

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Hana SHAAR

**VPLIV HITRIH NEVTRONOV NA
RAST IN RAZVOJ RASTLIN JEÈMENA**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

Ljubljana, 2007

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

**VPLIV HITRIH NEVTRONOV NA RAST IN RAZVOJ
RASTLIN JEÈMENA**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**IMPACT OF FAST NEUTRONS ON GROWTH AND
DEVELOPMENT OF BARLEY PLANTS**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2007

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

Èlan: akademik prof. dr. Ivan KREFT

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za
agronomijo

Èlan: 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 tisti, ki sem jo oddala v tiskani verziji.

Hana SHAAR

KLJUÈNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn
- DK UDK 633.16:631.528.1:575.224.539.125.5(043.2)
- KG žlahtnjenje rastlin / jeèmen / mutacije / hitri nevtroni / rast
- KK AGRIS F 30
- AV SHAAR, Hana
- 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 RAST IN RAZVOJ RASTLIN
JEÈMENA
- TD Diplomsko delo (Univerzitetni študij)
- OP X, 34 str., 5 pregl., 16 sl., 27 vir.
- IJ sl
- JI sl/an
- AI Za raziskavo smo uporabili jeèmen dvorede jare sorte 'Orthege'. Semena smo obsevali z različnimi odmerki hitrih nevtronov v jedrskem reaktorju Inštituta Jožef Stefan. Spomladi 2005 smo posadili obsevana in neobsevana semena na dveh različnih lokacijah. Namen raziskave je bil ugotoviti uèinek hitrih nevtronov na rast in razvoj rastlin jeèmena prve generacije. Prièakovali smo, da bo z veèanjem odmerka obsevanja fertilnost rastlin zmanjšana, na število klaskov v klasu pa nebo oèitnega vpliva. Štetje semen in primerjava podatkov sta pokazali, da obsevanje povzroèa manjšo fertilnost in manjše število klasov, vendar nima nobenega uèinka na število klaskov v klasih.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn
DC UDC 633.16:631.528.1:575.224.539.125.5(043.2)
CX plant breeding / barley / mutations / fast neutrons / growth / development
CC AGRIS F 30
AU SHAAR, Hana
AA KREFT, Ivan (Supervisor)
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy
PY 2007
TI IMPACT OF FAST NEUTRONS ON GROWTH AND
DEVELOPMENT OF BARLEY PLANTS
DT Graduation Thesis (University Studies)
NO X, 34 p., 5 tab., 16 fig., 27 ref.
LA sl
AL sl/en
AB The object of our research was two rowed barley spring variety 'Orthegea'. The seeds were treated with fast neutrons at different doses in a nuclear reactor of Jožef Stefan Institute. In spring 2005 we planted treated and untreated seeds at two different locations. The purpose of the research was to find out the impact of fast neutrons on growth and development of barley plants in the first treated generation. We expected, that increased dose of radiation will decrease fertility and will have no influence on growth. Counting seeds and comparing data showed that radiation in fact causes lower fertility and smaller number of spikes, but it doesn't have any effect on the number of spikelets in spikes.

KAZALO VSEBINE

Ključna dokumentacijska informacija	III
Key words documentation	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	VII
Kazalo slik	VIII
Okrajšave in simboli	IX
1 UVOD	1
1.1 CILJI RAZISKOVANJA IN DELOVNE HIPOTEZE	1
1.1.1 Cilji raziskovanja	1
1.1.2 Delovne hipoteze	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 JEÈMEN (<i>HORDEUM VULGARE</i>)	3
2.1.1 Poreklo	3
2.1.2 Razširjenost	3
2.1.3 Botaniène znaèilnosti	4
2.1.4. Anatomija jeèmenovega zrna	4
2.1.5 Kemièna sestava jeèmenovega zrna	4
2.1.6 Rast in razvoj jeèmena	5
2.2 MUTACIJE	5
2.3 SEVANJE	7
2.3.1 Jedrska cepitev	8
2.3.2 Jedrska reakcija	8
2.3.3 Nevtroni in nevtronsko sevanje	8
2.4 VPLIV SEVANJA NA ORGANIZME	9
2.4.1 Vpliv sevanja na rastline	9
2.4.2 Sterilnost	10
2.5 ŽLAHTNJENJE	11
2.5.1 Mutacijsko žlahtnjenje	11
3 MATERIAL IN METODIKA	13
3.1 IZVEDBA POSKUSA	13

3.2 OBDELAVA KLASOV	16
3.2.1 Odstotek fertilnosti klasov	18
4 REZULTATI	20
5 RAZPRAVA IN SKLEPI	29
5.1 RAZPRAVA	29
5.2. SKLEPI	30
6 POVZETEK	31
VIRI	32
ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Preglednica, v katero smo vnesli podatke o rastlini jeèmena, kot je prikazana na primeru na sliki 5	18
Preglednica 2: Razredi fertilnosti klasov	19
Preglednica 3: Število klasov v posameznih fertilnostnih razredih	20
Preglednica 4: Razredi fertilnosti, v katere spada najveè klasov neobsevanih ali obsevanih rastlin	25
Preglednica 5: Primerjava povpreènih fertilnosti glavnih in stranskih klasov	26

KAZALO SLIK

Slika 1: Krivulja, ki prikazuje uèinek naraščajoèega odmerka mutagena na razvoj fizioloških lastnosti (Gaul, 1977a: 89)	12
Slika 2: Seme, posejano po naključnem vrstnem redu na laboratorijskem polju na Biotehniški fakulteti	14
Slika 3: Sklop gredic z eno ponovitvijo	15
Slika 4: Drugi sklop gredic z dvema ponovitvama	15
Slika 5: Klas ječmena, ki smo ga razdelili na èetrtrine (shematski prikaz možnih sterilnih in fertlnih klaskov)	17
Slika 6: Fertlnost glavnih klasov pri neobsevanih rastlinah (razredi fertlnosti so predstavljeni v preglednici 2)	21
Slika 7: Fertlnost stranskih klasov pri neobsevanih rastlinah (razredi fertlnosti so predstavljeni v preglednici 2)	21
Slika 8: Fertlnost glavnih klasov pri rastlinah, obsevanih z odmerkom 1500 rad (razredi fertlnosti so predstavljeni v preglednici 2)	22
Slika 9: Fertlnost stranskih klasov pri rastlinah, obsevanih z odmerkom 1500 rad (razredi fertlnosti so predstavljeni v preglednici 2)	22
Slika 10: Fertlnost glavnih klasov pri rastlinah, obsevanih z odmerkom 2100 rad (razredi fertlnosti so predstavljeni v preglednici 2)	23
Slika 11: Fertlnost stranskih klasov pri rastlinah, obsevanih z odmerkom 2100 rad (razredi fertlnosti so predstavljeni v preglednici 2)	23
Slika 12: Fertlnost glavnih klasov pri rastlinah, obsevanih z odmerkom 3000 rad (razredi fertlnosti so predstavljeni v preglednici 2)	24
Slika 13: Fertlnost stranskih klasov pri rastlinah, obsevanih z odmerkom 3000 rad (razredi fertlnosti so predstavljeni v preglednici 2)	24
Slika 14: Primerjava povpreènih fertlnosti glavnih in stranskih klasov glede na odmerek sevanja	26
Slika 15: Število klaskov v glavnih in stranskih klasih rastlin, po razliènih odmerkih obsevanja	27
Slika 16: Število vseh stranskih klasov po posameznih odmerkih sevanja	28

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

1BIT	testiranje B (1000 radov), 1. gredica, 1. ponovitev
1CIT	testiranje C (1500 radov), 1. gredica, 1. ponovitev
1DIT	testiranje D (2100 radov), 1. gredica, 1. ponovitev
1EIT	testiranje E (3000 radov), 1. gredica, 1. ponovitev
1KIT	kontrola K (neobsevano), 1. gredica, 1. ponovitev
2BIT	testiranje B (1000 radov), 2. gredica, 1. ponovitev
2CIT	testiranje C (1500 radov), 2. gredica, 1. ponovitev
2DIT	testiranje D (2100 radov), 2. gredica, 1. ponovitev
2EIT	testiranje E (3000 radov), 2. gredica, 1. ponovitev
2KIT	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
a	razred fertilnosti (0 % - 4 %)
b	razred fertilnosti (5 % - 9 %)
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
c	razred fertilnosti (10 % - 14 %)
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
èetrt.	èetrtnina
d	razred fertilnosti (15 % - 19 %)
DNK	deoksiribonukleinska kislina
D1	testiranje D (2100 radov), 1. ponovitev
D2	testiranje D (2100 radov), 2. ponovitev
D3	testiranje D (2100 radov), 3. ponovitev
D4	testiranje D (2100 radov), 4. ponovitev
e	razred fertilnosti (20 % - 24 %)
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

f	razred fertilnosti (25 % - 29 %)
g	razred fertilnosti (30 % - 34 %)
h	razred fertilnosti (35 % - 39 %)
i	razred fertilnosti (40 % - 44 %)
i.t.d.	in tako dalje
j	razred fertilnosti (45 % - 49 %)
k	razred fertilnosti (50 % - 54 %)
K1	kontrola K (neobsevano), 1. ponovitev
K2	kontrola K (neobsevano), 2. ponovitev
K3	kontrola K (neobsevano), 3. ponovitev
K4	kontrola K (neobsevano), 4. ponovitev
kl.	klas
kg	kilogram
l	razred fertilnosti (55 % - 59 %)
m	razred fertilnosti (60 % - 64 %)
M ₁	rastline prve obsevane generacije
MeV	enota za merjenje energije v fiziki atomov, jeder in osnovnih delcev
n	razred fertilnosti (65 % - 69 %)
npr.	na primer
o	razred fertilnosti (70 % - 74 %)
oz.	oziroma
p	razred fertilnosti (75 % - 79 %)
p.n.š.	pred našim štetjem
r	razred fertilnosti (80 % - 84 %)
rad	angleška okrajšava za radiation absorbed, enota za merjenje absorbiranega odmerka
s	razred fertilnosti (85 % - 89 %)
sod.	sodelavci
št.	število
t	razred fertilnosti (90 % - 94 %)
u	razred fertilnosti (95 % - 100 %)

1 UVOD

V naravi se organizmi spreminjajo že milijone let. Temu pravimo evolucija. Mehanizem spreminjanja živih organizmov omogoèajo naključne - spontane mutacije. Te so razlog za raznolikost živih bitij oziroma gensko variabilnost.

Èlovek je vedno rad spreminjal naravne danosti in jih poskušal prirediti sebi v prid.

Z raziskavami in dolgoletnimi poskusi je ugotovil, da lahko sam spreminja lastnosti organizmov. Tako povzroèene spremembe so inducirane mutacije.

Žita so pomemben del našega jedilnika. Taka, kot jih uživamo danes, so bila vzgojena iz različnih vrst trav. Ljudje so vseskozi stremeli k njihovi izboljšavi. Danes so raziskave in delo usmerjeni predvsem k pridobivanju boljših sort, ki bi bile bolj odzivne na umetna gnojila, imele veèjo zanesljivost pridelka, odpornost proti boleznim, prilagodljivost lokalnim klimatskim razmeram in bi bile primerne za izboljšave.

Ljudje težko sprejemamo posege v naravo in se bojimo nepredvidljivih posledic teh posegov. Predvsem smo občutljivi na hrano in prav hrana, ki je pridobljena iz gensko modificiranih organizmov je mnogokrat predmet burnih, pogosto laičnih - nestrokovnih razprav. Pomembna naloga stroke je znanstveno utemeljena informacija, ki potrošnika seznanja s celotno problematiko genskega inženiringa in mu predstavlja možne pozitivne in negativne strani genske manipulacije. Javnost se v veèini ne zaveda, da z genskim inženiringom lahko zmanjšamo uporabo umetnih gnojil, fitofarmaceutskih sredstev, pesticidov in drugih okolju neprijaznih snovi, in da bi morda lahko s temi posegi celo rešili svet pred lakoto. Nasprotovanja in zakonodaja predstavljata veliko oviro pri aplikaciji ugodnih in koristnih ugotovitev, po drugi strani pa nas po previdnostnem principu šèitita pred morebitnimi neželenimi uèinki.

1.1 CILJI RAZISKOVANJA IN DELOVNE HIPOTEZE

1.1.1 Cilji raziskovanja

Namen raziskave je bil ugotoviti, kako hitri nevtroni vplivajo na rast in razvoj rastlin jeèmena. Dokazati smo želeli, da s poveèevanjem odmerkov hitrih nevtronov spreminjamo razvoj in ne vplivamo na rast rastlin jeèmena.

1.1.2 Delovne hipoteze

Glede na predvidevanja smo izoblikovali naslednje hipoteze:

H₁: hitri nevtroni vplivajo na zmanjšano fertilnost klasov rastlin iz obsevanih semen

H₂: hitri nevtroni vplivajo na število klaskov v klasih rastlin iz obsevanih semen

H₃: med glavnimi in stranskimi klasi ni razlik glede na fertilnost klasov rastlin

H₄: med glavnimi in stranskimi klasi ni razlik glede na število klaskov

H₅: med rastlinami iz obsevanih in neobsevanih semen ni razlik glede na število stranskih klasov.

2 PREGLED OBJAV

2.1 JEÈMEN (*Hordeum vulgare*)

2.1.1 Poreklo

Jeèmen (*Hordeum vulgare*) spada v družino Poaceae, rod *Hordeum*. Je stara in dolgo znana poljšèina. Najstarejši jeèmen so našli v kraju Jarmo v Kurdistanu v Iraku. Najdbo datirajo v 7. tisoèletje p.n.š. Jeèmen so gojili v Egiptu že konec 5. tisoèletja p.n.š. To potrjujejo novejša arheološka odkritja v kraju Fayum. Pet tisoè let star vzorec jeèmena so našli v piramidi Saqara v Egiptu. Najdeni šestredec je zelo podoben sedanjim egipèanskim tipom jeèmena (Zor, 1977: 4). V vzhodni Aziji je bil poleg riža glavna hrana prebivalstva. Stari Grki so jeèmen darovali bogovom in z njim kronali zmagovalce na igrah. Jeèmenjak je bil kruh revnega rimskega prebivalstva, predvsem vojakov. Tudi gladiatorji so se hranili predvsem z jeèmenom, zato se jih je prijel vzdevek jeèmenarji (Kocjan Aèko, 1999: 83).

Praroditelj kulturnih vrst jeèmena še ni natanèno ugotovljen. Prav tako še ni ugotovljeno, ali se je prej pojavil dvoredni ali veèredni jeèmen. Iz geografskih obmoèij, v katerih je najveèje število razliènih genetskih variacij posameznih gojenih sort, izstopajo trije gencentri jeèmena, in sicer (Zor, 1977: 4):

- vzhodnoazijski - kitajski (Tibet, Kitajska, Japonska, Hindukuš, Pamir)
- prednjeazijski (Transkavkazija, osrednja Anatolija, Sirija in Palestina)
- abesinski (Etiopija in Eritreja).

2.1.2 Razširjenost

Med vsemi žiti je geografsko najbolj razširjen, saj odlièno uspeva v južnih krajih, v primerjavi z drugimi strnimi žiti pa je dosti bolj odporen proti mrazu, zato jari jeèmen sejejo najvišje na severu Evrope in Amerike, v visokih planotah Azije - v Himalaji, Tibetu in v južni Ameriki v Andih. Na južni polobli ga najdemo v Argentini in v Avstraliji. V tropih ne uspeva, izjemoma ga najdemo v hribovitih predelih Mehike in v severozahodnih predelih Južne Amerike in v Vzhodni Afriki (Zor, 1977: 5).

Pri nas so se zemljišèa pod jeèmenom poveèala od okoli 7000 ha sredi 80 let, na 12.000 ha konec 90. let prejšnjega stoletja (Kocjan Aèko, 1999: 84). Veèinoma pridelujemo ozimni ali krmni in pivovarski jeèmen. Danes je z jeèmenom zasejanih 18.499 ha (Statistièni urad RS, 2007).

2.1.3 Botaniène znaèilnosti

Socvetje jeèmena - klas - je sestavljeno iz glavnega vretena in klaskov. Vreteno je tanko in kolenasto. Okoli glavnega vretena so kratka stranska vretenca klaskov. Na vretenu klasa so izmenično razporejeni po trije klaski. Pri dvovrstnem jeèmenu se razvijejo zrna le v srednjih klaskih na vsaki strani vretena. Klas dvovrstnega jeèmena je sestavljen iz dveh vrst zrn, ki so enake velikosti in bogata s škrobom, ki je zelo pomemben za proizvodnjo jeèmenovega slada (Zor, 1977: 4). Kulturni šestvrstni jeèmen ima šest enako razvitih fertilnih vrst. Kadar ima ta jeèmen zelo kratka klasna vretenca je to šestvrstnik z zelo zbitim klasom, ki je večinoma pokonèn. Kadar so klasna vretenca nekoliko daljša govorimo o šestvrstnem jeèmenu z zbitim klasom, ki ima skoraj paralelen klas. Kadar pa so klasna vretenca dolga je to šestvrstnik z rahlim klasom, ki je večinoma poševen (Tajnsšek, 1980: 81). Bil jeèmena je okrogla in votla. Na stebelcu je pet do sedem èlenkov. Listna ploskev je gladka in sulièasta s podolžnimi žilami, ki potekajo vzporedno. Ima kratek do srednje dolg jezièek, ki je rahlo nazobèan. Ušesca so velika, pogosto objemajo bil in so brez dlaèic (Tajnsšek, 1980: 32).

2.1.4. Anatomija jeèmenovega zrna

Jeèmenovo zrno je enosemiski zaprt plod. Ko je zrel odpade kot celota. Sestavljeno je iz treh osnovnih delov (Tajnsšek, 1980: 28):

Pleve (krovna - lemna in predpleva - palea). Sestavljene so iz snovi, ki se ne razkrajajo in se ne topijo v vodi. Moène pleve varujejo zrno jeèmena pred poškodbami, pri slajenju pa so uporabne za filtriranje slada. Nekatere sorte jeèmena imajo dve krovni plevi. Tako zrno je plevenc. Nekatere sorte pa so brez krovnih plev, kot na primer osješki goli.

Kalèek (embrio) s šèitkom in sesalnim epitelom se nahaja na spodnjem delu zrna. Sestavljajo ga v glavnem beljakovine.

Meljak (endosperm) je pod oplodjem in predstavlja okoli 80 % teže zrnja. Ima rezervne hranilne snovi, potrebne za življenje in razvoj kalèka. Po zgradbi ni enoten. Obrobni del endosperma je plast celic, ki so kvadrataste in se imenujejo alevron. Ta je brez škroba, v glavnem je sestavljen iz beljakovin in mašèob. Pod alevronsko plastjo so celice z visoko vsebnostjo škroba - tudi do 84 %.

2.1.5 Kemièna sestava jeèmenovega zrna

Kemièna sestava jeèmenovega zrna je odvisna od:

- pridelovanja jeèmena
- naravnih razmer (podnebje in prst)
- tehnologije pridelovanja in spravila.

Zrelo ječmenovo zrno sestavljajo suhe snovi in majhne količine vode. Ta je odvisna od vremenskih razmer v času spravila in znaša od 12 % do 20 % (Zor, 1977: 6). Ker vlaga ječmena zelo koleba, določimo kemični sestav ječmenovega zrna na osnovi suhe snovi.

Organske snovi je v ječmenovem zrnu okoli 85 % teže zrna, anorganskih snovi pa je 2 % do 3 %. Od organskih snovi je največ ogljikovih hidratov (škrob, hemiceluloza, celuloza, pektinske snovi), manj pa je beljakovin, maščob, organskih kislin in vitaminov. V ječmenovem zrnu je 2 % do 3 % maščob, ki so pretežno v alevronskem sloju in kalčku (Zor, 1977: 6).

2.1.6 Rast in razvoj ječmena

Ječmen potrebuje zaradi šopastih korenin, ki imajo šibko črpalno moč za hranila in vodo, globoka, srednje težka in rodovitna tla. Slabo uspeva v peščenih, težkih in kislih tleh. Glede na podnebne razmere je ječmen zelo prilagodljiv. Ima kratko rastno dobo in je dobro prilagodljiv glede temperatur in dolžine osvetlitve. Uspeva tudi pri nižjih temperaturah, zato je hvaležna poljščina na severu in v gorah (Tajnshek, 1980: 79). Dobro prenaša tudi visoke temperature. V razvojnem stadiju polnjenja zrnja zdrži brez večje škode do 38 ° C (Kocjan Ačko, 1999: 84). Suša ga prizadene le, če nastopi v začetnih razvojnih stadijih ali če traja več kot 14 dni. Posevku škodujejo tudi obilne padavine v času kolenjenja in klasenja, saj povzročijo, da rastline poležejo. Krmni ječmen dozori že konec junija in od strnih žit prvi sprosti njivo za setev strnišnega dosevka. Ugodne prejšnje poljščine v kolobarju so okopavine. Sejemo ga lahko tudi po pšenici. Dober posevek pred krmnim ječmenom so stročnice. Jari ječmen posejemo februarja ali marca. Za gostoto okoli 400 kaljivih semen na m² potrebujemo 180 kg semena na hektar (Kocjan Ačko, 1999: 84). V obdobju rasti je ječmen občutljiv na hitro menjavanje temperatur in vlage. Večina sort je dovzetnih za okužbe s pepelnasto in snežno plesnijo, rumeno rjo in ječmenovo pegavostjo. V jarem ječmenu se pogosto pojavlja ječmenova progavost. Od škodljivcev ga najbolj napada žitni strgač, uš in žitna stenica, ki z vbodljaji spusti v zrno encime. Le ti razgradijo endosperm, tako da zrno ni kaljivo. Tak ječmen tudi ni primeren za varjenje piva (Tajnshek, 1980: 93 - 95).

2.2 MUTACIJE

Če pogledamo kemično zgradbo dednega materiala, proces podvajanja DNK in sintezo specifičnih beljakovinskih molekul, dobimo vtis o perfektnosti tega sistema, ki brez napake prenaša nespremenjeni dedni material iz roda v rod. Vendar temu ni tako. Dedni material se spreminja oziroma se »kvari«. Če teh sprememb ne bi bilo, bi imela še danes vsa živa bitja na Zemlji enak začetni dedni material, ki se je izoblikoval ob začetku življenja in bi bila neprimerno bolj preprosta od katerekoli današnje bakterije.

Vse lastnosti živih bitij, ki so drugačne od lastnosti prabitij, so tako posledica sprememb njihovega dednega materiala. Ta proces imenujemo mutacija. Mutacija je torej nenadna spontana ali z mutageni izzvana sprememba dedne zasnove, kjer se spremeni alel nekega gena. Pojavlja se pri vseh živih bitjih tako v telesnih celicah kot tudi v celicah zarodne linije. S spolnimi celicami se mutirani aleli prenašajo na potomce. Te potomce imenujemo mutanti. Prav mutacije genov so tisti dejavnik, ki je omogočil evolucijske spremembe. Z mutacijami neprestano nastajajo osebkii z novimi lastnostmi, od katerih se v evoluciji ohranijo le tisti, ki so najbolj prilagojeni na okolje (Biologija, 2002: 265).

Mutacije lahko nastanejo spontano v katerikoli celici organizma. Njihov nastanek je nepredvidljiv in poteka v skladu s statistično slučajnostjo. Vsak gen ima svojo lastno značilno frekvenco pogostosti mutacij. To pogostost mutacij definiramo kot faktor verjetnosti, da bo mutacija nastala v eni celični generaciji (Amon, 2004: 2). Število mutacij je v normalnih razmerah zelo majhno, ker so organizmi razvili celo vrsto obrambnih mehanizmov, s katerimi lahko popravijo napake DNK (Bohanec, 2004: 9). Eden takih je tudi naravna selekcija. Nekaj škodljivih mutacij se v vsaki generaciji z genetično smrtjo izloči. Dokler nastaja več mutacij, kot se jih izloča, pogostost mutiranih genov narašča. Če se jih izloči več, kot jih nastane, bodo mutanti manj številni. Če pa je število nastalih mutacij enako številu izločenih, se vzpostavi ravnotežje. Populacija je tako stalno opremljena z »bremenom« škodljivih mutacij. Velikost tega bremena bo določalo ravnotežje v pogostosti teh mutacij (Sinnott in sod., 1969: 237). Na pogostost mutacij vplivajo različni dejavniki – mutageni, kot so: zvišanje temperature, kemične snovi, ultravijolično sevanje in ionizirna sevanja. Na mutacijo vpliva tudi odmerek mutagena (Biologija, 2002: 273).

Glede na to, kateri del dednega materiala mutacije zajamejo, poznamo več tipov mutacij (Lučovnik, 1999: 71):

- genske ali točkovne mutacije - sprememba nastane samo na določeni točki na kromosomu oziroma v molekuli DNK - v genu,
- kromosomske mutacije - nastanejo, ko se spremeni struktura celega kromosoma; lahko se odtrga košček kromosoma, ta pa se lahko razkroji ali pa se različno lepi nazaj na isti ali drugi kromosom,
- genomska mutacija - do te pride, ko se spremeni genom - celoten sestav kromosomov v spolni celici; vzrok za to je okvara delitvenega vretena, ko se kromosomi nepravilno ali pa se sploh ne razidejo.

Mutacije so lahko majhne in prizadenejo samo en gen, ali pa so zelo obsežne, ko se kromosom spremeni z delecijo - izgubo svojih genov, z duplikacijo - podvajanjem,

translokacijo - izmenjavo delov med nehomolognima kromosomoma ali inverzijo - obrnitvijo dela kromosoma za 180° (Sinnott in sod., 1969: 206).

Izzvane ali inducirane mutacije lahko povzročijo kemični mutageni, kot so dušična kislina, alkalni agensi, hidrosilamin, analogi baz, akridini in antibiotiki. Med fizikalne povzročitelje mutacij prištevamo elektromagnetna sevanja, in sicer radioaktivno sevanje, kjer se za inducirane mutacije najpogosteje uporabljajo rentgenski žarki, gama žarki in ultravijolični žarki (Borojevič 1991: 85). Med fizikalne povzročitelje mutacij spada tudi radiacija delcev. Poznamo radiacijo elektronov, nevtronov in atomskih jeder (alfa žarek oziroma helijevo jedro). Za kromosomske mutacije največkrat uporabljamo radiacijo nevtronov. Hitri nevtroni so še posebno učinkoviti pri indukciji mutacij pri rastlinah.

2.3 SEVANJE

Sevanje (radiacija) je energija, ki se širi skozi vesolje. Je pojav, pri katerem odda vir valovanje ali delce na vse strani (Strnad, 1979: 202). Poznamo več vrst sevanj: sevanja elektromagnetnega valovanja, rentgenske svetlobe, vidne svetlobe, sevanja radijskih valov, zvoka in sevanja delcev alfa ali delcev beta iz radioaktivnega vira. Glede na valovno dolžino valovanja in energijo delcev, ki je z njo povezana, poznamo ionizirno in neionizirno sevanje. Neionizirno sevanje je sevanje nižjih frekvenc in manjše energije. Sem spadajo svetloba, toplota, radiovalovi in mikrovalovi (Al-Sabti, 1993: 5).

Ionizirno sevanje nastane, ko je energija žarkov tako velika, da žarek v atomu izbije elektron in tako ionizira atom - atom se spremeni v ion (Adler, 1973: 103).

Poznamo več virov ionizirnega sevanja (Kaj je sevanje, 2007):

- naravni viri: kozmični žarki, radon v zraku, naravni izotopi v zemlji,
- rentgensko sevanje,
- umetni viri: sevanja alfa, beta, gama žarkov in nevtronov.

Gostota ionizacij, ki jih povzročajo sevanje ali delci, je zelo različna. Na splošno rentgenski ali gama žarki povzročajo redke ionizacije, elektroni gostejše, nevtroni pa zelo goste ionizacije (Rozman, 2004).

Ionizirno sevanje prehaja v tkivo - vanj penetrira. Za različna ionizirna sevanja je zelo pomembno kako globoko prehajajo v tkiva. Globina prehajanja se za določen tip sevanja povečuje vzporedno z njegovo energijo. To velja le za različne tipe sevanja pri dani energiji. Indirektno ionizirno sevanje, kot je sevanje gama in sevanje nevtronov, je odvisno od primarnih interakcij. Na splošno imajo nevtroni veliko prodorno moč (Al-Sabti, 1993: 12).

2.3.1 Jedrska cepitev

Jedrska reakcija ali jedrska fisija je reakcija, pri kateri težko atomsko jedro razpade na dve srednje težki jedri. Večina naravnih elementov ima zelo stabilne atome, ki jih sploh ni možno cepiti ali pa jih lahko cepimo samo z obstreljevanjem v pospeševalnikih delcev.

Za cepitev zelo primeren element je uran 235, ker so njegovi atomi neobičajno veliki in zato le težko ohranjajo trdno vez znotraj jedra. Cepimo jih tako, da jim z absorpcijo nevtrona dovedemo energijo. Uranovo jedro se tako razcepi v dve srednje težki jedri (razcepki). Kot produkt reakcije pa nastanejo še dva do trije hitri nevtroni. Ob tem se sprošča velika količina energije, in sicer 200 MeV - izražena v kalorični vrednosti je to tona premoga (Cepitev..., 2007). Pri procesu cepitve pride tudi do radioaktivnega sevanja, ker so po cepitvi nastala jedra radioaktivna (Ahnström, 1977: 22).

2.3.2 Jedrska reakcija

Pri jedrski fisiji sprošeni nevtroni povzročijo delitev drugih jeder. Posledica je jedrska verižna reakcija. En sam nevtron, ki ga ujame jedro urana 235, povzroči pri razpadu jedra nastanek več nevtronov (Atkins in sod., 1997: 221). Pri cepitvi se sprošča energija in dva do trije novi nevtroni, ki lahko zopet sprožijo nove cepitve (Briggs in Constantin, 1977: 16). Da se verižna reakcija lahko vzdržuje, mora v časovni enoti nastati toliko nevtronov, kolikor se jih porabi za nadaljnjo cepitev in kolikor jih pobegne iz snovi. Z absorpcijo dela sproščenih nevtronov (v reaktorju) lahko verižno reakcijo kontroliramo (Atkins in sod., 1997: 29).

2.3.3 Nevtroni in nevtronsko sevanje

Nevtroni so skupaj s protoni gradniki atomskih jeder. So delci v jedru, ki nimajo električnega naboja - so nevtralni. Nevtroni so po masi zelo podobni protonom (Atkins in sod., 1997: 11). So v vseh jedrih, razen v vodikovem. Pri razpadu težkih jeder ali pri zlitju lažjih jeder, jedro zapustijo. Ker so elektrostatično nevtralni, jih je težko zaustaviti. Zato se nevtroni navadno sproščejo v jedrskih reaktorjih ob cepljenju uranovih jeder (Rozman, 2004).

Ker nevtron nima pozitivnega naboja, ga atomsko jedro ne odbija in zato nevtron lahko prodre vanj. Če pa atomsko jedro pri svojem razpadu nevtron izvrže, leti ta zelo hitro z energijo okoli 0,5 do 2,0 MeV (Briggs in Constantin, 1977: 17). Tak hiter nevtron pogosto predre atomsko jedro ne da bi ga razbil. Zato ima v takih primerih počasni nevtron z energijo 0,025 MeV več možnosti, da v jedru ostane in ga napravi nestabilnega. Nestabilno jedro razpade. Če hočemo doseči razpad jedra, moramo hitre nevtrone zavirati.

Za zaviranje uporabljamo mase lahkih atomov, kot so grafit in težka voda (Adler, 1973: 141). Če hitrost nevtronov upočasnimo, nastanejo tako imenovani termalni nevtroni, ki so ob združitvi z jedri lahko vir za nove ionizacije (Rozman, 2004).

Nevtronsko sevanje je snop prostih nevtronov, ki imajo visoke hitrosti, nimajo pa direktnih ionizacijskih učinkov, vendar so sposobni posredne ionizacije (Temelji radiobiologije, 2004). Ob prehodu skozi snov nevtroni trkajo v druge atome in povzročajo ionizacije, lahko pa tudi razpade atomov in s tem nastanek radioaktivnih elementov.

2.4 VPLIV SEVANJA NA ORGANIZME

Ko sevanje prehaja skozi tkivo, se v njem uskladišči nekaj njegove energije. Vsa energija, ki jo tkivo sprejme s sevanjem, se širi kot toplota, to je preko povečane vibracije atomske in molekulske strukture. Začetna ionizacija in kemijske spremembe povzročajo škodljive biološke učinke. Ionizirno sevanje vpliva na vse celice, tudi na spolne in zato povzroča genetske in somatske spremembe (Al-Sabti, 1993: 12). Že celo zelo majhni odmerki sevanja lahko povzročijo mutacije. Genetske posledice sevanja je zelo težko detektirati, ker se pojavljajo pri kasnejših generacijah.

Poškodba organizma zaradi škodljivega učinka sevanja se začne s poškodbo molekul, in sicer z lomljenjem kromosomov, uničenjem celic, pojavom karcinoma i.t.d.. Poškodbe so torej posledice sprememb, ki so nastale zaradi učinkov sevanja na molekule, ki so v celici. Celična poškodba se lahko razširi na tkiva, organe, organske sisteme ali pa celo na ves organizem (Temelji radiobiologije, 2004).

2.4.1 Vpliv sevanja na rastline

Uporaba ionizirnih sevanj, kot so rentgenski žarki, gama žarki, nevtroni in kemični mutageni, za induciranje sprememb je že dobro vpeljana. Inducirane mutacije uporabljajo za izboljšanje pomembnih kultur, kot so pšenica, riž, ječmen, bombaž, arašidi, fižol in druge rastline, ki se razmnožujejo s semeni (Ahloowalia in Maluszynski, 2000: 167).

Tretiranje rastlin z mutageni lahko povzroči fiziološke - primarne - poškodbe in poškodbe dednega materiala. Do fizioloških poškodb (modifikacij) pride v glavnem samo v prvi generaciji, poškodbe dednega materiala pa se z dedovanjem prenesejo na naslednje generacije. Fiziološke poškodbe se lahko pojavljajo na posameznih delih rastline ali pa na celotni rastlini. Praktično se te poškodbe opazijo v zavirani rasti ali celo v odmrtnosti rastline. Vzroki fizioloških poškodb so lahko kromosomske ali nekromosomske narave. Ločitev teh dveh vzrokov običajno ni možna. Kadar po tretiranju z mutageni povzročimo veliko

smrtnost rastlin in majhno frekvenco mutacij lahko sklepamo, da so te mutacije nekromosomske narave (Gaul, 1977a: 87).

Translokacije so edini tip kromosomske mutacije, ki je v mejozi lahko hitro prepoznaven pri večini rastlin. Pri ječmenju so bile ob preučevanju mitoze v vršičku poganjka odkrite enostavne translokacije, v mejozi pa so bile najdene recipročne translokacije (Gaul, 1977c: 96 - 98).

Posledice delovanja mutagenov na rastline M_1 generacije lahko ugotavljamo z:

1. višino sadik, merjeno v različnih obdobjih rasti po kalitvi
2. dolžino korenin, določeno po kalitvi
3. kalitvijo na njivi ali v laboratoriju
4. sposobnostjo preživetja na polju ali v laboratoriju
5. številom klasov (socvetij) na rastlino
6. številom klaskov (cvetkov) na klas (socvetje)
7. številom semen na klas (socvetje)
8. številom plodov ali semen na rastlino.

Če povečujemo odmerek mutagena, s katerim vplivamo na semena, se povečuje tudi stopnja prizadetosti pri zgoraj navedenih bioloških kriterijih. Za število klasov na rastlino in za število klaskov na klas pa velja to dejstvo le v primerih, ko imajo rastline, katerih semena so bila tretirana pri različnih odmerkih enako veliko prostora na poskusni parceli (Gaul, 1977a: 88).

2.4.2 Sterilnost

Do sterilnosti lahko pride zaradi fizioloških poškodb na rastlini, lahko pa je sterilnost posledica genskih, kromosomskih ali citoplazemskih mutacij. Kromosomske mutacije so najverjetneje glavni izvor sterilnosti, povzročene z induciranimi mutacijami (Gaul, 1977b: 96).

Ionizirne žarke, še posebno hitre nevtrone, smatramo za najpogostejše vzroke za nastanek kromosomskih mutacij. Da so kromosomske mutacije glavni vir znižane fertiliteti klasov zaradi vplivov sevanja, je potrdila tudi citološka preiskava mejotskih celic večih klasov. Prav pri uporabi hitrih nevtronov se je pokazalo, da je ostalih tipov mutacij in fizioloških poškodb v primerjavi s pogostostjo kromosomskih mutacij razmeroma malo (Kreft, 1972: 204).

2.5 ŽLAHTNJENJE

Žlahtnjenje rastlin je tisto gibalno, ki je človeštvu vse od davnine dalje omogočilo napredek in blagostanje. Domestikacija neke divjih rastlinskih vrst, med prvimi žit, je omogočila razvoj poljedelskih in konec nomadskih civilizacij. V preteklosti so metode žlahtnjenja temeljile zgolj na naključnih križanjih in odbiri ter razmnožitvi rastlin, ki so bile za pridelovalca najbolj primerne. O znanstvenem pristopu k žlahtnjenju rastlin govorimo šele z odkritjem zakonov genetike in njihovi uporabi pri sistematičnem pristopu k žlahtnjenju rastlin (Bohanec, 2004: 4). S pomočjo genskega inženiringa lahko ustvarimo tudi povsem nove proizvode, ki so lahko uporabni v kozmetični, farmacevtski in drugih vejah industrije.

V naravi je okoli 200 000 vrst cvetnic, od tega jih človek za prehrano, vlakna, začimbe i.t.d. uporablja okoli 3000, od tega jih je 200 gojenih in od teh 15 - 20 bolj pomembnih za prehrano. Domestikaciji novih rastlin, razvoju novih načinov uporabe kulturnih rastlin in žlahtnjenju tradicionalnih kulturnih rastlin je bilo v zadnjem času posvečeno veliko pozornosti, tako v razvitih kot v državah v razvoju. Vzroki zato so predvsem povečana potreba po hrani, povečano povpraševanje po industrijskih rastlinah, potreba po zmanjšanju genetsko pogojene preobčutljivosti i.t.d. (Ashri, 1989: 3). Ocenjujejo, da je napredek pri žlahtnjenju rastlin, torej ustvarjanje vedno boljših sort, prispeval kar petdeset odstoten delež k dvigu pridelkov in kakovosti le teh v dvajsetem stoletju (Bohanec, 2004: 4).

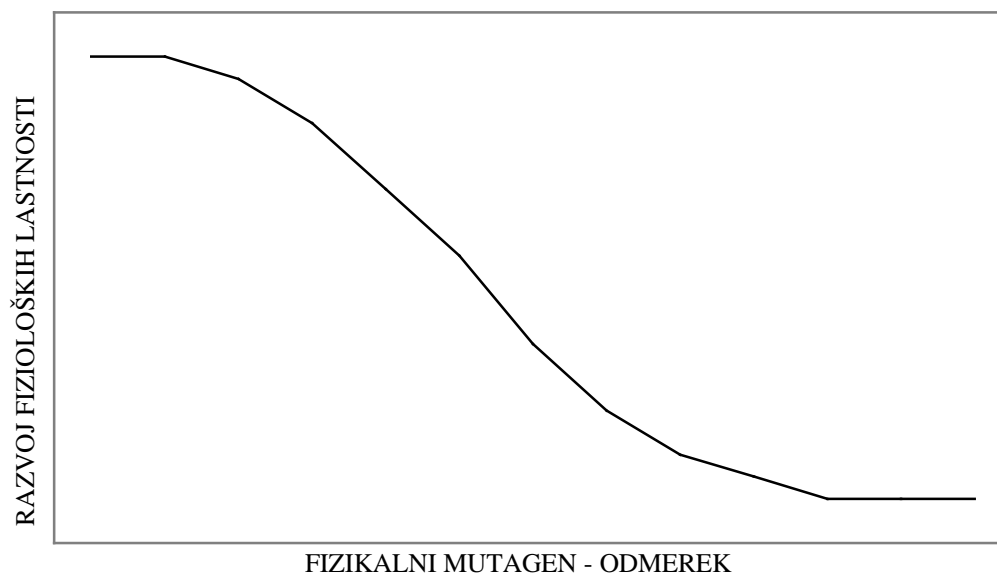
Pri žlahtnjenju rastlin lahko izhajamo iz dedne raznolikosti, ki je že v naravi, ali pa iz induciranih mutacij. Vsak od obeh načinov žlahtnjenja ima svoje dobre in slabe strani (Kreft, 1972: 197).

2.5.1 Mutacijsko žlahtnjenje

Pri mutacijskem žlahtnjenju želimo z mutacijami doseči nizko stopnjo fizioloških učinkov in visoko stopnjo genetskih učinkov.

Vse vrste poškodb povzročene z mutageni so odvisne od odmerka mutagena. Fiziološke poškodbe določajo mejo povečevanja odmerka. Zgornja meja najvišjih prejetih odmerkov je tista, ki povzroča 100 % smrt. Splošno velja, da s povečevanjem odmerka mutagena, zaviramo razvoj nekaterih fizioloških lastnosti, kot so npr. višina rastline, dolžina korenin, preživetje rastline in druge (slika 1). Pri tretiranju z mutageni se je pokazala povezava med višino rastline M_1 in preživetjem rastline na eni strani in frekvenco mutacij M_1 na drugi strani. Določitev obsega poškodb rastlin M_1 bi moral biti rutinski postopek pri mutacijskem žlahtnjenju (Gaul, 1977a: 87). Ahnström in Natarajan navajata, da se pri

obsevanju semen ječmena s hitrimi nevtroni z enoto en krad inhibira rast rastline za 50 % (Ahnström in Natarajan, 1971: 433).



Slika 1: Krivulja, ki prikazuje uèinek naraščajoèega odmerka mutagena na razvoj fizioloških lastnosti (Gaul, 1977a: 89)

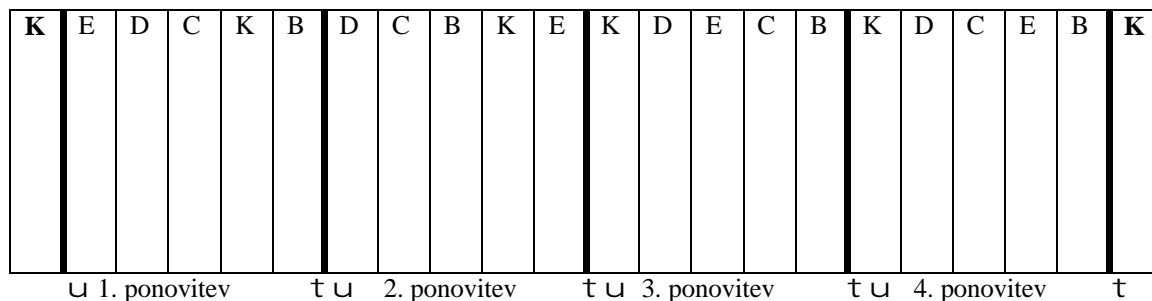
3 MATERIAL IN METODIKA

3.1 IZVEDBA POSKUSA

Za raziskavo vpliva hitrih nevtronov na rast in razvoj rastlin jeèmena smo izbrali jeèmen sorte Orthega, ki je primeren za pridelavo na lažjih tleh. Ta sorta je jara. Spada med srednje zgodnje sorte, sejemo ga februarja ali marca, žanjemo pa julija. Pri tovrstnih raziskavah je jeèmen optimalen predmet raziskave, saj je iz genetskega vidika enostaven zlasti, èe ga primerjamo z drugimi kulturami npr. koruzo ali pšenico. Omenjena sorta je dvoreda. To nam je olajšalo štetje zrn in obdelavo klasov, ki bi bilo v primeru šestrednega jeèmena mnogo bolj zapleteno. Seme je bilo v reaktorju Inštituta Jožef Stefan tretirano s hitrimi nevtroni. Jeèmenovo seme je bilo obsevano z naslednjimi odmerki sevanja hitrih nevtronov: 1000 rad, 1500 rad, 2100 rad in 3000 radov.

Razkuženemu in obsevanemu semenu smo po preteku karenène dobe preverili kaljivost. Nato smo različne odmerke sevanja, katerim so bila semena izpostavljena, oznaèili z velikimi tiskanimi èrkami in sicer, B za 1000 radov, C za 1500 radov, D za 2100 radov, E za 3000 radov in K za neobsevano seme zaradi kontrole. Od vsakega odmerka sevanja smo vzeli petdeset semen in jih kalili v kartonski škatli v vlažni vati. S tem postopkom smo preverili kaljivost semena in se preprièali, ali so semena kaljiva pri vseh odmerkih sevanja. S tem smo izloèili možnost, da bi prevelik odmerek unièil seme in rastline ne bi vzklièe.

Obsevana semena smo posejali spomladi 2005 na laboratorijskem polju Biotehniène fakultete v Ljubljani in na domaèem vrtu v Vižmarjih, prav tako v Ljubljani. Na laboratorijskem polju smo seme kontrole in obsevano seme razdelili v po štiri ponovitve. Seme smo sejali v vrste po naključnem vrstnem redu. Na zaèetku prve vrste in na koncu zadnje ponovitve smo naredili dodatno vrsto, kjer smo posejali kontrolno seme (slika 2). Pri poskusu kontrolnih vrstic na zaèetku in na koncu nismo obravnavali, saj je bila vrsta sejana zgolj zaradi zašèite. Rastline smo v èasu od vznika pa do dosežene zrelosti negovali, in sicer smo jih po potrebi zalivali in odstranjevali plevel.



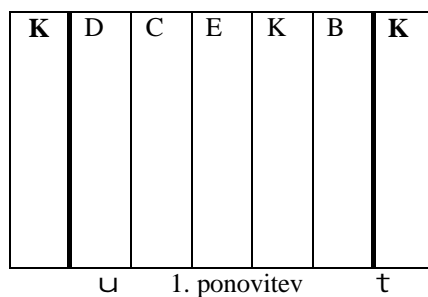
Legenda:

- K - neobsevano seme jeèmena
- B - seme, obsevano z odmerkom 1000 rad
- C - seme, obsevano z odmerkom 1500 rad
- D - seme, obsevano z odmerkom 2100 rad
- E - seme, obsevano z odmerkom 3000 rad

Slika 2: Seme, posejano po nakljuènem vrstnem redu na laboratorijskem polju na Biotehniški fakulteti

V prvi ponovitvi na laboratorijskem polju Biotehniške fakultete smo pobrali rastline z oznako K1, B1, C1, D1, E1. V drugi ponovitvi smo pobrali rastline z oznako K2, B2, C2, D2, E2. V tretji ponovitvi smo rastline oznaèili s K3, B3, C3, D3, E3. V èetrthi ponovitvi pa z K4, B4, C4, D4, E4.

Na domaèem vrtu v Vižmarjih smo naredili dva sklopa gredic. V prvega smo posejali eno ponovitev (slika 3), v drugega pa dve ponovitvi (slika 4). Tudi tu smo ob robovih posejali neobsevano seme zaradi zašèite in sejali nakljuèno znotraj posamezne ponovitve.

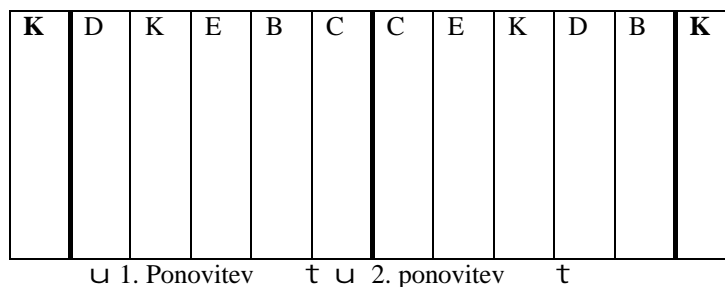


Legenda:

- K - neobsevano seme jeèmena
- B - seme, obsevano z odmerkom 1000 rad
- C - seme, obsevano z odmerkom 1500 rad
- D - seme, obsevano z odmerkom 2100 rad
- E - seme, obsevano z odmerkom 3000 rad

Slika 3: Sklop gredic z eno ponovitvijo

V prvi ponovitvi prvega sklopa gredic smo rastline oznaèili z: 1K1T, 1C1T, 1D1T, 1E1T.



Legenda:

- K - neobsevano seme jeèmena
- B - seme, obsevano z odmerkom 1000 rad
- C - seme, obsevano z odmerkom 1500 rad
- D - seme, obsevano z odmerkom 2100 rad
- E - seme, obsevano z odmerkom 3000 rad

Slika 4: Drugi sklop gredic z dvema ponovitvama

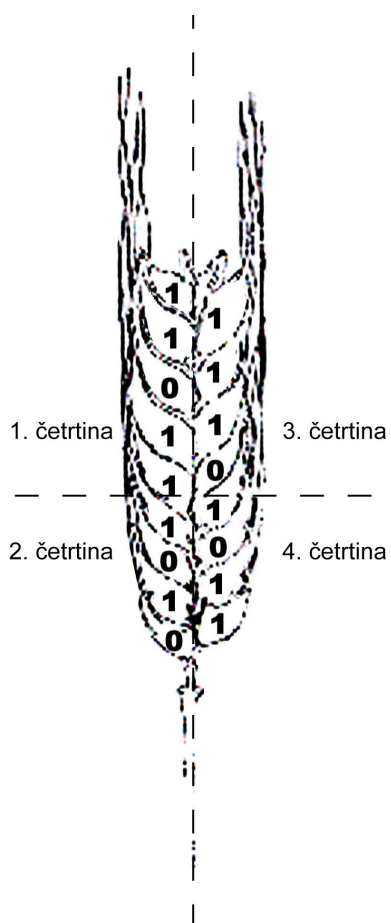
V prvi ponovitvi drugega sklopa gredic smo rastline oznaèili z 1K2T, 1B2T, 1C2T, 1D2T, 1E2T. V drugi ponovitvi drugega sklopa pa smo rastline oznaèili z 2K2T, 2B2T, 2C2T, 2D2T, 2E2T.

Sorta Orthega je zgodnja sorta jeèmena. V prvi polovici julija 2005 je pridelek dozorel, zato smo rastline pobrali. Rastline, ki so bile obsevane z odmerkom 1000 rad (oznaka B),

se fenotipsko niso razlikovale od tistih, ki jih nismo obsevali - kontrole, zato smo se odločili, da jih ne bomo pobrali. Rastline smo pobirali tako, da smo izkopalni cele rastline skupaj s šopom korenin. Na osnovi razraščanja poganjkov smo lahko določili glavni klas in stranske klase. Pri vsaki ponovitvi in pri vsakem testiranju (različni odmerki sevanja skupaj s kontrolo) smo tako pri vsaki rastlini razdelili klase na glavni klas in stranske klase. Vsako rastlino posebej smo shranili v svojo papirnato vrečko in nanjo napisali oznako. Nato smo vrečke s posameznimi ponovitvami in testiranjmi shranili v kartonske škatle, ki smo jih ustrezno označili npr.: K2, 2E1, C1, D3, 2K1T, B1 itd. Škatle smo nato shranili na ustrezno mesto.

3.2 OBDELAVA KLASOV

Klase smo začeli meriti v začetku oktobra 2005. Iz vsake vrečke smo za vsak klas, tako za glavnega kot za stranske klase, izdelali poseben diagram, kamor smo vnašali podatke o številu vseh klasov, o legi in številu fertilnih klaskov - klaskov s semenom in o številu in legi sterilnih klaskov - klaskov brez semena. Prazna mesta na klasu smo označili kot fertilne klase, ker smo predvidevali, da so jih najverjetneje požrli ptičji ali pa žuželke. Vsak klas smo razdelili na četrtine (slika 5), nato pa smo za vsako četrtino posebej vnašali v preglednico podatke v Excelu. Prvi štirje stolpci ponazarjajo cel glavni klas. Med glavnim in stranskimi klasi, če jih je rastlina imela, smo pustili en prazen stolpec. Vsak sklop s po štirimi stolpci na listu v Excelovem zvezku ponazarja po en klas posebej. Fertilne klaske smo označili z 1, sterilne pa z 0 (preglednica 1). Obdelali smo vse rastline.



Legenda:

1 - fertilno seme

0 - sterilno seme

Slika 5: Klas ječmena, ki smo ga razdelili na četrtine (shematski prikaz možnih sterilnih in fertilnih klaskov)

Preglednica 1: Preglednica, v katero smo vnesli podatke o rastlini jeèmena, kot je prikazana na primeru na sliki 5

C4, 6. rastlina									
Èetrtna	Glavni klas					Stranski klas			
	1. èetrtn.	2. èetrtn.	3. èetrtn.	4. èetrtn.		1. èetrtn.	2. èetrtn.	3. èetrtn.	4. èetrtn.
	1	1	1	1		1	1	1	1
	1	0	1	0		1	1	1	1
	0	1	1	1		1	1	1	1
	1	0	0	1		1	0	1	1
	1					1			0

Legenda:

C4 – rastline iz semen, obsevanih z odmerkom 1500 rad in posajene v èetrtni ponovitvi

6. rastlina - ponazarja rastlino z oznako številka 6

1 - fertilni klasek

0 - sterilni klasek

Iz zgornje preglednice je razvidno, da ima rastlina 6 dva klasa, enega glavnega in enega stranskega. V prvem, glavnem klasu je 17 nastavkov semen. 12 jih je polnih oz. fertilnih, 5 pa je praznih oz. sterilnih. V drugem, stranskem klasu pa je skupno število nastavkov semen 18. 16 je polnih, dva pa sta prazna. Rastlina je bila obsevana z odmerkom hitrih nevtronov 1500 radov.

3.2.1 Odstotek fertilnosti klasov

Od vsakega testiranja in ponovitve posebej smo naključno izbrali dvajset rastlin za obdelavo. Pri tistih testiranjih, kjer je bilo rastlin v eni gredici manj kot 20, smo obdelali vse rastline.

Najprej smo za vsak klas posebej prešteli število klaskov. Za tem smo prešteli vsa polna semena v enem klasu in izraèunali odstotek polnih oz. fertilnih semen. Rezultate smo ponovno vnesli v preglednico v Excelu, s pomoèjo katerega smo lahko izraèunali fertilnost glavnih klasov in tudi povpreèja fertilnosti stranskih klasov. Ko smo imeli vse podatke o sterilnosti vsakega glavnega klasa in povpreèje sterilnosti vseh stranskih klasov vsake rastline, smo postavili razrede fertilnosti in naredili preglednico, s pomoèjo katere smo uvrstili vsako rastlino v ustrezen razred (preglednica 2).

Preglednica 2: Razredi fertilitnosti klasov

Razred	a	b	c	d	e	f	g	h
Fertilnost [%]	0 - 4	5 - 9	10 - 14	15 - 19	20 - 24	25 - 29	30 - 34	35 - 39
Razred	i	j	k	l	m	n	o	p
Fertilnost [%]	40 - 44	45 - 49	50 - 54	55 - 59	60 - 64	65 - 69	70 - 74	75 - 79
Razred	r	s	t	u				
Fertilnost [%]	80 - 84	85 - 89	90 - 94	95 - 100				

Ko smo vsak glavni klas in povprečje stranskih klasov pri posamezni rastlini uvrstili v določen razred, smo prešteli, koliko klasov oz. rastlin spada v določen razred in naredili preglednico z razredi in števili rastlin v posameznem razredu (preglednica 3).

Naredili smo grafikone, ki prikazujejo število glavnih in število stranskih klasov v določenem razredu fertilitnosti za določen odmerek testiranja (slike 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13).

Narisali smo tudi grafikon, ki primerja povprečne fertilitnosti glavnih klasov po posameznih testiranjih s povprečji fertilitnosti stranskih klasov (slika 14).

Naredili smo nov diagram in vanj vnašali podatke o velikosti klasov, ki smo jih dobili s štetjem vseh klaskov, fertilitnih in sterilnih, pri vseh opazovanih rastlinah.

Naredili smo grafikon, ki prikazuje povprečno število klaskov v stranskih in glavnih klasih rastlin, obsevanih z različnimi odmerki hitrih nevtronov (slika 15).

Obdelali smo tudi povprečno število stranskih klasov na rastlino glede na odmerek sevanja (slika 16).

4 REZULTATI

Preglednica 3: Število klasov v posameznih fertilitnostnih razredih

Fertilitnostni razredi	Klasi po različnih obsevanjih							
	KG	KS	CG	CS	DG	DS	EG	ES
a	0	0	0	2	0	2	0	3
b	0	0	0	0	0	0	1	0
c	0	0	0	0	1	0	5	1
d	0	0	2	0	0	1	2	6
e	0	0	1	0	2	0	2	2
f	0	0	0	0	4	1	4	3
g	1	0	0	1	0	2	7	2
h	0	0	1	0	4	4	7	8
i	0	0	1	1	10	4	11	5
j	0	0	2	1	8	4	8	9
k	0	1	5	1	8	10	6	6
l	0	1	9	4	10	3	7	6
m	0	0	7	4	6	5	14	6
n	1	0	11	6	6	20	12	7
o	2	2	13	5	16	8	7	8
p	4	0	13	8	14	4	5	4
r	8	13	9	7	12	17	6	2
s	11	9	16	15	19	4	9	1
t	40	31	27	8	13	5	6	0
u	65	22	23	3	5	0	3	1

Legenda:

KG - glavni klasi neobsevanih rastlin

KS - stranski klasi neobsevanih rastlin

CG - glavni klasi rastlin, obsevanih z odmerkom 1500 rad

CS - stranski klasi rastlin, obsevanih z odmerkom 1500 rad

DG - glavni klasi rastlin, obsevanih z odmerkom 2100 rad

DS - stranski klasi rastlin, obsevanih z odmerkom 2100 rad

EG - glavni klasi rastlin, obsevanih z odmerkom 3000 rad

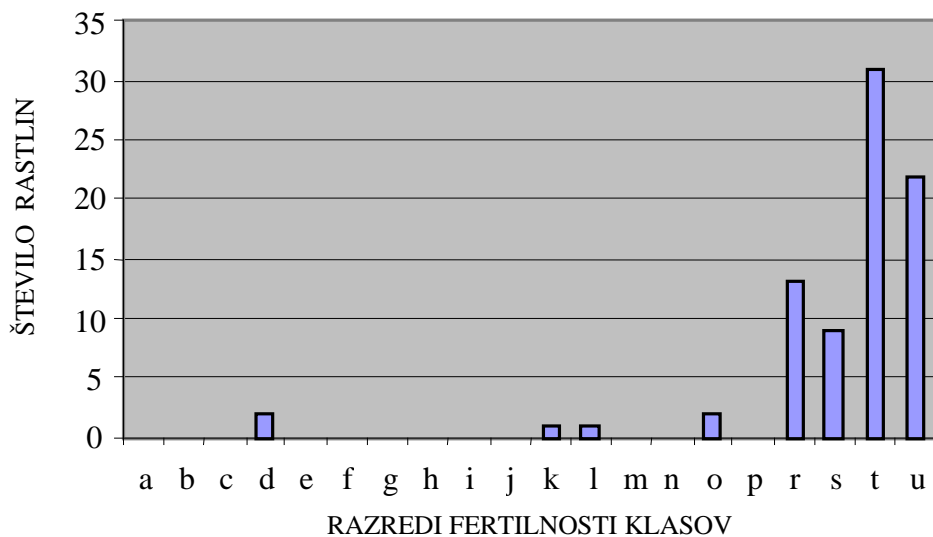
ES - stranski klasi rastlin, obsevanih z odmerkom 3000 rad

fertilitnostni razredi - predstavljeni v preglednici 1

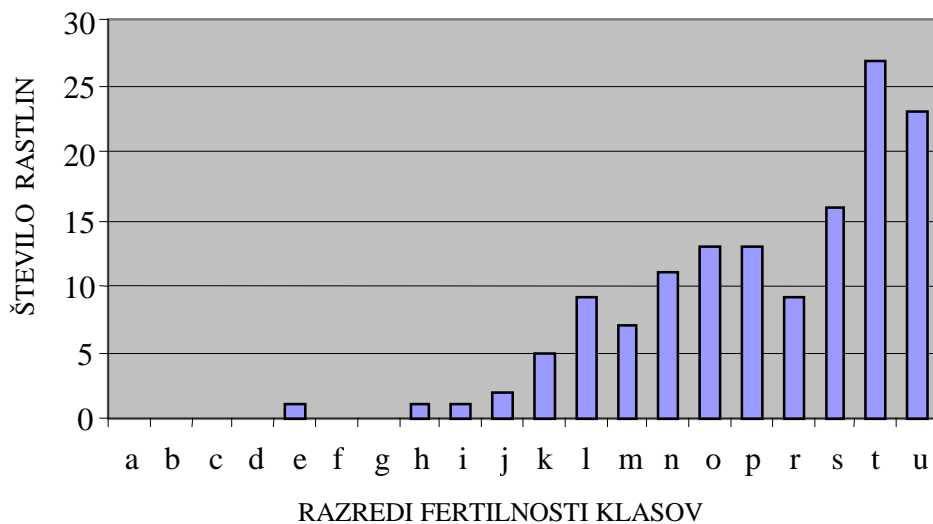
Iz slik št. 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, in 13 lahko razberemo, da statistična obdelava z analizo variance ni možna zaradi distribucije, ki ni normalna.



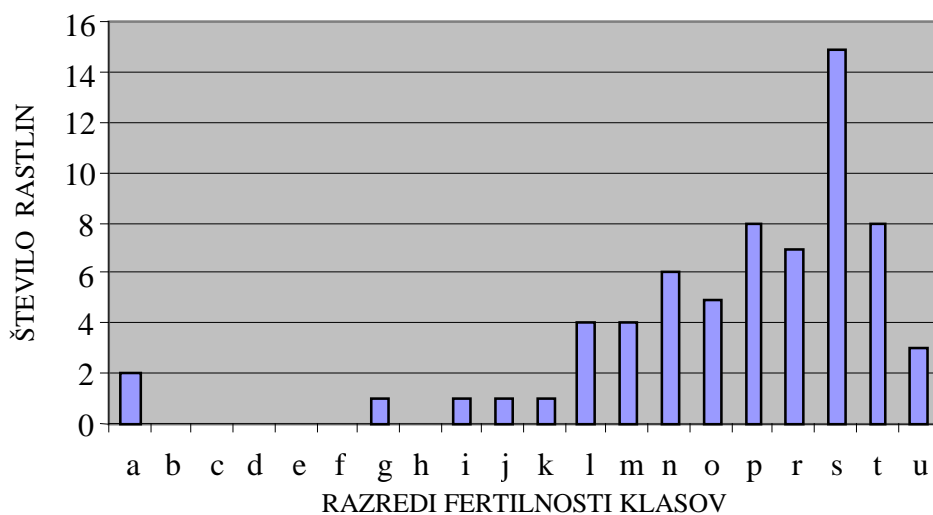
Slika 6: Fertilitet glavnih klasov pri neobsevanih rastlinah (razredi fertiliteti so predstavljene v preglednici 2)



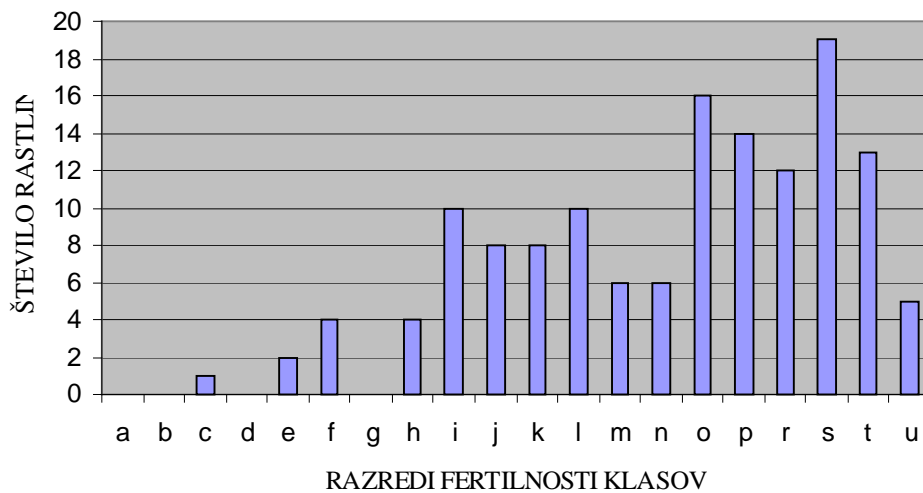
Slika 7: Fertilitet stranskih klasov pri neobsevanih rastlinah (razredi fertiliteti so predstavljene v preglednici 2)



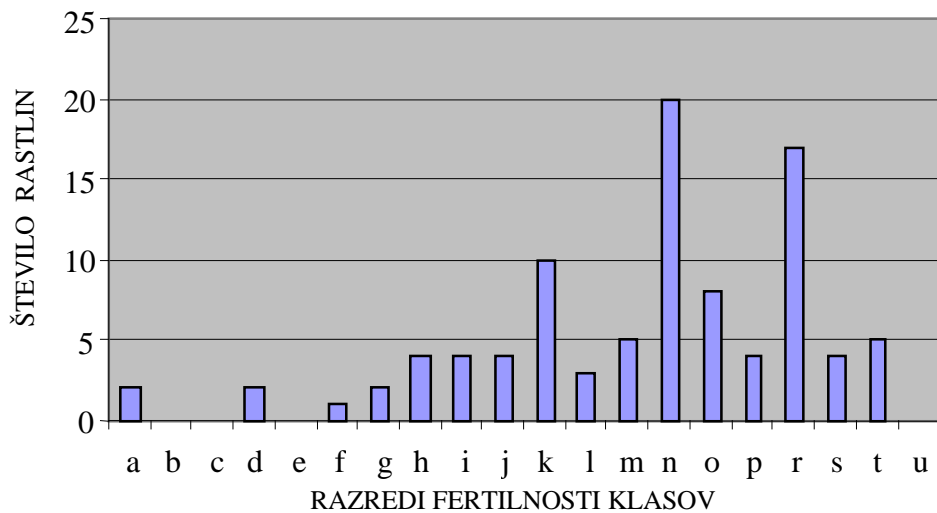
Slika 8: Fertilitnost glavnih klasov pri rastlinah, obsevanih z odmerkom 1500 rad (razredi fertilitnosti so predstavljeni v preglednici 2)



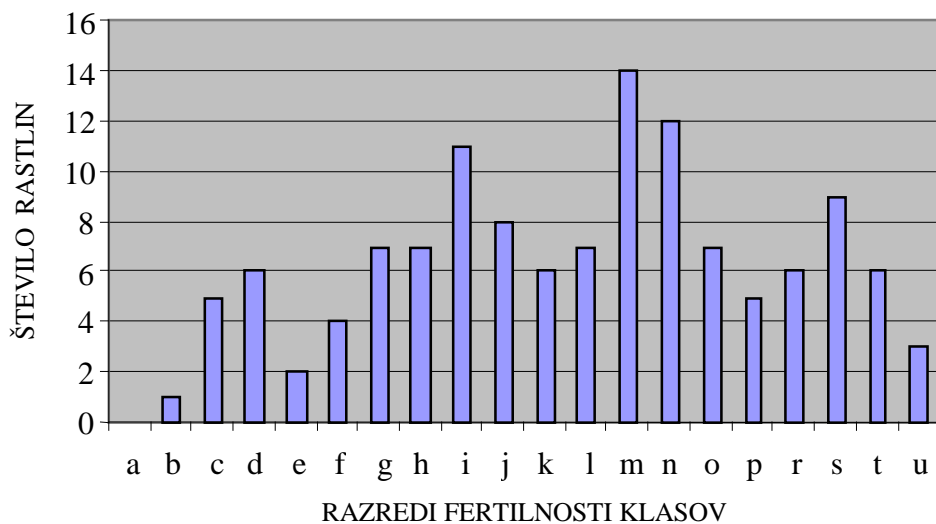
Slika 9: Fertilitnost stranskih klasov pri rastlinah, obsevanih z odmerkom 1500 rad (razredi fertilitnosti so predstavljeni v preglednici 2)



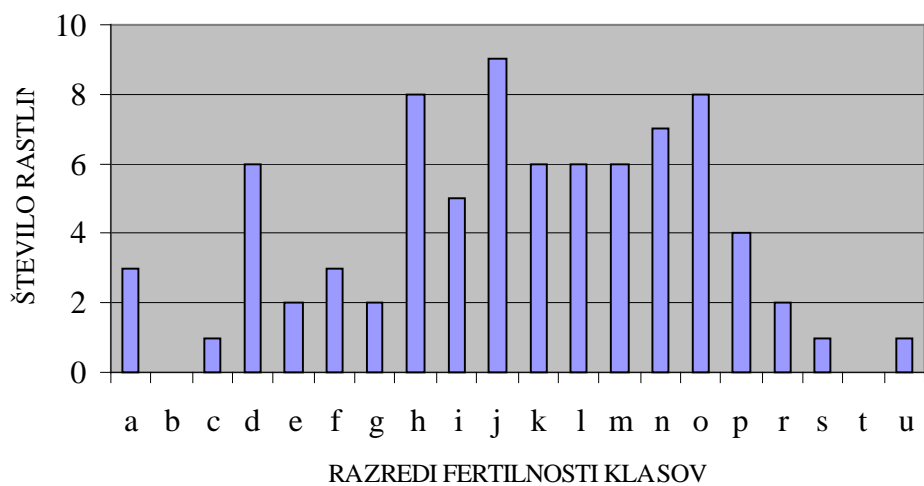
Slika 10: Fertilitet glavni klasov pri rastlinah, obsevanih z odmerkom 2100 rad (razredi fertiliteti so predstavljani v preglednici 2)



Slika 11: Fertilitet stranski klasov pri rastlinah, obsevanih z odmerkom 2100 rad (razredi fertiliteti so predstavljani v preglednici 2)



Slika 12: Fertilitnost glavnih klasov pri rastlinah, obsevanih z odmerkom 3000 rad (razredi fertilitnosti so predstavljeni v preglednici 2)



Slika 13: Fertilitnost stranskih klasov pri rastlinah, obsevanih z odmerkom 3000 rad (razredi fertilitnosti so predstavljeni v preglednici 2)

Pri neobsevanih rastlinah je največ glavnih klasov uvrščenih v razred u kar pomeni, da imajo 95 – 100 % fertilnost. Največ stranskih klasov spada v razred t, torej imajo 90 – 94 % fertilnost.

Pri semenih, obsevanih z odmerkom 1500 radov, so zrastle rastline, ki imajo največ glavnih klasov v razredu t in stranskih klasov v razredu s in imajo povprečno fertilnost v razponu med 85 in 89 %.

Pri semenih, obsevanih z odmerkom 2100 radov, je bilo največ glavnih klasov uvrščenih v razred s, največ stranskih klasov pa v razred n, kar pomeni, da imajo povprečno fertilnost od 65 – 69 %.

Pri najbolj obsevanih rastlinah, obsevanih z odmerkom 3000 radov, največ glavnih klasov spada v razred m in imajo povprečno fertilnost v razponu od 60 do 64 %. Največ stranskih klasov spada v razred j in je njihova povprečna fertilnost od 45 – 49 % (preglednica 4).

Preglednica 4: Razredi fertilnosti, v katere spada največ klasov neobsevanih ali obsevanih rastlin.

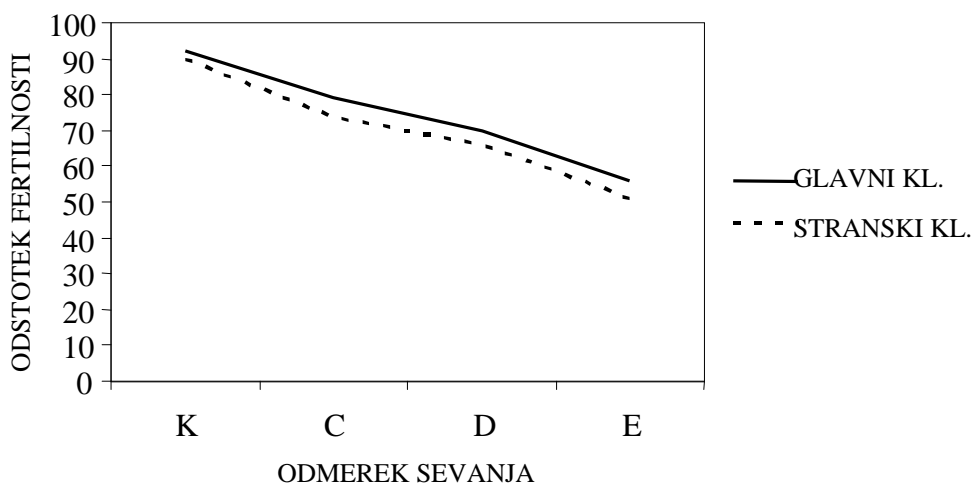
Odmerek obsevanja	Razredi fertilnosti, kamor so uvrščeni klasi	
	glavni klasi	stranski klasi
K	u	t
C	t	s
D	s	n
E	m	j

Legenda:

- K – neobsevane rastline
- C – rastline, obsevane z odmerkom 1500 rad
- D - rastline, obsevane z odmerkom 2100 rad
- E - rastline, obsevane z odmerkom 3000 rad

Èe izpišemo le oznake razredov: u, t, s, m – za glavne klase in t, s, n, j – za stranske klase opazimo, da je fertilnost pri vsakem večjem odmerku sevanja manjša.

Opazimo tudi, da ni velikih razlik med fertilnostjo glavnih in stranskih klasov (slika 14).



Slika 14: Primerjava povprečnih fertilitnosti glavni in stranski klasov glede na odmerek sevanja

Fertilnost glavnih in fertilitnost stranskih klasov linearno pada s povečevanjem odmerka sevanja. Pri neobsevanih rastlinah je povprečna fertilitnost glavnih klasov le za 2 % večja od fertilitnosti stranskih klasov, pri testu C (1500 rad) odstopa za 5 %, pri testu D (2100) odstopa za 4 % in pri odmerku E (3000 rad) za 5 % (preglednica 5).

Preglednica 5: Primerjava povprečnih fertilitnosti glavni in stranski klasov

	% fertilitnosti glavnih klasov	% fertilitnosti stranskih klasov
K	92	90
C	79	74
D	70	66
E	56	51

Legenda:

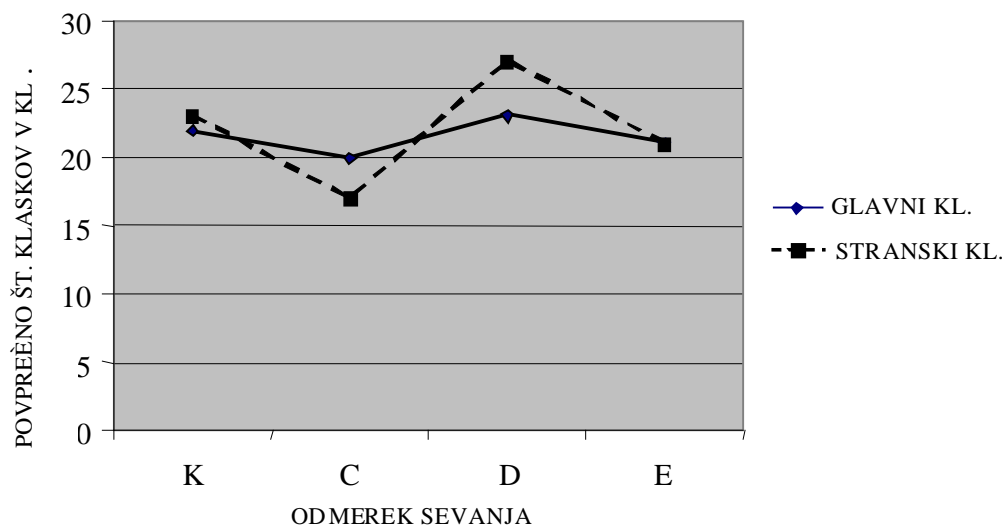
K – neobsevano seme

C – seme, obsevano z 1500 rad

D – seme, obsevano z 2100 rad

E – seme, obsevano z 3000 rad

Na grafu, ki prikazuje število klaskov v klasih, ni opaziti bistvenih razlik glede na odmerek sevanja (slika 15).



Legenda:

K – odmerek sevanja je 0 rad

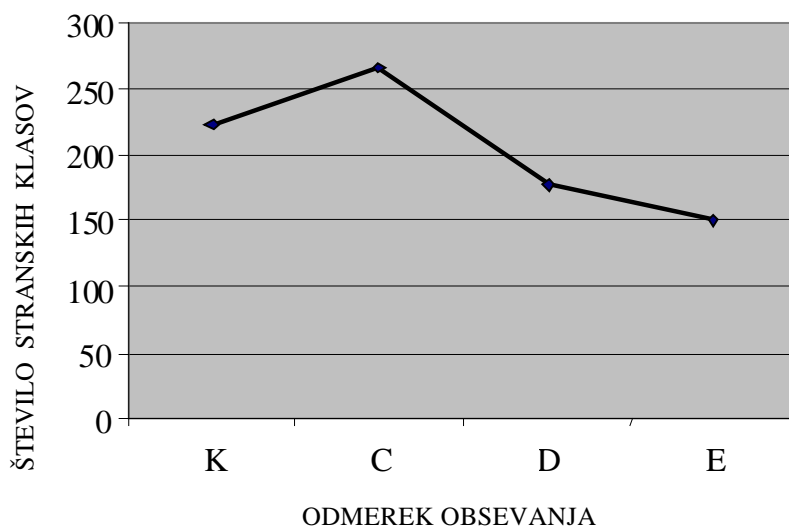
C – odmerek sevanja je 1500 rad

D – odmerek sevanja je 2100 rad

E – odmerek sevanja je 3000 rad

Slika 15: Število klaskov v glavnih in stranskih klasih rastlin, po različnih odmerkih obsevanja

Nazadnje smo grafično prikazali število stranskih klasov vseh rastlin (slika 16).



Legenda:

- K – neobsevane rastline
- C – rastline, obsevane k odmerkom 1500 rad
- D – rastline, obsevane z odmerkom 2100 rad
- E – rastline, obsevane z odmerkom 3000 rad

Slika 16: Število vseh stranskih klasov po posameznih odmerkih sevanja

Razbrati je mogoče, da število stranskih klasov pada z naraščajočim odmerkom sevanja.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

V naravi se organizmi spreminjajo že milijone let. V ta proces pa je posegel tudi èlovek tako, da je z raziskavami in poskusi ugotovil, da lahko tudi sam spreminja lastnosti organizmov.

Vse lastnosti živih bitij, ki so drugaène od lastnosti prabitij, so posledica sprememb njihovega dednega materiala. Ta proces imenujemo mutacija. Pojavlja se pri vseh živih bitjih tako v telesnih celicah, kot tudi v celicah zarodne linije, zato se spremembe prenašajo tudi na potomce. Mutacije lahko nastanejo spontano ali pa so izzvane s sevanjem delcev ali kemiènimi snovmi.

Namen raziskave je bil ugotoviti, kako hitri nevtroni vplivajo na rast in razvoj rastlin jeèmena. Osredotoèili smo se predvsem na fertilnost oz. sterilnost klasov, obdelali smo tudi število klaskov v klasih ter število klasov na posamezno rastlino. Opazovali smo rastline prve generacije iz obsevanih semen in ugotavljali spremembe v rasti in razvoju rastlin, po tretiranju s hitrimi nevtroni. Dokazati smo želeli, da s poveèevanjem odmerkov hitrih nevtronov zmanjšujemo rast in razvoj rastlin jeèmena.

Za raziskavo vpliva hitrih nevtronov na rast in razvoj rastlin jeèmena smo izbrali jeèmen sorte 'Orthegea'. Seme je bilo v reaktorju Inštituta Jožef Stefan tretirano s hitrimi nevtroni. Jeèmenovo seme je bilo obsevano z odmerki sevanja hitrih nevtronov: 1000 rad (B), 1500 rad (C), 2100 rad (D) in 3000 rad (E). Obsevano seme ter seme kontrole (oznaka K) smo posejali na dveh lokacijah v veè ponovitvah. Ko so rastline dozorele, smo jih pobrali in na osnovi razrašèanja poganjkov ugotavljali, kateri klas je glavni in kateri so stranski. Material smo nato shranili v škatle, ki smo jih oznaèili. Ko so se klasi posušili, smo zaèeli s štetjem klaskov. V preglednico smo vnašali podatke o fertilnih in sterilnih klaskih. Naključno smo izbrali 20 rastlin od vsake ponovitve pri vseh testiranjih. Pri tistih, kjer je bilo rastlin manj kot 20, smo obdelali vse rastline po vrsti. Izraèunali smo fertilnostne deleže glavnih in posebej stranskih klasov ter jih uvrstili v razrede fertilnosti, ki smo jih doloèili pred tem. Statistièna obdelava z analizo variance ni mogoèa, ker distribucija ni normalna. Obdelali smo tudi število klaskov v klasih s štetjem vseh klaskov, s fertilnimi in sterilnimi semeni. Prešteli smo tudi število stranskih klasov pri posamezni rastlini jeèmena.

5.2. SKLEPI

Na podlagi rezultatov lahko preverimo pravilnost na začetku postavljenih hipotez.

Hipoteza 1: Hitri nevtroni vplivajo na zmanjšano fertilitnost klasov rastlin iz obsevanih semen. Hipoteza se lahko potrdi. Na histogramih št. 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 in 13 je razvidno, da se fertilitnost manjša s povečevanjem odmerka sevanj.

Hipoteza 2: Hitri nevtroni vplivajo na število klaskov v klasih rastlin, ki so zrastle iz obsevanih semen. To hipotezo lahko zavrnamo na podlagi slike 15, na kateri niso vidne razlike v številu klaskov v klasih.

Hipoteza 3: Med glavnimi in stranskimi klasi ni razlike glede na fertilitnost klasov rastlin. Hipoteza se potrdi, saj nam preglednica 5 pokaže, da je največje odstopanje v primerjavi fertilitnosti glavnih in stranskih klasov le 6 %.

Hipoteza 4: Med glavnimi in stranskimi klasi ni razlik glede na število klaskov v klasu. Hipoteza se potrdi na podlagi odgovora na hipotezi 2 in 3.

Hipoteza 5: Med rastlinami iz obsevanih in neobsevanih semen ni razlik glede na število stranskih klasov. Hipotezo lahko zavrnamo, ker nam slika 16 pokaže padec v številu stranskih klasov glede na naraščajoče odmerke tretiranja.

6 POVZETEK

Jeèmen (*Hordeum vulgare*) spada v družino Poaceae, rod *Hordeum*. Je stara in dolgo znana poljšèina. Najstarejši jeèmen so našli v kraju Jarmo v Kurdistanu v Iraku. Med vsemi žiti je geografsko najbolj razširjen in genetsko najbolj prouèen.

Sevanje je pojav, pri katerem vir odda valovanje ali delce na vse strani. Glede na valovno dolžino valovanja in energijo delcev, ki je z njo povezana, poznamo ionizirno in neionizirno sevanje. Poleg naravnih virov ionizirnega sevanja poznamo tudi umetne vire sevanja alfa, beta, gama žarkov in nevtronov.

Semena jeèmena *Orthegea* smo obsevali z različnimi odmerki hitrih nevtronov ter semena posejali. Rastline, dobljene iz obsevanih semen smo prouèevali glede na morfološke lastnosti.

S štetjem semen, raèunanjem fertilnosti, razporejanjem rastlin v fertilnostne razrede, risanjem grafikonov in preglednic, smo preverili domneve, postavljene na zaèetku raziskave.

Ugotovili smo, da odstotek fertilnosti klasov z veèanjem odmerka sevanja pada, vendar ni opaziti razlik v fertilnosti med glavnimi in stranskimi klasi. V velikosti klasov ni posebnosti, zato lahko sklepamo, da uporabljeno sevanje nanjo nima bistvenega vpliva.

VIRI

Adler I. 1973. Fizika. Ljubljana, DZS: 157 str.

Ahloowalia B.S., Maluszynski M. 2000. Induced mutations - a new paradigm in plant breeding. V: Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture. Vienna, International Atomic Energy Agency: 167-173

Ahnström G. 1977. Radiobiology. V: Manual on mutation breeding. Vienna, International Atomic Energy Agency: 21-28

Ahnström G., Natarajan A.T. 1971. Repair of gamma-ray and neutron-induced lesions in germinating barley seeds. International Journal of Radiation Biology, 19, 5: 433-443

Al-Sabti K. 1993. Sevanje in citogenetske poškodbe. Ljubljana, samozaložba: 84 str.

Amon T. 2004. Genetika.

<http://www.eduanim.com/genetika>

Ashri A. 1989. Major gene mutations and domestication of plants. V: Plant domestication by induced mutation. Proceedings of an advisory group meeting on the possible use of mutation breeding for rapid domestication of new crop plants. Vienna, International Atomic Energy Agency: 3-9

Atkins P.W., Frazer M. J., Clugston M.J., Jones R.A.Y. 1997. Kemija - zakonitosti in uporaba. Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: 543 str.

Biologija. 2002 Tržič, Učila: 489 str.

Bohanec B. 2004. Osnove rastlinske biotehnologije. V: Gensko spremenjena hrana. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta: 2-28

Borojević K. 1991. Geni i populacija. Novi Sad, Prirodno - matematički fakultet, Institut za biologiju, Novi Sad: 541 str.

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: Nuklearna Elektrarna Krško.

[http://www.nek.si/sl/o_jedrski_tehnologiji/jedrski_reaktor/\(12.10.2007\)](http://www.nek.si/sl/o_jedrski_tehnologiji/jedrski_reaktor/(12.10.2007))

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 effect. 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

Kaj je sevanje? Termoluminescentna dozimetrija.

<http://td/kajradioaktivnost.htm> (16. 10. 2007)

Kocjan Aèko D. 1999. Jeèmen. Naša žena, 99, 2: 83-84

Kreft I. 1972. Kromosomske mutacije in himernost klasov pri jeèmenu. Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Kmetijstvo, 19: 197-206

Luèovnik J. 1999. Sto in eno vprašanje o dednosti. Ljubljana, ZRSS: 123 str.

Rozman L. 2004. Študijsko gradivo za vaje iz predmeta »Žlahtnjenje rastlin«. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 63 str.

Sinnott E. W., Dunn L. C., Dobzhansky T. 1969. Temelji genetike. Ljubljana, Cankarjeva založba: 422 str.

Statistièni urad Republike Slovenije, 2007

http://www.stat.si/novica_prikazi.aspx?id=1212

Strnad J. 1979. Fizika. Ljubljana, CZ: 255 str.

Tajnšek A. 1980. Strnine in koruza v Sloveniji. Ljubljana, Kmeèki glas: 167 str.

Temelji radiobiologije. Medenosrce. 2004.

<http://medenosrce.dsms.net/pogled.asp?D=625> (12.10.2007)

Zor T. 1977. Primerjava dedovanja gena »S« pri F₂ in F₃ generaciji jeèmena. Diplomsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta: 38 str.

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem svojemu mentorju akademiku prof. dr. Ivanu Kreftu za strokovno pomoč, vzpodbudo in nasvete.

Zahvaljujem se svoji mami za vso podporo, trud in potrpljenje.

Zahvaljujem se kolegici Nataši za vso pomoč.