Inštituta Jožef Stefan z različnimi odmerki sevanja s hitrimi nevtroni. Obsevano seme ter seme kontrole (neobsevano seme) je bilo posejano spomladi 2005 na dveh lokacijah, zrele rastline pa so bile pobrane v prvi polovici julija 2005.

Namen raziskave je bil ugotoviti, kako je obsevanje semen ječmena s hitrimi nevtroni vplivalo na himernost ter na fertilitnost oz. sterilitnost glavnih klasov rastlin prve generacije (v nadaljevanju M1 generacije) ter ali se je s povečevanjem odmerka večala stopnja prizadetosti v fertilitnosti klasov.

Embrijo ječmena je sestavljen iz velikega števila celic, ki se z razvojem embrija delijo in rastejo ter kasneje skupaj tvorijo razne organe. Ob obsevanju ionizirni žarki povzročajo v nekaterih celicah dedne spremembe, ki so v vsaki od dednostno prizadetih celic seveda drugačne. Tako iz genotipsko enotnega organizma nastane himeren organizem, torej organizem, sestavljen iz genotipsko različnih celic (Kreft, 1972). Pri razvoju glavnega klasa je pomembno, iz kolikšnega števila začetnih oz. inicialnih celic nastane glavni klas. Poleg števila celic, ki jih mutageni vpliv uniči, je pomembno, koliko celic ostane živih. Število preostalih živih celic vpliva na velikost in število mutiranih segmentov, ki lahko variirajo od ene same mutirane prašnice pa do mutacije celotnega klasa (Eriksson in Lindgren, 1977: 102). To je torej število začetnih oz. inicialnih celic (Kreft, 1972).

1.1.2 Delovne hipoteze

Predvidevali smo, da se glavni klas razvije iz približno dveh inicialnih celic, kar se preveri z ugotavljanjem razlik v fertilitnosti delov klasov M1 rastlin, in sicer med obema lateralnima polovicama, apikalno in bazalno polovico klasa ter s primerjavo fertilitnosti posameznih delov obsevanih klasov s klasi kontrolnih (neobsevanih) rastlin. Poleg tega smo pričakovali, da bo pri večjem odmerku hitrih nevtronov fertilitnost klasov bolj prizadeta.

Izoblikovali smo naslednje delovne hipoteze:

- H₁: glavni klas se je razvil iz pbl. dveh inicialnih celic, ki v embriju ležita vodoravno oz. ena poleg druge
- H₂: glavni klas se je razvil iz pbl. dveh inicialnih celic, ki v embriju ležita navpično oz. ena nad drugo
- H₃: sevanje vpliva na fertilitnost. Pri večjem odmerku bo fertilitnost bolj prizadeta.

2 PREGLED OBJAV

2.1 JEČMEN (*HORDEUM VULGARE*)

Ječmen je stara in dolgo znana poljščina. Odlično uspeva v južnih krajih, sejejo pa ga tudi na severu Evrope in Amerike, na visokih planotah Azije (Himalaja, Tibet) in Južne Amerike v Andih (Kocjan Ačko, 1999). Zanj je značilna kratka rastna doba in dobra prilagodljivost glede toplote in dolžine osvetlitve (Tajnshek, 1980: 79). Spada v družino trav oz. *Poaceae*. Uporablja se v različne namene in sicer pri proizvodnji piva, za prehrano ljudi, krmo živalim, proizvodnjo škroba in alkohola, pri zdravljenju, ...

Socvetje ječmena je klasasto, sestavljeno iz manjših enot socvetja oz. klaskov (Tajnshek, 1980: 34), ki so na klasnem vretenu razporejeni premenjalno. Resaste, povešene ali pokončne klase sestavljajo po trije klaski v vsaki izjedi klasnega vretena. Lahko so plodni vsi trije pri večvrstnem ječmenu ali pa samo sredinski klasek pri dvorednem. Pred klasenjem ječmen zlahka prepoznamo po ušescih, ki obdajata bil v obliki ovratnika (Kocjan Ačko, 1999). Zrno ječmena je sestavljeno iz treh osnovnih delov in sicer kalčka (embrio), meljaka (endosperm) ter plev, krovne in predpleve, ki sta zrasli z zrnom.

Bil ječmena je votla, okrogla, iz 5-7 členkov, ki so proti vrhu vedno daljši in tanjši. Listje stoji premenjalno, pritlehni listi so v šopih. Jeziček je kratek, brez zobcev, gol in le na robu s kratkimi dlačicami. Ušesca so velika, srpasta in objemajo bilko. Listna ploskev je gladka, temnozeleno ali svetlozeleno barve (Sadar, 1949: 176).

Ječmenu najbolj ugajajo peščeno ilovnata in z apnom dobro založena tla (Tajnshek, 1980: 89), saj ima šopaste korenine s šibko črpalno močjo za hranila in vodo (Kocjan Ačko, 1999). Preveč suha in peščena ter vlažna ali zbita tla zanj niso primerna, slabše uspeva tudi v kisljih tleh (Tajnshek, 1980: 89). Prenaša visoke temperature (tudi do 38 °C), suša ga prizadene le v začetnih razvojnih stadijih ali če traja dlje kot 14 dni. V obdobju kolenčenja in klasenja niso zaželeno preobilne padavine, saj povzročijo poleganje rastlin (Kocjan Ačko, 1999).

V našem poskusu smo uporabili seme sorte ječmena 'Orthegea'. To je jari dvovrstni ječmen, primeren za pridelovanje na lažjih tleh. Je srednje zgodnja sorta, sejemo ga februarja ali marca, žanjemo pa julija. Je zelo zdrava in olistana rastlina s srednje nizko velikostjo slame. Odporna je na proti pepelovki in listni pegavosti ter poleganju. Pridelek zrnja je zelo velik. Gostota setve je 450 kalivih semen/m², absolutna masa pa 50g (Zadravec, 2004).

2.2 SEVANJE

Sevanje (s tujko: radiacija) je razširjanje valovanja skozi bolj ali manj neomejeno sredstvo, navadno prazen prostor ali plin. Glede na valovno dolžino valovanja in z njo povezano energijo delcev razlikujemo ionizirno ter neionizirno sevanje (Sevanje, 2007).

Neionizirno sevanje je sevanje, ki ima nižje frekvence kot ionizirno (Temelji radiobiologije, 2007) ter nima dovolj energije za ionizacijo atomov in molekul (Sevanje, 2007). Sem spadajo UV svetloba, IR svetloba, vidna svetloba, električna polja, magnetna polja,... Glavni viri neionizirnih sevanj so daljnovodi, gospodinjske naprave, radijski in televizijski oddajniki, radarji, vidna svetloba, mobilni telefoni in njihove bazne postaje (Temelji radiobiologije, 2007).

Ionizirna sevanja pa imajo višje frekvence in s tem dovolj energije, da lahko povzročijo ionizacijo atomov in molekul v snovi (Sevanje, 2007). Med glavne vire tega sevanja sodijo predvsem rentgensko sevanje, radioaktivnost v zemeljski skorji in zunaj nje. Ionizacija je pojav, ko nabiti delci pri prehodu skozi snov odtrgajo elektrone iz elektronskega oblaka atoma. Ob tem nastane pozitivno nabit atom (ion), ki mu manjka en elektron, ter prost elektron. Skupaj sestavljata elektronski par (Temelji radiobiologije, 2007). Energija, ki to povzroča, se imenuje ionizirno sevanje. Ena izmed najbolj pomembnih lastnosti ionizirnega sevanja je njegova sposobnost prehajanja (penetriranja) v tkivo. Globina penetracije pri posameznem tipu sevanja narašča z njegovo energijo in je pri določeni energiji za posamezne tipe sevanja različna (Al-Sabti, 1993: 1).

Med ionizirna sevanja spadajo rentgenski žarki in gama žarki, ki pripadajo elektromagnetnemu sevanju, ter sevanje delcev, kamor prištevamo alfa žarke, beta žarke in nevtrone.

2.2.1 Nevtronsko sevanje in nevtroni

Nevtronsko sevanje je snop prostih nevtronov pri visokih hitrostih, ki nimajo direktnih ionizacijskih učinkov, so pa sposobni posredne ionizacije. Ko je namreč (biološko) telo obsevano z nevtroni, postane radioaktivno in je samo izvor ionizirnega sevanja (Temelji radiobiologije, 2007).

Nevtron je elementaren delec, prisoten v vseh jedrih, razen v vodikovem. Nima električnega naboja (je nevtralen) in je malo težji od protona. V jedru je zelo stabilen, izven jedra pa postane nestabilen in radioaktivno razpade, razen če ga prej ujame drugo jedro (Temelji radiobiologije, 2007). Trk z jedrom je tudi edini način, da nevtroni izgubijo energijo.

Izvori prostih nevtronov so jedrske eksplozije, pospeševalniki delcev in nevtronski topovi, umetni radionuklidi s kratko življensko dobo ter fisijski jedrski reaktorji (fisijska oz. razcep urana in plutonija) (Temelji radiobiologije, 2007).

2.2.1.1 Cepitev in jedrska verižna reakcija

Jedrska cepitev (tudi jedrska fisijska) je jedrska reakcija, pri kateri težko atomsko jedro razpade na dve srednje težki jedri (cepitveni produkt), pri tem pa navadno odleti nekaj nevtronov. Pri težkih jedrih, kot je npr. uran, lahko cepitev poteče spontano ali pa jo sproži nevtron ali foton, ki se absorbira v jedru in mu preda energijo (Jedrska cepitev, 2007). Pri tem se del mase pretvori v energijo, produkt cepitve pa je tudi radioaktivno sevanje.

Nevtroni velikih energij nastajajo v reaktorjih, kjer potekajo cepitve (fisije) težkih radioaktivnih jeder. Največji delež vseh cepitev predstavljajo cepitve urana 235, ki se jih vzpodbudi tako, da se mu z absorbcijo nevtrona dovede energija (Cepitev in jedrska... , 2007). Termični nevtron vstopi v jedro urana 235 ter povzroči njegovo cepitev. Kot produkt nastaneta dve srednje težki jedri in v povprečju dva ali trije nevtroni, ki lahko nato sprožijo nove cepitve. Ta proces se imenuje jedrska verižna reakcija (Briggs in Constantin, 1977: 16). Pri tem pa se sprosti velika količina energije, pbl. 200 MeV energije na cepitev atoma urana (Cepitev in jedrska... , 2007).

Od nevtronov, nastalih pri cepitvi, v povprečju samo eden cepi novo fisijsko jedro, ostali pa pobegnejo iz sredice reaktorja ali pa se ujamejo v gorivu, kjer lahko tvorijo nova cepljiva jedra (Jedrski reaktor, 2007). Nevtroni, ki izhajajo iz sredice reaktorja, se lahko uporabijo v raziskovalne namene. Večina jih ima energijo med 0.5 in 2.0 MeV in se imenujejo hitri nevtroni (Briggs in Constantin, 1977: 17). Ker je verjetnost za cepitev urana 235 tem večja, čim manjša je hitrost nevtrona, je potrebno nevtrone upočasniti. Ta proces poteka v moderatorju reaktorja, kjer nevtroni s trki ob lažjih jedrih elementov moderatorja izgubljajo energijo in se tako upočasnjujejo (Jedrski reaktor, 2007). Pri tem se jim energija zmanjša na pbl. 0.025 eV in se imenujejo termični nevtroni (Briggs in Constantin, 1977: 17).

2.3 VPLIVI SEVANJA NA ORGANIZEM

Vsaka poškodba organizma, bodisi na celični ali pa višji ravni, ki je posledica sevanja, se začne s poškodbo na nivoju molekul. Lomljenje kromosomov, uničenje celic, rak, ipd. so torej posledice sprememb, nastalih zaradi učinkov sevanja na molekule, ki so v citoplazmi (Temelji radiobiologije, 2007). Ko sevanje prehaja skozi snov ali tkivo, v njem ostane nekaj energije. Vsa energija, ki jo tkivo prejme s sevanjem, se predvidoma širi kot toplota, t.j. preko povečanega gibanja atomske in molekularne strukture. Začetna ionizacija in kemijske spremembe povzročajo škodljive biološke učinke (Al-Sabti, 1993: 11).

Delovanje ionizirnega sevanja na biološki sistem se lahko ponazori s štirimi fazami (Temelji radiobiologije, 2007):

1. fizikalna faza

Ionizirni delec ali foton povzroči vzbujanje ali ionizacijo molekul (aktivirane molekule).

2. fizikalno kemična faza

Izjemno nestabilne aktivirane molekule so podvržene sekundarnim reakcijam, katerih produkti so predvsem zelo reaktivni prosti radikali.

3. kemična faza

Prosti radikali reagirajo drug z drugim ali z okolnimi molekulami in tako sprožijo nastanek novih tipov molekul, ki pred sevanjem niso obstajale. Nekateri so stabilni, ostale pa naprej reagirajo druga z drugo, dokler se v sistemu ne vzpostavi kemično ravnovesje.

4. biološka faza

Na novo nastale kemične produkte se citoplazma odzove s spremembami, ki so lahko mikroskopsko vidne.

Celična poškodba se lahko razširi na tkiva, organe, organske sisteme ali celo na cel organizem. Prve tri faze trajajo zelo kratek čas, medtem ko je biološki odziv počasen proces, ki lahko traja dneve ali celo leta (Temelji radiobiologije, 2007).

2.3.1 Vplivi na rastline

Posledice tretiranja semen z različnimi mutageni, kot npr. sevanje ali kemične snovi, se navadno izrazijo v prvi (M1), drugi (M2) ali naslednjih (M3, M4,...) generacijah.

Delovanje tako fizikalnih (sevanje) kot kemičnih mutagenov na rastline se lahko izrazi v treh oblikah, in sicer kot fiziološke poškodbe (primarne poškodbe), genske mutacije (točkovne mutacije) ter kromosomske mutacije (kromosomske aberacije). Medtem, ko se fiziološke poškodbe v glavnem izrazijo samo v prvi generaciji, se lahko genske in kromosomske mutacije z dedovanjem prenesejo na naslednje generacije (Gaul, 1977a: 87). Pri raziskavi v ZDA leta 1958 so po obsevanju pšenice z rentgenskimi žarki in termičnimi nevtroni ugotovili, da je sevanje v M2 in M3 generaciji povzročilo 10 do 20 % zmanjšanje povprečne vrednosti pri kvantitativnih lastnostih (Borojević in Šesek, 1981: 129).

Pri genskih ter kromosomskih mutacijah pride do spremembe genetskega materiala (genotipa), medtem ko so fiziološke poškodbe opazne predvsem kot spremembe fenotipa (npr. zmanjšana rast, smrtnost, ...). Fenotipske spremembe, ki so posledica fizioloških poškodb ali sprememb, imenujemo modifikacije. Vse tri oblike poškodb so odvisne od odmerka mutagenih dejavnikov, s katerimi tretiramo ciljni organizem.

Pri mutacijskem žlahtnjenju rastlin so bolj zaželeni mutageni, katerih delovanje ne vpliva samo na fenotip, temveč predvsem na spremembo genetskega materiala. Po tretiranju z mutageni se je pri žitih v M1 generaciji pokazala povezava med višino in sposobnostjo preživetja sadike na eni strani ter frekvenco mutacij na drugi strani. Zato je pomembno opazovanje vidnih posledic mutagenov na rastlinah M1 generacije (Gaul, 1977a: 87).

Delovanje mutagenov oz njihove učinke na rastline M1 generacije lahko opazujemo oz merimo na različne načine:

1. z višino sadik, merjeno v različnih obdobjih rasti po kalitvi,
2. dolžina korenin, določena po kalitvi,
3. kalitev na njivi ali laboratoriju,
4. sposobnost preživetja na polju ali laboratoriju,
5. število klasov (socvetij) na rastlino,
6. število klaskov (cvetkov) na klas (socvetje),
7. število semen na klas (socvetje),
8. plodovi ali semena na rastlino.

Z večanjem odmerka mutagenega dejavnika, s katerim tretiramo semena, se povečuje tudi stopnja prizadetosti pri zgoraj navedenih bioloških kriterijih. Za število klasov na rastlino ter število klaskov na klas velja to velikokrat samo v primeru, kadar imajo rastline, katerih semena so bila tretirana pri različnih odmerkih, enako veliko prostora na poskusni parceli (Gaul, 1977a: 88). Ugotovljeno je bilo tudi, da večkratno tretiranje z mutageni (bodisi

kemičnimi ali fizikalnimi) vodi k večjemu številu genetskih sprememb (Walther, 1984: 55).

2.3.2 Vplivi na celice

Učinke ionizirnega sevanja lahko preučujemo na aktivno delečih se celicah. Opazne so različne posledice, ki so odvisne od prejetega odmerka, hitrosti absorbiranja odmerka, tipa celice ter faze celičnega cikla v kateri je celica med obsevanjem (Temelji radiobiologije, 2007). Ko celice obsevamo z rentgenskimi žarki, nastanejo na kromosomih tako imenovani prelomi. Prelomljen del je zelo lepljiv in se lahko združi s katerim koli drugim odlomljenim delom. Rentgenski žarki v glavnem povzročajo naključno razporejene prelome na vseh kromosomih (Gaul, 1977b: 95).

Ena izmed posledic fizikalnih mutagenov (sevanja) so kromosomske mutacije, ki se lahko pojavijo tako v mitozih kot v mejozi. Kromosomske mutacije so spremembe v strukturi kromosomov in so običajno škodljive. Sem prištevamo delecije, inverzije, duplikacije ter translokacije (Rozman, 2004). Citološko lahko kromosomske aberacije razdelimo na kromosomske in kromatidne. Kromosomske aberacije nastajajo pri zlomih in pri ponovnih združenjih kromosoma ter vključujejo celoten kromosom, medtem ko pride pri kromatidnih aberacijah do zlomov in zamenjav samo na eni od kromatid (Al-Sabti, 1993: 29).

Edini tip kromosomske mutacije, ki je v mejozi lahko hitro prepoznaven pri večini rastlin, so translokacije (Gaul, 1977c: 96). Pri dvovrstnem jarem ječmenu jih je bilo veliko induciranih (in izoliranih) z uspešnimi tretiranjmi z mutageni, predvsem z rentgenskim sevanjem (Scholz in Künzel, 1981: 24). Translokacija pomeni pripojitev nekega kromosomskega segmenta na nek drug kromosom (Rozman, 2004). Pri ječmenu je bilo odkrito, da je pogostost translokacij tako v mitozih kot v mejozi enaka ter da narašča linearno z odmerkom sevanja. Pri preučevanju mitoze v vršičkih poganjka so bile odkrite enostavne translokacije, ki nastajajo z združitvijo dveh centralnih fragmentov, medtem ko so v mejozi najdene recipročne translokacije. Pri tem je bila pogostost obeh tipov skoraj enaka, kar nakazuje, da sta velikokrat inducirani približno enako (Gaul, 1977b: 95).

V celicah koreninskih vršičkov koruze so preučevali vpliv rentgenskih žarkov in hitrih nevtronov na velikost celic, mitotsko aktivnost ter na nukleinske kisline. Ugotovljeno je bilo, da povečevanje odmerka ni imelo velikega vpliva na širino celic, majhne spremembe so bile opazne le pri dolžini celic. Največje spremembe so bile vidne pri mitotski aktivnosti. Pri večjih odmerkih sevanja se je v koreninskih vršičkih povečala količina ribonukleinske kisline (RNK), medtem ko se vsebnost deoksiribonukleinske kisline (DNK) ni bistveno spremenila (Haskins in sod., 1958).

2.3.3 Sterilnost

Delovanje mutagenov vpliva tudi na nižjo oz. slabšo sposobnost razmnoževanja, ki je lahko posledica različnih vzrokov: (1) ovirane rasti in razvoja, kar preprečuje cvetenje; (2) izostanek prašnikov ali pestičev v cvetovih; (3) nerazvit pelod; (4) propad embrijev pred

zrelostjo; (5) semena ne vzklijejo pravilno ali propadejo takoj po kalitvi (Gaul, 1977c: 96). Najbolj pogost vzrok temu so nefunkcionalne gamete.

Sterilnost je lahko posledica kromosomskih mutacij, genskih mutacij, citoplazemskih mutacij ali pa fizioloških poškodb. Citološke preiskave mejotskih celic večih klasov so potrdile, da so kromosomske mutacije najverjetneje glavni vzrok znižane fertilitnosti klasov, nastale pod vplivom nevtronskega sevanja (Kreft, 1972).

Edini tip kromosomske mutacije, ki je lahko hitro prepoznaven v mejozi pri večini rastlin, so translokacije. Pri ječmenu je bilo ugotovljeno, da pojav translokacij ni zadosten razlog za obrazložitev celotnega obsega sterilnosti. Ta zaključek je izpeljan iz primerjave med opazovanjem sprememb v mejozi ter upoštevanjem (znakov) sterilnosti pri istih rastlinah (Gaul, 1977c: 96). Domneva se, da je sterilnost zaradi sevanja posledica manjših izgub dednega materiala, pri čemer je pojav translokacij značilen, vendar verjetno postranskega pomena. Večji del sterilnosti v M1 generaciji je pri obsevanju z gama in rentgenskimi žarki predvsem posledica fizioloških poškodb, zato se lahko le deloma deduje na naslednje generacije (Gaul, 1977c: 97).

Stopnja sterilnosti pri rastlinah M1 generacije variira od rastline do rastline oz. od socvetja do socvetja, ne glede na to, da so bila semena obsevana pri enakem odmerku (slika 1). Ocenimo jo lahko kvantitativno z opazovanjem lege semen na klasu. Pri tem so na voljo različne statistike, ki lahko vključujejo pogostost popolnoma sterilnih rastlin, povprečno število semen na plod ali pa odstotek klaskov s semeni oz. fertitnih klaskov (Gaul, 1977c: 96)

Pri ječmenu je bilo ugotovljeno, da je delež mutacij pri M2 generaciji neodvisen od stopnje sterilnosti oz. fertilitnosti klasov v M1 generaciji. Enako velja za pojav klorofilnih mutacij. Selekcija popolnoma fertitnih M1 klasov bi pomenila eliminacijo kromosomskih mutacij, ne bi pa vplivala na delež genskih mutacij (Gaul, 1977c: 98).

2.3.4 Himernost

Pri mutacijskem žlahtnjenju se pri večini rastlin, ki se razmnožujejo spolno, največkrat tretirajo semena. Embrio semena je sestavljen iz velikega števila celic. Ionizirno sevanje v nekaterih celicah povzroči genetske spremembe, ki so v vsaki od dednostno prizadetih celic drugačne. Iz genotipsko enotnega organizma tako nastane himeren organizem, torej organizem, sestavljen iz genotipsko različnih celic (Kreft, 1972).

Iz določenih delov meristema embria se razvijejo določeni deli odraslih rastlin. Nekatere meristemске celice se zaradi spremenjene dedne strukture sploh ne delijo več, oziroma se delijo samo še nekajkrat, druge pa se zaradi različnih genotipov delijo ter rastejo različno hitro. Celice z nekoliko različnimi genotipi lahko v istem organizmu normalno koeksistirajo ter skupaj tvorijo razne organe (Kreft, 1972). Po obsevanju semen je zato pričakovati, da se bo pri odraslih rastlinah M1 generacije mutacija izrazila samo v določenih delih poganjka (mutirani segmenti), ostali deli pa bodo normalno razviti ali pa mutirani drugače (Eriksson in Lindgren, 1977: 99).

Velikost mutiranega segmenta v klasu lahko variira od ene same mutirane prašnice pa do mutacije celotnega klasa ter se povečuje z večanjem odmerka mutagena. Povprečna velikost segmenta pri nekem odmerku je večja po obsevanju kakor po tretiranju s kemijskimi mutageni, kar je v glavnem posledica različne zmogljivosti uničenja inicialnih celic ter različnega načina induciranja mutacij (Eriksson in Lindgren, 1977: 103).

Na število in velikost različnih mutiranih segmentov v klasu vpliva poleg števila inicialnih celic, iz katerih se klas razvije, tudi število celic, ki jih je mutageni vpliv uničil. Poleg tega pa vpliva tudi diplontska selekcija in eventualni razcep znotraj potomstva neke inicialne celice (Kreft, 1972).



Slika 1: Različna stopnja fertlnosti M1 klasov pri enakem odmerku obsevanja semen (Gaul, 1977)

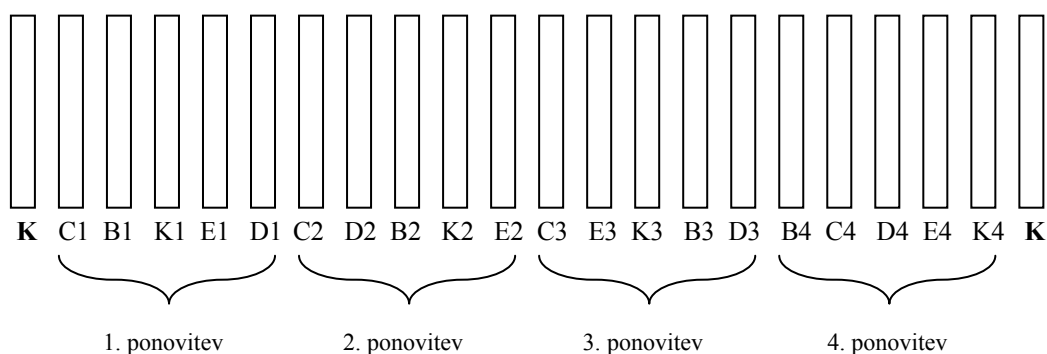
3 MATERIAL IN METODE

3.1 IZVEDBA POSKUSA

Pri poskusu smo uporabili seme jare dvovrstne sorte ječmena 'Orthega'. Seme je bilo obsevano v reaktorju Inštituta Jožef Stefan z različnimi odmerki sevanja s hitrimi nevtroni in sicer 300 radov, 1000 radov, 1500 radov, 2100 radov in 3000 radov. Pri vseh odmerkih sevanja je bilo prisotnih manj kot 10 % gama žarkov, ki bi lahko povzročili genske mutacije in s tem motili našo analizo. Rad je enota za izražanje absorbiranega odmerka. To je količina energije, ki jo pri ionizirnem sevanju sprejme določena količina snovi, kot je npr. tkivo. Novejša enota za izražanje absorbiranega odmerka je gray (1 rad = 0,01 Gy), ki je enak enemu joulu na kilogram (Al-Sabti, 1993: 8).

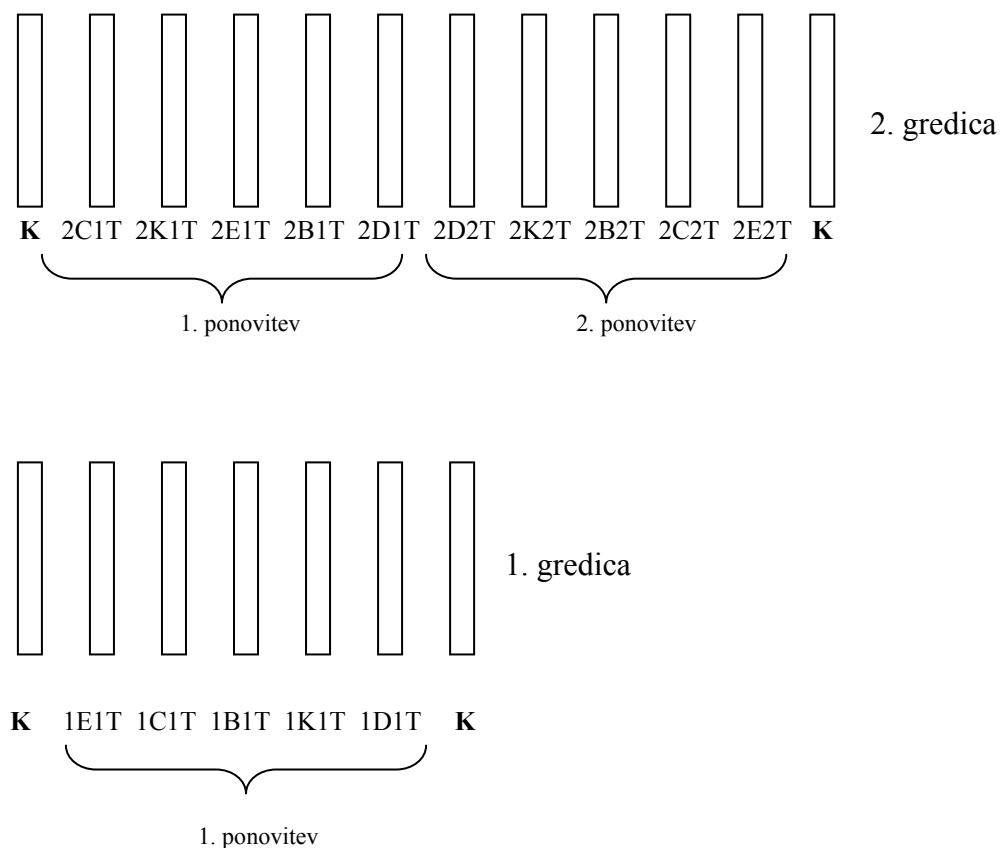
Po izteku predpisane karenčne dobe smo obsevanemu in razkuženemu semenu preverili kalivost. Različne odmerke sevanja smo označili z velikimi tiskanimi črkami, in sicer A za 300 radov, B za 1000 radov, C za 1500 radov, D za 2100 radov, E za 3000 radov ter K za neobsevano seme (kontrola). Od vsake smo vzeli po 50 semen ter jih dali kaliti v kartonske škatle na vlažno vato. S testom kalivosti smo želeli preveriti, če so semena ječmena kaljiva pri vseh odmerkih sevanja, oziroma, če morebitni odmerek ni tako uničil semen, da rastline sploh ne bi zrasle.

Obsevano seme ter seme kontrole smo posejali spomladi marca 2005 na laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v Ljubljani ter na domačem vrtu v Vižmarjih. Semen, obsevanih z odmerkom 300 radov (oznaka A) nismo posejali, ker je test kalivosti pokazal, da med temi rastlinami ter kontrolo ni bilo nobene bistvene razlike, ki bi bila pomembna za naš poskus. Na laboratorijskem polju smo tako semena (tako kontrole kot obsevana) razdelili v po štiri bloke ter jih sejali v vrste po naključnem vrstnem redu. Na začetku prve in na koncu zadnje ponovitve smo naredili dodatno vrsto, kjer smo posejali neobsevano seme (slika 2). Teh rastlin nismo obravnavali v poskusu, posejali smo jih le zaradi zaščite.



slika 2: Razporeditev semena v štiri ponovitve na laboratorijskem polju Biotehniške fakultete

V Vižmarjih smo semena posejali v dve gredici, in sicer v prvo eno ponovitev, v drugo pa po dve ponovitvi obsevanega semena ter kontrole. Tudi tu smo na koncu in na začetku ponovitev naredili dodatno vrsto, kamor smo posejali kontrolno seme zaradi zaščite (slika 3). Rastline smo v času od vznika pa do zrelosti občasno zalivali ter odstranjevali plevel.

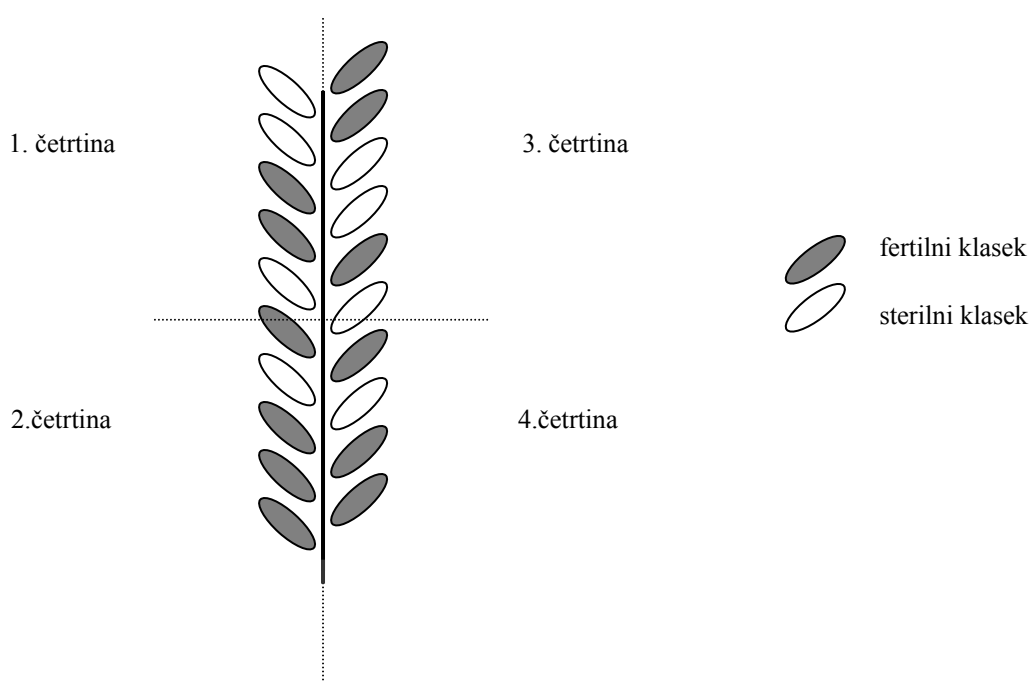


slika 3: Razporeditev semena v dve gredici na vrtu v Vižmarjih

Rastline smo pobirali ob zrelosti v prvi polovici julija 2005. Odločili smo se, da rastlin, obsevanih z odmerkom 1000 radov (oznaka B) ne bomo pobrali, saj se fenotipsko niso razlikovale od neobsevanih (kontrole). Izkopali smo cele rastline s šopom korenin vred ter na osnovi razraščanja poganjkov ugotavljali, kateri klas je glavni in kateri so stranski. Pri vsaki ponovitvi in vsakem testiranju (različni odmerki sevanja skupaj s kontrolo) smo pri vsaki rastlini razdelili klase na glavni ter stranske ter jih spravili v ustrezno označene papirnate vrečke. Da bi ločili stranske od glavnega, smo glavne klase posebej označili. Vrečke posameznega testiranja in ponovitve smo spravili v kartonske škatle z ustrezno oznako (npr. C1=testiranje C, 1. ponovitev; K2=testiranje K, 2. ponovitev; 2E1T=2. gredica, testiranje E, 1. ponovitev, ...), le-te pa shranili na ustrezno mesto, kjer so bili klasi zaščiteni pred morebitnimi škodljivci.

3.2 OBDELAVA KLASOV

V začetku oktobra 2005 smo se lotili obdelave klasov. Iz vsake vrečke smo za vsak klas posebej (tako glavni kot stranske) na poseben diagram nanašali podatke o številu vseh klaskov, o številu in legi fertlnih klaskov (klaskov s semenom) ter o številu in legi sterilnih klaskov (klaski brez semena). Prazna mesta na klasu smo označili kot fertlne klaske (s semenom), saj so bili najverjetneje odgrizeni od žuželk in ptičev. Vsak klas smo razdelili na četrtine (slika 4) ter podatke za vsako četrtino posebej nanašali na diagram v Excelu, pri čemer smo fertlne klaske označili z 1, sterilne pa z 0 (slika 5). Da bi ločili levo in desno stran klasa, smo za levo določili tisto, pri kateri je spodnji klasek nameščen nižje od spodnjega klaska druge (desne) polovice.



Slika 4: Razdelitev klasa na četrtine

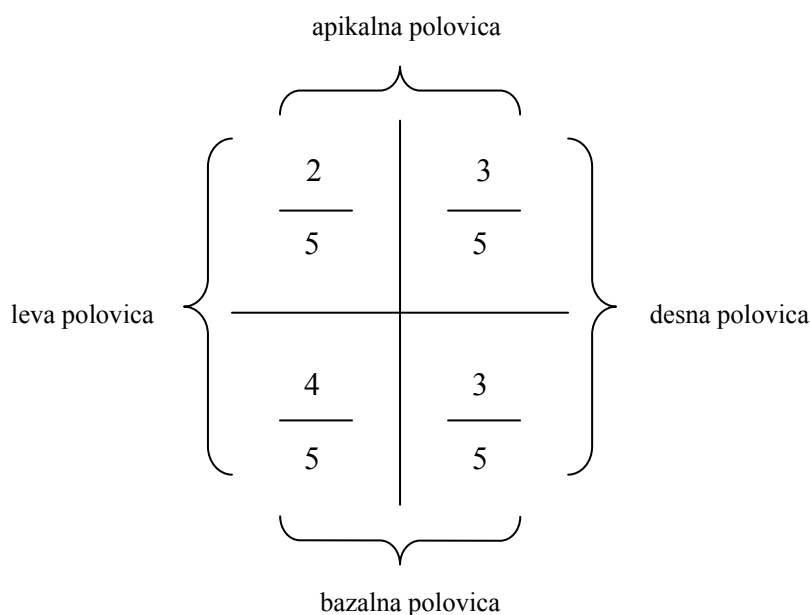
1. četrtina	2. četrtina	3. četrtina	4. četrtina
0	1	1	0
0	0	1	1
1	1	0	0
1	1	0	1
0	1	1	1

Slika 5: Vnos podatkov v diagram v Excelu (1=fertlni klasek, 0=sterilni klasek)

3.2.1 Odstotek fertlnosti

V nadaljevanju smo se lotili obdelave samo glavnih klasov, in sicer za vse ponovitve, vendar le za testiranje D (2100 radov), testiranje E (3000 radov) ter kontrolo K (neobsevano seme).

Testiranje C (1500 radov) smo izločili iz obdelave, saj je bilo iz diagramov v Excelu razvidno, da tem klasom ni bila tako izrazito prizadeta fertilitetnost. Pri vsaki ponovitvi ter testiranju D, E in K smo naključno izbrali deset vrečk oz. deset glavnih klasov ter diagrame teh klasov razdelili na dve lateralni polovici (leva in desna) ter na bazalno in apikalno polovico. Nato smo za vsako polovico posebej izračunali odstotek fertilitetnosti ter primerjali fertilitetnost polovic (slika 6). Rezultati izračunov so podani v prilogi B.



leva polovica: $6/10 * 100 \rightarrow 60,0 \%$
desna polovica: $6/10 * 100 \rightarrow 60,0 \%$
apikalna polovica: $5/10 * 100 \rightarrow 50,0 \%$
bazalna polovica: $7/10 * 100 \rightarrow 70,0 \%$

Slika 6: Razdelitev diagrama na dve lateralni ter bazalno in apikalno polovico ter izračun fertilitetnosti

3.2.2 Test hi-kvadrat

Test hi-kvadrat je statistični test, ki primerja opazovane frekvence nekega dogodka v vzorcu s frekvencami, ki bi jih pričakovali, če ne bi bilo nobene povezave med spremenljivkama v večji (vzorčeni) populaciji (Test hi-kvadrat, 2007); oziroma se uporablja, kadar želimo ugotoviti, v kolikšni meri se dejanske frekvence nekega dogodka ujemajo z pričakovanimi oz. teoretičnimi frekvencami istega dogodka (Hadživuković, 1989: 235).

Med dejanskimi (opazovanimi) in pričakovanimi (teoretičnimi) frekvencami obstajajo razlike. Z uporabo hi-kvadrat testa preverjamo, kako velike morajo biti te razlike, da zavrnilo ničelno hipotezo, ki pravi, da ni povezave med obema spremenljivkama (The Chi-Squared..., 2007).

Ideja statističnega preizkusa je naslednja: če se dejanske in pričakovane frekvence dovolj dobro ujemajo, ničelno domnevo obdržimo, sicer jo zavrnamo v korist alternativne domneve, ki je negacija ničelne. Mera ujemanja temelji na razlikah dejanskih in pričakovanih frekvenc (Košmelj, 2001: 178). Formula za izračun hi-kvadrata (Pearsonova χ^2 -statistika) je naslednja:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(f_i - f_i')^2}{f_i'} \quad \dots(1)$$

Legenda: f_i dejanska frekvenca
 f_i' pričakovana frekvenca

Izračunana vrednost hi-kvadrata se nato primerja z vrednostjo tabelarnega hi-kvadrata pri določeni verjetnosti ter določenih stopinjah prostosti (Hadživuković, 1989).

$$SP = k - 1 \quad \dots(2)$$

Legenda: k število celic
 SP stopinje prostosti

Tabelarni hi-kvadrat predstavlja kritično oz. mejno vrednost. Kritično vrednost dobimo tako, da si izberemo stopnjo značilnosti (α) in izračunamo stopinje prostosti (SP) ter vrednost hi-kvadrata odčitamo iz tabele. Za stopnjo značilnosti navadno izberemo $\alpha = 0,05$, kar pomeni, da si dovolimo 5% tveganje za napako 1. vrste (ničelno hipotezo zavrnamo, čeprav je pravilna) (Test hi-kvadrat, 2007). Pri vzorcu velikosti 100 in stopnji značilnosti 0,05 bi torej 5 statistično značilnih primerov še pomenilo naključje.

Če je izračunana vrednost hi-kvadrata manjša ali enaka kritični vrednosti, ničelno domnevo obdržimo, če pa je večja, ničelno domnevo zavrnamo v korist alternativne domneve.

$$\begin{aligned} \chi^2 \leq \chi_{\alpha}^2 (SP = k - 1) &\rightarrow H_0 \text{ obdržimo} \\ \chi^2 > \chi_{\alpha}^2 (SP = k - 1) &\rightarrow H_0 \text{ zavrnamo v korist } H_1 \text{ (Košmelj, 2001:179) } \dots(3) \end{aligned}$$

3.2.3 Računanje s hi-kvadratom

V nadaljevanju smo pri testiranju D, E in kontroli (za vse ponovitve, pri vsaki ponovitvi deset vrečk oz. glavnih klasov) računali hi-kvadrat za vsako polovico posebej v primerjavi s kontrolo ter posebej še za primerjavo lateralnih polovic ter apikalne z bazalno. Pri izbrani stopnji značilnosti $\alpha=0,05$ in stopinjah prostosti $SP=1$ je vrednost tabelarnega hi-kvadrata oz. kritične vrednosti 3,841.

3.2.3.1 Primerjava posameznih polovic obsevanih klasov s kontrolo

S pomočjo hi-kvadrata smo ugotavljali, ali obstajajo statistično značilne razlike med polovicami obsevanih klasov ter polovicami kontrolnih klasov. Za vsako polovico posebej (obe lateralni, apikalno in bazalno) smo računali hi-kvadrat ter ga primerjali z tabelarnim hi-kvadratom ($\chi^2 = 3,841$). Pri računanju smo za dejanske frekvence vzeli število polnih oz. fertlnih klaskov, za pričakovane frekvence pa število vseh klaskov skupaj (tako fertlnih kot sterilnih), saj smo pričakovali, da bodo pri kontroli (pri 0,05% tveganju oz. pri 99,95% verjetnosti) vsi klaski fertlni. Pri tem smo od absolutne razlike med dejanskimi in pričakovanimi frekvencami odšteli 0,5. To je korekcija za kontinuiteto, ki se upošteva, ker je hi-kvadrat porazdelitev kontinuirana, v tem primeru pa se uporablja za preverjanje hipoteze o nekontinuiranih podatkih (Hadživuković, 1989: 238).

Primer:

apikalna polovica: 5/10 → 5 fertlnih klaskov, 10 vseh klaskov

$$\text{izračun: } \chi^2 = \frac{(|5 - 10| - 0,5)^2}{10} = 2,025$$

Na podlagi izračunanega hi-kvadrata smo zavrnil ali obdržali ničelno hipotezo. Ničelne hipoteze so naslednje:

- $H_{0(1)}$: fertlnost lateralne (leve ali desne) polovice obsevanega klasa se ne razlikuje od fertlnosti lateralne (leve ali desne) polovice neobsevanega klasa (kontrole)
- $H_{0(2)}$: fertlnost apikalne polovice obsevanega klasa se ne razlikuje od fertlnosti apikalne polovice neobsevanega klasa (kontrole)
- $H_{0(3)}$: fertlnost bazalne polovice obsevanega klasa se ne razlikuje od fertlnosti bazalne polovice neobsevanega klasa (kontrole)

V primeru, ko je bil izračunani hi-kvadrat večji od tabelarnega, se je fertlnost določene polovice obsevanega klasa značilno razlikovala od fertlnosti določene polovice klasa kontrole. Izračuni so podani v prilogi A.

3.2.3.2 Primerjava lateralnih polovic (leve in desne) ter apikalne polovice z bazalno

S pomočjo hi-kvadrata smo ugotavljali, ali obstajajo statistično značilne razlike med obema lateralnima polovicama oz. med apikalno in bazalno polovico. Za dejanske frekvence smo vzeli število fertlnih (polnih) klaskov pri tisti polovici, kjer je bilo takšnih klaskov manj, za pričakovane frekvence pa število polnih klaskov pri tisti polovici, kjer jih je bilo več. Pri tem smo od absolutne razlike med dejanskimi in pričakovanimi frekvencami odšteli 0,5.

Primer: primerjava apikalne in bazalne polovice

apikalna: 5/10 (5 fertilnih klaskov)

bazalna: 7/10 (7 fertilnih klaskov)

$$\text{izračun: } \chi^2 = \frac{(|5 - 7| - 0,5)^2}{7} = 0,321$$

Izračunani hi-kvadrat smo primerjali z tabelarnim ($\chi_{\alpha^2} = 3,841$) ter na podlagi tega obdržali ali zavrnili ničelno hipotezo. Ničelne hipoteze so naslednje:

H₀(1): fertilnost apikalne (bazalne) polovice obsevanega klasa se ne razlikuje od fertilnosti bazalne (apikalne) polovice istega klasa

H₀(2): fertilnost ene lateralne polovice obsevanega klasa se ne razlikuje od fertilnosti druge lateralne polovice istega klasa

V primeru, ko je bil izračunani hi-kvadrat večji od tabelarnega, sta se polovici (lateralni ali apikalna z bazalno) značilno razlikovali. Izračuni so podani v prilogi A.

4 REZULTATI

Podatke, podane v prilogi A, smo zaradi lažje preglednosti združili v štiri preglednice.

Preglednici 1 in 2 združujeta podatke o številu posameznih polovic obsevanih klasov (glavnih), ki se statistično razlikujejo oz. ne razlikujejo od kontrole. Ker smo predpostavili, da se glavni klas pri ječmenu razvije iz dveh inicialnih celic, ki lahko ležita vzporedno ali navpično, smo podatke združili posebej za lateralni polovici ter posebej za apikalno in bazalno polovico ter rezultate medsebojno primerjali.

Pri obeh odmerkih hitrih nevtronov je število oz. odstotek glavnih klasov, kjer se le ena izmed polovic statistično razlikuje od kontrole, večje/i pri lateralnih polovicah.

Pri obeh odmerkih hitrih nevtronov je število oz. odstotek glavnih klasov, kjer se nobena ali pa obe polovici hkrati statistično razlikujeta od kontrole, večje/i pri apikalni in bazalni polovici.

Preglednica 1: Primerjava posameznih polovic glavnega klasa po obsevanju z odmerkom E s kontrolo

	ODMEREK E (3000 RADOV)			
	Lateralni polovici		Zgornja in spodnja polovica	
	število	odstotek	število	odstotek
A	27	39	37	53
B	31	44	17	24
C	12	17	16	23
Št. klasov skupaj	70	100	70	100

Legenda:

- A - število oz odstotek klasov, pri katerih se nobena od polovic ni statistično razlikovala od kontrole
- B - število oz odstotek klasov, pri katerih se je ena izmed polovic statistično razlikovala od kontrole
- C - število oz odstotek klasov, pri katerih sta se obe polovici statistično razlikovali od kontrole

Preglednica 2: Primerjava posameznih polovic glavnega klasa po obsevanju z odmerkom D s kontrolo

	ODMEREK D (2100 RADOV)			
	Lateralni polovici		Zgornja in spodnja polovica	
	število	odstotek	število	odstotek
A	41	59	49	70
B	22	31	13	19
C	7	10	8	11
Št. klasov skupaj	70	100	70	100

Legenda:

- A - število oz odstotek klasov, pri katerih se nobena od polovic ni statistično razlikovala od kontrole
- B - število oz odstotek klasov, pri katerih se je ena izmed polovic statistično razlikovala od kontrole
- C - število oz odstotek klasov, pri katerih sta se obe polovici statistično razlikovali od kontrole

Preglednica 3 prikazuje podatke o številu obsevanih klasov (glavnih), pri katerih je med obema lateralnima oz. med apikalno in bazalno polovico statistično značilna razlika.

Tako pri odmerku D kot pri odmerku E je več takih klasov, kjer se ena lateralna polovica značilno razlikuje od druge, kakor takih, kjer se apikalna (bazalna) značilno razlikuje od bazalne (apikalne).

Preglednica 3: Primerjava lateralnih polovic ter zgornje s spodnjo polovico pri klasih obsevanih z D in E

	ODMEREK D (2100 RADOV)	ODMEREK E (3000 RADOV)
A	8	13
B	0	3
Št. klasov skupaj	70	70

Legenda:

- A - število klasov, pri katerih se ena lateralna polovica značilno razlikuje od druge lateralne polovice
- B - število klasov, pri katerih se bazalna (apikalna) polovica značilno razlikuje od apikalne (bazalne) polovice

Preglednica 4 prikazuje odstotke glavnih klasov, kjer se ena, nobena ali obe polovici skupaj statistično razlikujeta od kontrole. Primerjane so razlike v odstotkih klasov med odmerkoma D, E in kontrolo.

Tako pri lateralnih kot pri apikalni in bazalni polovici je odstotek klasov, kjer se ena izmed polovic ali obe hkrati statistično razlikujeta od kontrole, največji pri odmerku E. Odstotek klasov, kjer se nobena izmed polovic statistično ne razlikuje od kontrole, je največji pri kontroli (100 %), nato pri odmerku D ter najmanjši pri odmerku E.

Preglednica 4: Primerjava klasov D in E s kontrolo glede na odstotek statistično značilnih polovic

	Lateralni polovici			Zgornja in spodnja polovica		
	kontrola	Odmerek D (2100 radov)	Odmerek E (3000 radov)	kontrola	Odmerek D (2100 radov)	Odmerek E (3000 radov)
A	100	59	39	100	70	53
B	0	31	44	0	19	24
C	0	10	17	0	11	23
Skupaj	100	100	100	100	100	100

Legenda:

- A - odstotek klasov, pri katerih se nobena od polovic ni statistično razlikovala od kontrole
- B - odstotek klasov, pri katerih se je ena izmed polovic statistično razlikovala od kontrole
- C - odstotek klasov, pri katerih sta se obe polovici statistično razlikovali od kontrole

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Po obsevanju semen ječmena s hitrimi nevtroni pride v nekaterih meristematskih celicah embria do dednih sprememb, ki so v vsaki od dednostno prizadetih celic seveda drugačne.

Ker se iz določenih delov meristema embria razvijajo določeni deli odraslih rastlin, je po obsevanju semen zato pričakovati, da se bo mutacija izrazila samo v nekaterih delih poganjka (mutirani segmenti). Na velikost in število različnih mutiranih segmentov v klasu vpliva število celic, ki jih je mutageni vpliv uničil, poleg tega pa tudi število inicialnih celic, iz katerih se klas razvije.

Predpostavili smo, da se glavni klas pri ječmenu razvije iz približno dveh inicialnih celic, bodisi ležečih vzporedno ali navpično. Pri primerjavi razlik v fertilitnosti lateralnih polovic z razlikami fertilitnosti med apikalno in bazalno polovico (glede na kontrolo) je pri obeh odmerkih ugotovljeno, da so med obema lateralnima polovicama večje razlike kakor pa med apikalno in bazalno. Tako pri odmerku D kot pri odmerku E je bil odstotek klasov, kjer se je le ena izmed polovic statistično razlikovala od kontrole, večji pri opazovanju lateralnih polovic, medtem ko je bil odstotek klasov, kjer se nobena ali pa obe polovici hkrati statistično razlikujeta od kontrole, večji v primeru bazalne in apikalne polovice. To bi pomenilo, da je bila stopnja prizadetosti fertilitnosti bolj enakomerno porazdeljena med apikalno in bazalno polovico (ali sta bili obe približno enako prizadeti ali pa ne), medtem ko je bila pri lateralnih polovicah ena polovica bolj prizadeta od druge. To potrjuje, da v razvoju apeksa ječmena prej nastopi razdelitev celic za obe lateralni polovici, nato pa šele razdelitev celic na zgornjo in spodnjo polovico klasa. Tudi pri primerjavi razlik v fertilitnosti posameznih polovic (apikalne z bazalno ter lateralne z lateralno) pri obsevanih klasih so pri obeh odmerkih večje statistične razlike med lateralnima polovicama.

Obsevanje semen povzroča v celicah embria določene genetske spremembe in s tem posledično vpliva na različne spremembe, npr. višino rastlin, dolžino korenin, kalitev, število klasov, število klaskov, sposobnost preživetja,... Pri tem se postavlja vprašanje, ali večji odmerek sevanja pomeni tudi večjo stopnjo prizadetosti.

Primerjane so bile razlike v fertilitnosti med klasi D in E s kontrolo. Ugotovljeno je bilo, da je odstotek klasov, kjer sta se obe ali ena polovica statistično razlikovala od kontrole, največji pri odmerku E (3000 radov), medtem ko je bil odstotek klasov, kjer se nobena od polovic ni statistično razlikovala od kontrole, seveda največji pri kontroli (100%), nato pri odmerku D in najmanjši pri odmerku E. Torej se je z večanjem odmerka hitrih nevtronov večala tudi stopnja prizadetosti fertilitnosti, ki je bila največja pri klasih rastlin, katerih semena so bila obsevana z odmerkom E, medtem ko klasi kontrolnih rastlin niso bili prizadeti. To potrjuje, da je sevanje bilo vzrok znižane fertilitnosti klasov.

5.2 SKLEPI

Na podlagi rezultatov lahko preverimo pravilnost na začetku postavljenih hipotez.

Hipoteza 1 (glavni klas se je razvil iz pbl. dveh inicialnih celic, ki v embriu ležita vodoravno oz. ena zraven druge) se potrди. Pri raziskavi je bilo ugotovljeno, da pri razvoju apeksa pri ječmenu najprej nastopi delitev celic za obe lateralni polovici, nato pa šele za zgornjo in spodnjo polovico klasa. Iz tega lahko sklepamo, da inicialni celici v embriu ležita vzporedno, kar je tudi v skladu z biološkimi zakonitostmi.

Hipoteza 2 (glavni klas se je razvil iz pbl. dveh inicialnih celic, ki v embriu ležita navpično oz. ena nad drugo) se zavrne na podlagi potrditve hipoteze 1.

Hipoteza 3 (sevanje vpliva na slabšo fertilnost: pri večjem odmerku bo fertilnost bolj prizadeta.) se potrди. Fertilnost glavnih klasov je bila bolj prizadeta pri rastlinah, zraslih iz semen obsevanih pri odmerku E (3000 radov) kakor pa pri odmerku D (2100 radov), medtem ko klasi neobsevanih rastlin niso bili prizadeti. Iz tega lahko sklepamo, da sevanje vpliva na slabšo fertilnost ter da se z večanjem odmerka fertilnost slabša.

6 POVZETEK

Ječmen je stara in dolgo znana poljščina. Spada v družino trav oz. *Poaceae*. Uporablja se v različne namene in sicer pri proizvodnji piva, za prehrano ljudi, krmo živalim, proizvodnjo škroba in alkohola, v zdravstvu, ... Od vseh poljščin je genetsko najbolj proučen.

Glede na valovno dolžino valovanja in z njo povezano energijo delcev razlikujemo neionizirno ter ionizirno sevanje, kamor prištevamo poleg rentgenskih in gama žarkov tudi sevanje delcev, torej alfa, beta ter nevtronsko sevanje. Obsevanje semen povzroča v celicah embria določene genetske spremembe in s tem posledično vpliva na različne spremembe, npr. višino rastlin, dolžino korenin, kalitev, število klasov, število klaskov, sposobnost preživetja, sterilnost...

Namen raziskave je bil ugotoviti, kako je obsevanje semen ječmena s hitrimi nevtroni vplivalo na himernost ter na fertilitnost oz. sterilitnost glavnih klasov rastlin prve generacije (v nadaljevanju M1 generacije) ter ali se je s povečevanjem odmerka večala stopnja prizadetosti v fertilitnosti klasov. Predpostavili smo, da se glavni klas razvije iz približno dveh inicialnih celic.

Seme dvovrstne jare sorte ječmena 'Ortega' je bilo obsevano v jedrskem reaktorju Inštituta Jožef Stefan pri različnih odmerkih hitrih nevtronov, in sicer 300 radov (oznaka A), 1000 radov (oznaka B), 1500 radov (oznaka C), 2100 radov (oznaka D) in 3000 radov (oznaka E). Obsevano seme (razen A) ter seme kontrole (oznaka K) smo posejali na dveh lokacijah v večih ponovitvah. Rastline smo pobrali v zrelosti ter na osnovi razraščanja poganjkov ugotavljali, kateri klas je glavni in kateri so stranski. Klase rastlin vsake ponovitve ter vsakega testiranja smo shranili v škatle z ustrezno oznako. Ko so bili klasi suhi, smo za vsak klas posebej na diagram v Excelu nanašali podatke o številu vseh klaskov, legi in številu fertilitnih klaskov (klaski s semenom) ter legi in številu sterilitnih klaskov (klaski brez semena).

V nadaljevanju smo se lotili obdelave samo glavnih klasov, in sicer za vse ponovitve, a le za testiranje D (2100 radov), testiranje E (3000 radov) ter kontrolo K (neobsevano seme). Pri vsaki ponovitvi ter testiranju smo naključno izbrali deset vrečk oz. deset glavnih klasov ter diagrame teh klasov razdelili na dve lateralni polovici (leva in desna) ter na bazalno in apikalno polovico. Z uporabo hi-kvadrat testa smo ugotavljali, ali obstajajo statistično značilne razlike v fertilitnosti med posameznimi polovicami obsevanih klasov v primerjavi s kontrolo ter ali obstajajo statistično značilne razlike med obema lateralnima polovicama oz. med apikalno in bazalno.

Glede na rezultate je bilo ugotovljeno, da so bile tako pri klasih D kot pri klasih E večje razlike v fertilitnosti (v primerjavi s kontrolo) med obema lateralnima polovicama, kakor pa med apikalno in bazalno. Isti rezultat smo dobili pri primerjavi fertilitnosti posameznih polovic (lateralne z lateralno in apikalne z bazalno) obsevanih klasov. Iz teh rezultatov smo sklepali, da v razvoju apeksa ječmena prej nastopi razdelitev celic za obe lateralni polovici, nato pa šele razdelitev celic na zgornjo in spodnjo polovico klasa ter da se glavni klas razvije iz približno dveh inicialnih celic, ki v embriu ležita vzporedno.

Glede na rezultate je bilo ugotovljeno tudi, da obsevanje semen vpliva na slabšo fertilnost klasov ter da se s povečevanjem odmerka fertilnost slabša. Klasi rastlin, katerih semena so bila obsevana pri največjem odmerku (3000 radov), so bili bolj prizadeti kakor tisti, katerih semena so bila obsevana z manjšim odmerkom (2100 radov). Pri klasih kontrolnih (neobsevanih) rastlin fertilnost ni bila prizadeta.

7 VIRI

- Al-Sabti K. 1993. Sevanje in citogenetske poškodbe. Ljubljana, samozaložba: 84 str.
- Amon T. 2004. Pogostost mutacij. Genetika
<http://www.eduanim.com/genetika/genetTekstil/genet0890.htm> (1. sep. 2007)
- Borojević K. 1986. Geni i populacija. Novi Sad, Forum: 541 str.
- Borojević K., Šesek S. 1981. Process influencing the evolution of irradiated wheat populations. V: Induced mutations - a tool in plant research. Vienna, International Atomic Energy Agency: 127-141.
- Briggs R. W., Constantin M. J. 1977. Mutagenic radiation: Radiation types and radiation sources. V: Manual on mutation breeding. Vienna, International Atomic Energy Agency: 7-21.
- Cepitev in jedrska verižna reakcija. 2007. Nuklearna Elektrarna Krško
http://www.nek.si/sl/o_jedrski_tehnologiji/jedrski_reaktor/cepitev_in_jedrska_verizna_reakcija/ (31. avg. 2007)
- Eriksson G., Lindgren D. 1977. Mutagen effects in the first generation after seed treatment: Chimeras. V: Manual on mutation breeding. Vienna, International Atomic Energy Agency: 98-103.
- Gaul H. 1977a. Mutagen effects in the first generation after seed treatment: Plant injury and lethality. V: Manual on mutation breeding. Vienna, International Atomic Energy Agency: 87-91.
- Gaul H. 1977b. Mutagen effects in the first generation after seed treatment: Cytological effects. V: Manual on mutation breeding. Vienna, International Atomic Energy Agency.: 91-96.
- Gaul H. 1977c. Mutagen effects in the first generation after seed treatment: Sterility. V: Manual on mutation breeding. Vienna, International Atomic Energy Agency.: 96-98.
- Hadživuković S. 1989. Statistika. Beograd, Privredni pregled: 271 str.
- Haskins F. A., Merwyn Davidson F., Russell Beers J. 1958. Influence of seed irradiation with x-rays and thermal neutrons upon cell size and mitotic activity in root tips of maize. The American Naturalist, 92, 867: 365-369.
- Jedrska cepitev. 2007. Wikipedija (18. apr. 2007)
http://sl.wikipedia.org/wiki/Jedrska_cepitev (31. avg. 2007)
- Jedrski reaktor. 2007. Nuklearna Elektrarna Krško
http://www.nek.si/sl/o_jedrski_tehnologiji/jedrski_reaktor/ (31. avg. 2007)

- Joshua D. C., Bhatia C. R. 1984. Identification of mutants at different phenotypic levels. V: Selection in mutation breeding. Vienna, International Atomic Energy Agency.: 121-131.
- Kocjan Ačko D. 1999. Ječmen. Naša žena, 99, 2: 83-84.
- Košmelj K. 2001. Uporabna statistika. Ljubljana, Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani: 249 str.
- Kreft I. 1972. Kromosomske mutacije in himernost klasov pri ječmenu. Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Kmetijstvo, 19: 198-206.
- Micke A. 1984. Introduction. V: Selection in mutation breeding. Vienna, International Atomic Energy Agency.: 1-4.
- Rozman L. 2004. Študijsko gradivo za vaje iz predmeta 'Žlahtnjenje rastlin'. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 63 str.
- Sadar V. 1949. Naše žito. Ljubljana, Kmečki glas: 244 str.
- Scholz F., Künzel G. 1981. Induced chromosome and gene mutations for specific goals in barley genetics and breeding. V: Induced mutations - a tool in plant research. Vienna, International Atomic Energy Agency.: 23- 34.
- Sevanje. 2007. Wikipedija (20.mar. 2007)
<http://sl.wikipedia.org/wiki/Sevanje> (5. sep. 2007)
- Tajnšek A. 1980. Strnine in koruza v Sloveniji. Ljubljana, Kmečki glas: 167 str.
- Temelji radiobiologije. 2004. Medenosrce
<http://medenosrce.dsms.net/pogled.asp?ID=625> (31. avg. 2007)
- Test hi-kvadrat. 2006. E-student (10. okt. 2006)
http://www.e-student.si/Test_hi-kvadrat (6. feb. 2007)
- The Chi- Squared (χ^2) test. 2007.
http://www.cas.lancs.ac.uk/short_courses/countdown.php?url=notes/intro_spss/session8.pdf
(6. feb. 2007)
- Zdravec D. 2004. Setev jarih žit. Poljedeljski nasveti št. 1. Kmetijsko gozdarski zavod Maribor
<http://www.kmetzav-mb.si/nasveti/2004Polje1.pdf> (9. sep. 2007)
- Walther H. 1984. Advances in protein improvement of spring barley by mutation breeding based on a quantitative genetic approach with integrated selection for protein content, lysine content and grain yield. V: Cereal grain protein improvement. Vienna, International Atomic Energy Agency: 37-57.

ZAHVALA

Za strokovno pomoč in nasvete pri izdelavi diplomske naloge se iskreno zahvaljujem
svojemu mentorju akademiku prof. dr. Ivanu Kreftu.

Zahvaljujem se svojim staršem za vso njihovo podporo, potrpežljivost in finančno pomoč v
študijskih letih.

Posebej pa se zahvaljujem še bratu Žigu, sestrični Anji in Borisu Babajku, ki so vsak na
svoj način pomagali pri izdelavi te diplomske naloge.

PRILOGA A

Izračun hi-kvadrata za posamezne polovice klasov ter za primerjavo lateralnih in apikalne z bazalno polovico pri kontroli, odmerku D in odmerku E

Kontrola

Vrečka	Leva polovica	Desna polovica	Apikalna polovica	Bazalna polovica	Leva:desna	Apikalna:bazalna
1K1T						
16. vr.	0,023	0,023	0,025	0,021	0,023	0,023
14. vr.	0,021	0,023	0,023	0,021	0,021	0,021
11. vr.	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
21. vr.	0,023	0,023	0,021	0,025	0,023	0,521
7. vr.	0,025	0,204	0,025	0,023	0,025	0,025
23. vr.	0,023	0,023	0,021	0,025	0,023	0,187
13. vr.	0,021	0,023	0,187	0,023	0,023	0,023
15. vr.	0,021	0,021	0,023	0,019	0,021	0,021
4. vr.	0,204	0,025	0,023	0,025	0,025	0,025
18. vr.	0,173	0,521	0,019	1,021	0,204	1,021
2K1T						
19. vr.	0,023	0,023	0,021	0,025	0,023	0,187
12. vr.	0,023	0,025	0,025	0,023	0,025	0,025
4. vr.	0,021	0,023	0,021	0,023	0,023	0,023
3. vr.	0,025	0,025	0,025	0,025	0,023	0,023
17. vr.	0,023	0,025	0,025	0,023	0,025	0,025
18. vr.	0,021	0,023	0,021	0,023	0,187	0,023
20. vr.	0,023	0,025	0,023	0,025	0,023	0,023
8. vr.	0,028	0,023	0,025	0,031	0,028	0,028
11. vr.	0,031	0,281	0,031	0,281	0,036	0,036
13. vr.	0,028	0,028	0,031	0,225	0,031	0,031
2K2T						
32. vr.	0,187	0,021	0,187	0,021	0,187	0,187
26. vr.	0,187	0,021	0,021	0,021	0,187	0,023
24. vr.	0,023	0,025	0,023	0,025	0,025	0,025
20. vr.	0,023	0,025	0,025	0,023	0,025	0,025
8. vr.	0,025	0,204	0,025	0,204	0,023	0,023
12. vr.	0,031	0,031	0,031	0,281	0,036	0,281
15. vr.	0,023	0,028	0,025	0,031	0,028	0,625
21. vr.	0,023	0,028	0,025	0,031	0,028	0,625
37. vr.	0,023	0,028	0,023	0,028	0,028	0,028
40. vr.	0,021	0,021	0,021	0,023	0,023	0,187

‘se nadaljuje’

‘nadaljevanje’

Vrečka	Leva polovica	Desna polovica	Apikalna polovica	Bazalna polovica	Leva:desna	Apikalna:bazalna
K1						
5. vr.	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018
9. vr.	0,204	0,023	0,021	0,225	0,025	0,568
10. vr.	0,019	0,021	0,018	0,023	0,019	0,446
12. vr.	0,019	0,021	0,019	0,187	0,021	0,481
13. vr.	0,019	0,018	0,019	0,018	0,018	0,018
14. vr.	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018
15. vr.	0,150	0,018	0,018	0,017	0,018	0,018
16. vr.	0,019	0,019	0,018	0,021	0,019	0,019
17. vr.	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018
11. vr.	0,018	0,018	0,018	0,161	0,019	0,161
K2						
24. vr.	0,019	0,018	0,016	0,019	0,017	0,391
21. vr.	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018
23. vr.	0,019	0,021	0,018	0,023	0,019	0,446
17. vr.	0,018	0,019	0,018	0,019	0,018	0,018
14. vr.	0,018	0,019	0,018	0,019	0,019	0,161
4. vr.	0,204	0,023	0,021	0,625	0,025	1,687
1. vr.	0,023	0,023	0,021	0,225	0,025	1,021
10. vr.	0,019	0,019	0,018	0,021	0,019	0,019
22. vr.	0,018	0,019	0,018	0,019	0,019	0,019
12. vr.	0,017	0,017	0,016	0,018	0,017	0,017
K3						
14. vr.	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018
11. vr.	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021
5. vr.	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021
3. vr.	0,025	0,025	0,025	0,225	0,023	0,225
6. vr.	0,019	0,021	0,021	0,019	0,021	0,021
8. vr.	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018
7. vr.	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021
2. vr.	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018	0,018
1. vr.	0,481	0,942	0,187	1,446	0,025	0,025
4. vr.	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021
K4						
2. vr.	0,019	0,019	0,018	0,021	0,019	0,446
3. vr.	0,368	0,016	0,132	0,141	0,017	0,017
5. vr.	0,017	0,017	0,018	0,016	0,018	0,150
8. vr.	0,019	0,019	0,018	0,021	0,019	0,446
11. vr.	0,019	0,204	0,021	0,521	0,521	0,521
15. vr.	0,019	0,187	0,021	0,173	0,187	0,023
18. vr.	0,023	0,025	0,023	0,025	0,025	0,204
20. vr.	0,173	0,021	0,021	0,019	0,021	0,021
25. vr.	0,019	0,018	0,019	0,018	0,019	0,161
26. vr.	0,023	0,204	0,023	0,204	0,025	0,025

Odmerek D (2100 radov)

Vrečka	Leva polovica	Desna polovica	Apikalna polovica	Bazalna polovica	Leva:desna	Apikalna:bazalna
1DIT						
2. vr.	0,481	2,520	1,021	1,557	1,225	0,031
6. vr.	7,520	0,023	1,687	1,841	6,568	0,036
8. vr.	1,841	2,750	2,521	2,025	0,042	0,042
9. vr.	3,520	0,023	1,557	0,225	2,750	0,031
13. vr.	0,481	3,520	1,557	1,687	2,025	0,031
14. vr.	3,520	2,521	1,114	5,557	0,042	0,893
21. vr.	4,687	1,114	3,841	1,687	0,893	0,893
23. vr.	3,520	0,023	1,114	0,521	2,750	0,350
12. vr.	1,114	0,025	1,114	0,025	0,250	0,250
19. vr.	0,521	0,023	0,204	0,187	0,025	0,025
2DIT						
3. vr.	5,113	0,225	2,750	1,225	2,531	0,042
6. vr.	2,521	3,841	2,327	4,225	0,375	1,750
12. vr.	0,225	0,025	0,025	0,225	0,028	0,028
14. vr.	0,225	0,225	0,225	0,225	0,031	0,031
15. vr.	0,019	0,173	0,018	0,187	0,021	0,481
16. vr.	0,025	2,025	0,625	0,225	2,025	0,031
17. vr.	0,021	0,187	0,021	0,021	0,187	0,023
9. vr.	0,187	0,187	0,481	0,023	0,025	0,025
5. vr.	0,023	0,568	0,025	0,521	0,225	0,023
1. vr.	0,025	0,225	0,025	0,225	0,028	0,028
2D2T						
4. vr.	1,841	0,204	0,025	3,520	0,694	2,025
5. vr.	2,327	0,021	0,187	1,557	1,114	0,225
9. vr.	1,841	1,021	1,021	1,841	0,281	0,281
10. vr.	2,750	1,021	1,687	2,521	0,781	0,036
11. vr.	1,114	1,225	1,114	1,225	0,036	0,036
15. vr.	0,025	9,025	2,025	3,025	8,027	0,050
17. vr.	8,204	0,025	1,225	2,750	7,225	0,042
1. vr.	0,204	0,025	0,025	0,568	0,023	0,225
18. vr.	0,225	0,625	0,025	1,225	0,031	0,694
19. vr.	0,625	0,023	0,023	0,225	1,114	0,225

Opombe: krepko tiskana števila pomenijo statistično značilne razlike

`se nadaljuje`

‘nadaljevanje’

Vrečka	Leva polovica	Desna polovica	Apikalna polovica	Bazalna polovica	Leva:desna	Apikalna:bazalna
D1						
6. vr.	5,557	0,481	3,018	1,687	3,025	0,036
8. vr.	0,204	3,841	0,521	3,025	2,250	2,250
9. vr.	1,687	4,687	3,250	2,750	0,893	0,042
11. vr.	1,021	0,568	0,942	0,625	0,031	0,250
12. vr.	2,161	6,942	4,327	4,017	2,531	0,042
13. vr.	2,017	2,017	3,514	0,875	0,023	0,225
14. vr.	7,520	4,687	6,020	6,020	0,562	0,083
15. vr.	7,875	6,446	7,350	6,942	0,062	0,062
17. vr.	10,173	1,021	5,557	3,520	5,281	0,050
19. vr.	4,017	5,161	6,017	3,250	0,042	0,042
D2						
2. vr.	6,016	7,875	9,765	4,326	0,450	0,450
4. vr.	3,018	0,942	2,161	1,557	0,250	0,031
6. vr.	4,326	3,520	5,160	2,750	0,050	0,050
8. vr.	5,113	1,841	2,521	4,225	1,042	1,042
9. vr.	8,816	0,018	3,515	0,942	7,875	0,028
13. vr.	4,017	13,017	6,446	9,446	5,040	,0562
14. vr.	7,520	7,520	11,020	4,687	0,125	3,062
16. vr.	2,017	3,018	6,016	0,446	0,250	2,750
18. vr.	6,568	0,023	1,021	3,025	5,625	1,531
22. vr.	7,875	0,019	2,161	1,557	6,940	0,031
D3						
1. vr.	1,841	0,025	0,025	1,841	1,225	1,225
2. vr.	4,687	7,520	6,020	6,020	0,562	0,083
4. vr.	7,875	0,521	2,161	4,687	3,360	1,531
6. vr.	6,020	2,521	4,326	3,841	1,042	0,050
9. vr.	3,520	0,021	1,557	0,568	2,750	0,031
11. vr.	9,025	3,360	8,027	4,225	2,083	2,083
20. vr.	2,327	6,942	2,161	7,520	1,750	3,780
7. vr.	0,018	3,250	0,173	2,161	3,250	0,568
10. vr.	3,250	0,021	0,875	1,114	1,841	0,625
13. vr.	0,481	0,187	0,019	1,687	0,025	2,327
D4						
2. vr.	2,817	4,816	3,515	4,017	0,281	0,281
8. vr.	1,114	6,568	2,025	4,687	2,893	0,050
12. vr.	3,841	0,023	1,021	1,225	3,025	0,281
14. vr.	5,557	0,187	1,446	2,750	3,025	1,361
17. vr.	3,018	0,446	1,446	1,446	1,114	0,023
18. vr.	0,021	2,521	1,021	0,187	2,521	0,225
20. vr.	3,250	0,021	0,875	0,568	2,521	0,225
19. vr.	1,021	0,187	0,521	0,521	0,225	0,023
13. vr.	2,161	4,017	3,018	4,017	0,281	0,036
1. vr.	1,687	3,841	2,521	2,750	0,893	0,042

Opombe: krepko tiskana števila pomenijo statistično značilne razlike

Odmerek E (3000 radov)

Vrečka	Leva polovica	Desna polovica	Apikalna polovica	Bazalna polovica	Leva:desna	Apikalna:bazalna
1E1T						
3. vr.	1,841	9,025	2,025	8,204	5,040	2,450
5. vr.	0,025	1,114	0,225	0,204	0,625	0,028
9. vr.	0,023	5,625	2,025	0,568	6,568	0,781
11. vr.	2,025	3,841	1,225	5,113	0,050	1,042
19. vr.	1,225	1,114	3,841	0,025	0,036	2,250
10. vr.	1,841	0,023	0,025	1,987	1,225	0,250
1. vr.	2,531	1,531	2,531	1,531	0,062	0,062
4. vr.	3,781	0,036	0,893	0,781	2,893	0,050
8. vr.	2,250	2,025	4,225	1,841	0,050	1,042
17. vr.	3,781	7,030	3,781	7,030	1,125	1,125
2E1T						
1. vr.	5,113	3,841	4,687	4,225	0,062	0,062
3. vr.	9,025	0,023	2,025	2,250	8,027	0,050
2. vr.	5,113	2,75	4,225	3,520	0,450	0,450
5. vr.	3,520	8,204	4,687	6,658	2,450	0,562
10. vr.	1,114	7,225	1,841	5,625	4,320	2,042
11. vr.	4,687	5,113	6,020	3,841	0,062	0,062
18. vr.	9,025	0,025	2,025	3,025	8,027	0,050
3. vr.	9,025	0,023	2,025	2,250	8,027	0,050
14. vr.	0,023	0,225	0,025	0,568	0,225	0,225
15. vr.	0,025	3,361	0,625	1,361	3,361	0,321
2E2T						
5. vr.	14,016	7,875	11,390	10,170	2,083	0,125
10. vr.	3,520	1,114	4,687	0,568	0,321	1,531
12. vr.	0,942	1,021	2,521	0,173	0,028	1,841
19. vr.	0,568	0,204	0,021	2,025	0,028	3,520
21. vr.	1,841	1,114	1,841	1,114	0,036	0,036
24. vr.	0,225	1,841	2,750	0,025	0,281	1,361
30. vr.	1,841	0,025	0,025	2,750	0,694	2,025
35. vr.	0,023	1,114	0,021	1,114	1,114	1,114
23. vr.	2,750	0,204	1,841	0,568	1,361	0,281
3. vr.	0,521	0,023	0,021	0,568	0,204	1,021

Opombe: krepko tiskana števila pomenijo statistično značilne razlike

se nadaljuje

˘nadaljevanje˘

Vrečka	Leva polovica	Desna polovica	Apikalna polovica	Bazalna polovica	Leva:desna	Apikalna:bazalna
E1						
1. vr.	11,020	10,020	11,020	10,020	/(0)	/(0)
3. vr.	1,021	3,520	1,687	2,521	0,781	0,036
5. vr.	1,021	3,841	1,687	2,750	1,531	0,321
7. vr.	12,020	12,020	13,017	11,020	/(0)	/(0)
8. vr.	5,160	1,021	3,250	2,327	0,781	0,036
11. vr.	0,942	4,017	1,446	3,250	0,694	0,694
12. vr.	3,750	14,016	9,760	6,446	6,036	0,062
14. vr.	7,225	7,225	5,625	9,025	0,250	1,125
16. vr.	6,568	6,568	7,225	6,020	0,125	0,75
18. vr.	1,446	0,446	0,018	4,018	0,204	4,018
E2						
3. vr.	4,327	0,021	0,173	2,521	3,520	1,841
4. vr.	8,816	0,161	3,51	2,327	6,020	0,031
7. vr.	0,021	3,520	0,521	1,021	3,520	0,028
9. vr.	7,875	2,327	5,160	4,326	1,750	0,050
8. vr.	6,020	0,023	1,841	1,021	5,113	0,281
14. vr.	5,113	0,025	2,025	1,114	3,361	0,321
15. vr.	4,687	2,521	6,568	1,557	0,375	3,781
16. vr.	1,841	3,841	2,750	2,750	0,375	0,050
17. vr.	4,816	2,017	0,446	3,025	0,694	3,841
13. vr.	3,250	0,942	0,942	3,250	0,694	0,694
E3						
5. vr.	0,015	5,640	1,779	1,266	5,640	0,023
6. vr.	8,200	2,75	5,625	4,687	2,450	0,562
7. vr.	12,020	10,020	10,020	12,020	/(0)	/(0)
9. vr.	4,326	3,250	4,326	3,250	0,042	0,042
10. vr.	2,521	1,021	1,687	1,687	0,281	0,036
12. vr.	4,326	2,750	2,750	4,326	0,050	0,050
14. vr.	4,687	2,521	4,687	2,521	0,375	0,375
16. vr.	10,173	3,520	11,020	3,250	2,450	5,060
17. vr.	11,020	2,327	12,020	1,687	6,035	6,035
19. vr.	4,687	0,023	1,021	1,841	3,025	0,281
E4						
2. vr.	9,025	5,113	8,200	5,625	2,083	0,125
4. vr.	11,160	7,520	10,170	8,480	0,125	0,125
8. vr.	9,187	8,480	6,940	11,020	0,125	2,083
9. vr.	0,568	3,841	2,750	1,114	1,531	0,321
13. vr.	7,520	6,020	7,520	6,020	0,083	0,083
15. vr.	5,113	5,113	6,020	4,225	0,083	0,083
16. vr.	8,204	0,568	3,520	3,025	5,280	0,050
21. vr.	8,204	1,114	1,841	6,568	4,320	2,042
18. vr.	3,841	5,113	6,020	3,025	0,062	0,062
11. vr.	0,942	1,557	0,446	2,521	0,028	1,841

Opombe: krepko tiskana števila pomenijo statistično značilne razlike

PRILOGA B

Odstotek fertilitnosti posameznih polovic klasov pri kontroli, odmerku
D in odmerku E

Kontrola

Vrečka	Leva polovica	Desna polovica	Apikalna polovica	Bazalna polovica
1K1T				
16. vr.	90,9	100,0	100,0	91,7
14. vr.	100,0	100,0	100,0	100,0
11. vr.	100,0	90,0	100,0	90,0
21. vr.	100,0	90,9	100,0	90,0
7. vr.	100,0	81,1	90,0	90,9
23. vr.	100,0	100,0	100,0	100,0
13. vr.	91,7	90,9	83,3	100,0
15. vr.	100,0	91,6	100	92,3
4. vr.	81,8	100,0	90,9	90,0
18. vr.	84,6	75,0	92,3	66,6
2K1T				
19. vr.	100,0	100,0	100,0	100,0
12. vr.	90,9	100,0	100,0	90,9
4. vr.	91,6	100,0	91,6	100,0
3. vr.	90,0	90,0	90,0	90,0
17. vr.	90,9	100,0	100,0	90,9
18. vr.	100,0	90,9	91,6	100,0
20. vr.	100,0	100,0	100,0	100,0
8. vr.	88,8	100,0	90,0	100,0
11. vr.	87,5	75,0	87,5	75,0
13. vr.	88,8	88,8	100,0	80,0
2K2T				
32. vr.	83,3	100,0	83,3	100,0
26. vr.	83,3	100,0	91,7	91,7
24. vr.	90,9	100,0	90,9	100,0
20. vr.	90,9	100,0	100,0	90,9
8. vr.	90,0	81,8	90,0	81,8
12. vr.	87,5	87,5	100,0	75,0
15. vr.	100,0	88,8	100,0	87,5
21. vr.	100,0	88,8	100,0	87,5
37. vr.	100,0	88,8	100,0	88,8
40. vr.	91,6	100,0	100,0	90,9

se nadaljuje

‘nadaljevanje’

Vrečka	Leva polovica	Desna polovica	Apikalna polovica	Bazalna polovica
K1				
5. vr.	100,0	100,0	100,0	100,0
9. vr.	81,8	90,9	91,7	80,0
10. vr.	100,0	100,0	100,0	100,0
12. vr.	92,3	91,7	100,0	83,3
13. vr.	100,0	100,0	100,0	100,0
14. vr.	92,9	100,0	92,9	100,0
15. vr.	86,7	100,0	92,9	93,3
16. vr.	100,0	92,3	92,9	100,0
17. vr.	100,0	100,0	100,0	100,0
11. vr.	92,9	92,9	100,0	85,7
K2				
24. vr.	100,0	100,0	100,0	100,0
21. vr.	100,0	100,0	100,0	100,0
23. vr.	100,0	100,0	100,0	100,0
17. vr.	100,0	100,0	100,0	100,0
14. vr.	92,8	100,0	100,0	92,3
4. vr.	81,8	90,9	100,0	70,0
1. vr.	90,9	90,9	100,0	80,0
10. vr.	100,0	92,3	92,9	100,0
22. vr.	92,9	100,0	92,9	100,0
12. vr.	100,0	93,3	93,7	100,0
K2				
14. vr.	100,0	100,0	100,0	100,0
11. vr.	100,0	100,0	100,0	100,0
5. vr.	100,0	100,0	100,0	100,0
3. vr.	90,0	90,0	100,0	80,0
6. vr.	92,3	100,0	100,0	92,3
8. vr.	100,0	92,9	100,0	92,9
7. vr.	100,0	100,0	100,0	100,0
2. vr.	92,9	100,0	92,9	100,0
1. vr.	76,9	69,2	83,3	64,3
4. vr.	100,0	91,6	100,0	91,6
K4				
2. vr.	100,0	92,3	100,0	91,7
3. vr.	82,3	93,7	88,2	87,5
5. vr.	93,3	93,3	92,9	93,7
8. vr.	100,0	92,3	100,0	91,7
11. vr.	92,3	81,8	100,0	75,0
15. vr.	92,9	83,3	91,7	84,6
18. vr.	90,9	100,0	100,0	90,0
20. vr.	84,6	100,0	91,7	92,3
25. vr.	100,0	92,9	92,3	100,0
26. vr.	90,9	81,8	90,9	81,8

Odmerek D (2100 radov)

Vrečka	Leva polovica	Desna polovica	Apikalna polovica	Bazalna polovica
1D1T				
2. vr.	76,9	50,0	66,6	61,5
6. vr.	16,6	100,0	58,3	54,5
8. vr.	54,5	45,4	50,0	50,0
9. vr.	41,6	100,0	61,5	80,0
13. vr.	76,9	41,6	61,5	58,3
14. vr.	41,6	50,0	63,6	30,8
21. vr.	33,3	63,3	36,4	58,3
23. vr.	41,6	100,0	63,6	75,0
12. vr.	63,6	90,0	63,6	90,0
19. vr.	75,0	90,9	81,8	83,3
2D1T				
3. vr.	27,3	80,0	45,5	60,0
6. vr.	50,0	36,4	53,8	30,0
12. vr.	80,0	90,0	90,0	80,0
14. vr.	80,0	80,0	80,0	80,0
15. vr.	92,3	84,6	92,8	83,3
16. vr.	100,0	50,0	70,0	80,0
17. vr.	100,0	83,3	91,6	91,6
9. vr.	83,3	83,3	76,9	90,9
5. vr.	90,9	72,7	90,0	75,0
1. vr.	90,0	80,0	90,0	80,0
2D2T				
4. vr.	54,4	81,8	100,0	41,6
5. vr.	53,8	91,6	83,3	61,5
9. vr.	54,5	66,6	66,6	54,5
10. vr.	45,5	66,6	58,3	54,5
11. vr.	63,6	60,0	63,6	60,0
15. vr.	90,0	0,0	50,0	40,0
17. vr.	9,1	100	60,0	45,5
1. vr.	81,8	90,0	100,0	72,7
18. vr.	80,0	70,0	90,0	60,0
19. vr.	70,0	100,0	90,9	80,0

`se nadaljuje`

‘nadaljevanje’

Vrečka	Leva polovica	Desna polovica	Apikalna polovica	Bazalna polovica
D1				
6. vr.	30,7	76,9	50,0	58,3
8. vr.	81,8	36,4	75,0	40,0
9. vr.	58,3	33,3	46,0	45,5
11. vr.	66,6	72,7	69,2	70,0
12. vr.	57,0	23,0	38,5	42,8
13. vr.	60,0	60,0	50,0	71,4
14. vr.	16,6	33,3	25,0	25,0
15. vr.	21,4	28,6	26,6	23,3
17. vr.	7,7	66,6	30,8	41,6
19. vr.	42,8	35,7	33,3	46,0
D2				
2. vr.	33,3	21,4	18,7	38,5
4. vr.	50,0	69,0	57,0	61,5
6. vr.	38,5	41,6	35,7	45,5
8. vr.	27,3	54,5	50,0	30,0
9. vr.	20,0	100,0	50,0	69,0
13. vr.	42,8	0,0	28,0	14,3
14. vr.	16,6	16,6	0,0	33,3
16. vr.	60,0	50,0	33,3	78,6
18. vr.	18,2	90,9	66,6	40,0
22. vr.	21,4	100,0	57,0	61,5
D3				
1. vr.	54,5	100,0	100,0	54,5
2. vr.	33,3	16,6	25,0	25,0
4. vr.	21,4	75,0	57,0	33,3
6. vr.	25,0	50,0	38,5	36,4
9. vr.	41,6	91,6	61,5	72,7
11. vr.	0,0	33,3	0,0	30,0
20. vr.	53,8	23,0	57,0	16,6
7. vr.	92,8	46,0	84,6	57,0
10. vr.	46,0	91,6	71,4	63,6
13. vr.	76,9	83,3	100,0	58,3
D4				
2. vr.	53,3	40,0	50,0	42,8
8. vr.	63,6	18,2	50,0	33,3
12. vr.	36,4	90,9	66,6	60,0
14. vr.	30,8	83,3	64,3	45,5
17. vr.	50,0	78,6	64,3	64,3
18. vr.	100,0	50,0	66,6	83,3
20. vr.	46,0	100,0	71,4	72,7
19. vr.	66,6	83,3	75,0	75,0
13. vr.	57,0	42,0	50,0	42,8
11. vr.	58,3	36,4	50,0	45,5

Odmerek E (3000 radov)

Vrečka	Leva polovica	Desna polovica	Apikalna polovica	Bazalna polovica
1E1T				
3. vr.	54,5	0,0	50,0	9,0
5. vr.	100,0	63,6	80,0	81,8
9. vr.	100,0	20,0	50,0	72,7
11. vr.	50,0	36,4	60,0	27,3
19. vr.	60,0	63,6	36,4,0	90,0
10. vr.	54,5	90,9	90,0	58,3
1. vr.	37,5	50,0	37,5	50,0
4. vr.	25,0	100,0	57,0	62,5
8. vr.	44,4	50,0	30,0	54,5
17. vr.	25,0	0,0	25,0	0,0
2E1T				
1. vr.	27,3	36,4	33,3	30,0
3. vr.	0,0,	100,0	50,0	44,4
2. vr.	27,3	45,5	30,0	41,6
5. vr.	41,6	9,0	33,3	18,2
10. vr.	63,6	10,0	54,5	20,0
11. vr.	33,3	27,3	25,0	36,4
18. vr.	0,0	90,0	50,0	40,0
3. vr.	0,0	100,0	50,0	44,4
14. vr.	90,9	80,0	100,0	72,7
15. vr.	90,0	33,3	70,0	55,5
2E2T				
5. vr.	0,0	21,4	12,5	7,7
10. vr.	41,6	63,6	33,3	72,7
12. vr.	69,0	66,6	50,0	84,6
19. vr.	72,7	81,8	100,0	50,0
21. vr.	54,5	63,6	54,5	63,6
24. vr.	80,0	54,5	45,5	90,0
30. vr.	54,5	90,0	100,0	45,5
35. vr.	100,0	63,6	91,6	63,6
23. vr.	45,5	81,8	54,5	72,7
3. vr.	75,0	100,0	100,0	72,7

`se nadaljuje`

‘nadaljevanje’

Vrečka	Leva polovica	Desna polovica	Apikalna polovica	Bazalna polovica
E1				
1. vr.	0,0	0,0	0,0	0,0
3. vr.	66,6	41,6	58,3	50,0
5. vr.	66,6	36,4	58,3	45,5
7. vr.	0,0	0,0	0,0	0,0
8. vr.	35,7	66,6	46,2	53,8
11. vr.	69,3	42,8	64,3	46,2
12. vr.	46,7	0,0	18,7	28,6
14. vr.	10,0	10,0	20,0	0,0
16. vr.	18,2	18,2	10,0	25,0
18. vr.	64,3	78,6	100,0	42,8
E2				
3. vr.	38,5	100,0	84,6	50,0
4. vr.	20,0	85,7	50,0	53,8
7. vr.	100,0	41,6	75,0	66,6
9. vr.	21,4	53,8	35,7	38,5
8. vr.	25,0	100,0	54,5	66,6
14. vr.	27,3	90,0	50,0	63,6
15. vr.	33,3	50,0	18,2	61,5
16. vr.	54,5	36,4	45,5	45,5
17. vr.	40,0	60,0	78,6	40,0
13. vr.	46,0	69,0	69,0	46,0
E3				
5. vr.	94,0	37,5	64,7	68,7
6. vr.	9,1	45,5	20,0	33,3
7. vr.	0,0	0,0	0,0	0,0
9. vr.	38,5	46,0	38,5	46,0
10. vr.	50,0	66,6	58,3	58,3
12. vr.	38,5	45,5	45,5	38,5
14. vr.	33,3	50,0	33,3	50,0
16. vr.	7,7	41,7	0,0	46,0
17. vr.	0,0	53,8	0,0	58,3
19. vr.	33,3	90,9	66,6	54,5
E4				
2. vr.	0,0	27,3	9,1	20,0
4. vr.	7,0	16,6	7,7	15,4
8. vr.	8,3	15,4	23,0	0,0
9. vr.	72,7	36,4	45,5	63,6
13. vr.	16,6	24,0	16,6	25,0
15. vr.	27,3	27,3	25,0	30,0
16. vr.	9,1	72,7	41,7	40,0
21. vr.	9,1	63,6	54,5	18,2
18. vr.	36,4	27,3	25,0	40,0
11. vr.	58,3	36,4	50,0	45,5