
INFLUENCE OF GENOTYPE AND ENVIRONMENT ON SEED VIGOUR OF BARLEY

Ullmannová K., Chloupek O.

Department of Crop Science, Breeding and Plant Medicine, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: k.ullmannova@seznam.cz

ABSTRACT

High seed vigour is a precondition for fast and homogenous field emergence and good malting quality in barley. We evaluated the influence of population of 133 *Derkado* x *B83-12/21/5* double-haploid lines (DHL), plus their parents to six environments (2 locations x 3 harvest years) on grain vigour evaluated as germination percentage under stress conditions at 10 °C and drought stress of -0,2 MPa (permanent wilting point). The experiment was grown in two locations (Želešice, Hrubčice) and harvested in 2008 - 2010. The effects of genotypes and environments were estimated by analysis of variance. The results showed that the vigour was influenced mostly by environment (51 %, i.e. 32% by locations and 19% by years), less by the lines (8%) and by their interaction (37%) of the total variation. Average seed vigour of DHL was 94% from Želešice and 95% from Hrubčice, i.e. relatively high. Parental variety *Derkado* as the better parent showed higher vigour in worse location Želešice. These results are precondition for use of the vigour as a selection criterion in breeding; the genetic variability for the vigour (8%) was higher than for grain yield (usually 3-4%).

Key words: seed vigour, malting barley, germination

Acknowledgement: This study was supported by the project MSM 6215648905 and 1M0570.

ÚVOD

Pro úspěšné pěstování zemědělských plodin je limitujícím faktorem optimální založení porostu a jeho rychlé a uniformní vzházení, neboť jen takový porost splňuje předpoklad pro vysoký výnos tržního produktu. Při současné zvěšující se proměnlivosti povětrnostních podmínek se zvyšuje důležitost kvalitního rozmnožovacího materiálu, který se v takových podmínkách stává základem budoucího výnosu.

V praxi je kvalita osiva v systému certifikace osiv vyjádřena semenářskými hodnotami, jako je klíčivost, čistota, HTS, zdravotní stav, vlhkost, odrůdová pravost a čistota. Klíčivost je objektivní test, který se hodnotí za standardních optimálních laboratorních podmínek. Polní podmínky však zřídka odpovídají podmínkám laboratorním. Rozdíl mezi laboratorní klíčivostí a polní vzháživostí je zapříčiněn jak vnitřními podmínkami osiva, tak kombinací faktorů vnějšího prostředí. Korelace klíčivosti s polní vzháživostí je často nízká a závisí na podmínkách při vzházení a na vitalitě osiva. Malé rozdíly v procentu klíčivosti mohou odrážet velké rozdíly v kvalitě osiva a dosud nevyjasněný koncept vitality by k tomu měl v budoucnu přispět (Landjeva 2010).

Vitalita semen je dle Chloupka (2003) hodnocena jako potenciál semen pro rychlé a uniformní vzejití a pro vývoj normálního semenáčku za širokého spektra polních podmínek. Black a Bewley (2000) uvádějí, že vitalita není jednoduše měřitelná vlastnost, ale pojem popisující několik charakteristik, které zahrnují rychlost a uniformitu klíčití a růst, toleranci ke stresovým podmínkám po zasetí a udržení si vitality během skladování. Jinými autory je vitalita definována jako suma takových vlastností semen, které určují úroveň aktivity a projevu semen během klíčení a vzházení (Hampton and TeKrony 1995). Testy vitality, které měří pouze jeden faktor, určují nespolehlivě vitalitu semen, neboť jen kombinace několika faktorů může dát dobrou předpověď polní vzháživosti (Hampton a Coolbear 1990) právě proto, že vitalita je dána mnoha faktory.

Pouze málo testů je doporučeno ISTA (International Seed Testing Association) především z důvodů nízké reprodukovatelnosti mezi laboratořemi. Užitečné testy vitality jsou takové, které spolehlivě, kvantifikovatelně, rychle a jednoduše hodnotí kvalitu osiva a jsou relevantní k polním podmínkám (Dornbos 1995). ISTA dále uvádí že, vhodné jsou pouze testy, které mají vztah mezi laboratorním testem vitality a polním výnosem nebo skladovacím potenciálem a jestliže tyto vztahy jsou těsnější, než mezi laboratorní klíčivostí a výnosem na poli. (ISTA 2001).

Vitalita je ovlivněna genetickými i enviromentálními podmínkami (Bewley 2000, aj.). Výzkumu vlivu prostředí na vitalitu semen se věnovalo a věnuje značné úsilí (např. Sinniah et al. 1998), avšak

genetická kontrola vitality je méně známá. Proto se v posledních letech soustřeďuje značné úsilí tímto směrem. U *Arabidopsis* byly identifikovány QTL (Quantitative Trait Loci) pro klíčivost (Malmberg et al. 2005) i vitalitu (Clerkx et al. 2004) a byl popsán společný lokus pro klíčivost a počáteční růst (Argyris et al. 2005). Byly popsány výsledky studie věnované heritabilitě vitality u ječmene (Edney a Mather 2004) a jsou již známy i QTL související s vitalitou obilovin (Landjeva 2010), které mohou být pomocníkem pro šlechtitelskou praxi, protože je z nich patrné, se kterými vlastnostmi je v genetické vazbě.

Kvalita a vitalita zrna ječmene jarního hraje důležitou roli při sladování, neboť požadavky zpracovatelského průmyslu na kvalitu zrna sladového ječmene jsou stanoveny v normě ČSN 461100-5, která požaduje 98 % klíčivost. Vysoká vitalita je předpokladem dobré kvality semen a dobrého skladovacího potenciálu i rychlého a homogenního klíčení. Pouze zdravá semena mohou dosáhnout vysoké vitality semen (Chloupek 2003). Nízká klíčivost negativně ovlivňuje kvalitu sladu, protože nevyklíčená zrna jsou substrátem pro rozvoj plísní a jiných nežádoucích mikroorganismů, mohou zde také vznikat jedovaté mykotoxiny, které se přenášejí až do piva.

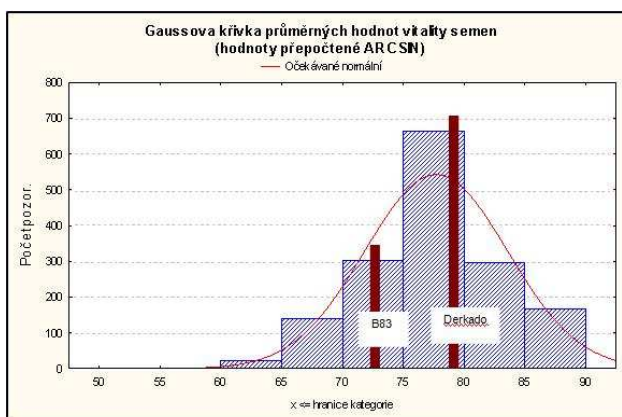
MATERIÁL A METODIKA

Pro test vitality obilek bylo použito 133 dihaploidních linií (DHL) jarního ječmene (*Hordeum vulgare L.*) z křížení odrůdy *Derkado* a linie *B 83/5*, které nesou rozdílné geny polozakrslosti *sdw1* a *arie-e*.GP. Rodičovské linie a DHL byly poskytnuty Dr. B. P. Forsterem ze Scottish Crop Research Institute Dundee a použity pro společný výzkum (Chloupek et al. 2006). Rodiče a DHL byly pěstovány v šesti prostředích, tj. ve třech ročních (2008, 2009, 2010) a na dvou pokusných lokalitách (Hrubčice a Želešice). Setí probíhalo na obou lokalitách vždy ve stejném termínu 10. 3. 2008, 6. 4. 2009 a 24. 3. 2010. Porost nebyl během vegetace ošetřován žádnými chemickými prostředky, probíhalo pouze průběžné mechanické odstraňování plevelných rostlin. V plné zralosti byly klasy vystřihány (18. 7. 2008, 5. 8. 2009, 3. 8. 2010) a následně vymláčeny na klasové mlátičce. Po ukončení dormance obilek (cca po 100 dnech) byly vzorky podrobeny laboratornímu testu vitality, která byla stanovena jako procento klíčivosti ve stresových podmínkách, tj. při chladu 10°C a za fyziologického sucha -0,2 MPa ve vodním roztoku polyethylenglykolu (PEG 6000), tato koncentrace představuje limit trvalého vadnutí rostlin. Metodika stanovení vitality semen byla popsána pro ječmen Chloupek et al. (1997).

VÝSLEDKY A DISKUZE

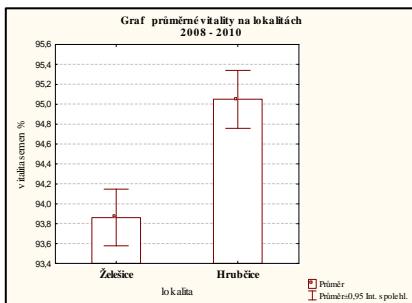
Rozdělení četnosti vitality semen DHL (graf č. 1) odpovídá normálnímu rozdělení (Gaussově křivce) a data mohla být proto zhodnocena analýzou variance. Hodnoty DHL leží převážně mezi hodnotami rodičů. Dané zjištění svědčí o převažující aditivní činnosti genů řídicích tuto vlastnost, což je pro šlechtění výhodné. Z grafu č. 1 je patrný efekt heteroze, neboť 29 DHL přesahuje ve své vitalitě lepšího z obou rodičů, což je důležitým předpokladem pro šlechtění.

Průměrná hodnota vitality obilek odrůdy Derkado ze všech šesti prostředí byla 96 % a statisticky významně se lišila od linie B83 (91,5 %). Průměrná hodnota Derkada ze Želešic byla 97 % a z Hrubčic byla hodnota nižší (95 %). Avšak průměrná hodnota linie B83 ze Želešic byla 91 %, kdežto z Hrubčic 92 %. Průměrná vitalita všech DHL z šesti prostředí byla 94,5 %, z Hrubčic 95,1 % a ze Želešic významně nižší (93,9 %, graf č. 2). Vitalita Derkada s vyšší vitalitou oproti horšímu rodiči B83 a DHL byla vyšší ze Želešic, tj. z horšího prostředí. To potvrzuje výsledky Chloupkova et al. (2003), že vliv odrůdy na vitalitu byl vyšší v nepříznivých letech, kdy vitalita dosahovala 61, 77, 86 % narozdíl od let dobrých, kdy převažoval vliv lokality a vitalita dosahovala hodnot převyšujících 94 %.

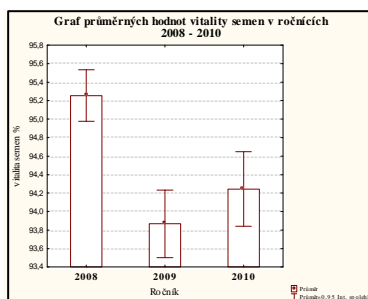


Graf. č. 1: Křivka rozdělení četnosti průměrných hodnot vitality ze šesti prostředí u 133 DHL ve srovnání s rodičovskými odrůdami

U odrůdy *Derkado* byla zjištěna nejvyšší vitalita semen v roce 2010 (98 %), nižší v roce 2008 (97 %) a v roce 2009 (93 %). Linie *B83* dosáhla v roce 2009 nejvyšší hodnotu 92 %, v roce 2008 (91,5 %) a v roce 2010 (91 %). Tyto hodnoty ukazují, že nejvyšší vitality dosáhl lepší rodič *Derkado* v roce 2010, a naopak nejnižší vitalitu dosáhl v tomto roce horší rodič *B83* ve srovnání s ročníkem 2009, kdy *Derkado* dosáhlo nejnižší průměrné hodnoty a linie *B83* nejvyšší vitality ze všech sledovaných let. Z grafu č. 3 je patrná nejvyšší průměrná hodnota vitality semen DHL 95,3 % v roce 2008, která se statisticky významně liší od hodnot naměřených v roce 2010 (94,3 %) a 2009 (93,9 %). Hodnoty vitality DHL v ročníku 2008 odpovídají středním hodnotám vitality semen obou rodičů, což odpovídá výkonu potomků, u nich se nacházejí geny obou rodičů. Pro šlechtění na vyšší vitalitu je tedy vhodné vybírat DHL, které měly nejlepší výkon v roce 2010 tedy jako horšího roku pro vysokou vitalitu, ale pro lepšího rodiče byl tento rok dobrý; u těchto DHL je předpoklad, že ve sledované vlastnosti budou mít geny po výkonnějším rodiči.



Graf. č. 2: Průměrné hodnoty vitality DHL na lokalitách.



Graf. č. 3: Průměrné hodnoty vitality DHL v ročnících.

Vliv odrůdy zjištěný celkovou analýzou variance pro ročníky 2008 až 2010 činil 7,7 % (v jednotlivých letech 12 – 31 %, v roce 2008 13,4 %, v 2009 12 % a v 2010 31,4 %). Z celkové analýzy variance činil vliv lokality 32,1 % (v 2008 70,3 %, v 2009 67,5 % a v 2010 28 %). Jak uvádí Sinniah et al. (1998), vitalita je polygenně založený znak, což se projeví ve vyšším vlivu prostředí (ročníku a lokality) na tuto vlastnost, než tomu je u znaků a vlastností, které jsou řízeny jedním nebo jen několika geny to je všeobecně známo. Vliv pokusných ročníků činil 19 %, interakcí a chyby 37,1 % (tab.č.1). Zjištěný podíl genetické proměnlivosti na celkové proměnlivosti byl poměrně vysoký, např. Laidig et al. (2008) v rozsáhlých oficiálních pokusech s výnosem (polygenně založeným znakem) jarního ječmene v Německu vypočítali vliv odrůdy na 3,5 %. Z toho vyplývá, že zjištěný podíl je dostatečně vysoký pro úspěšné šlechtění na vyšší vitalitu semen. Hrstková (2004) uvádí, že při testování osiva ječmene zkouškou kontrolované deteriorace byla nejvýznamnější odrůda, následovaná lokalitou a ročníkem. Vitalita v našich pokusech byla poměrně vysoká, ale v pokusech ze sedmi let (1992 – 2000) dosáhla ve třech z nich jen 61 – 86 %, v ostatních přesáhla 94 %. V těchto špatných letech měli vysokou vitalitu *Jubilant*, *Kompakt*, *Krona* a *Akcent* (Chloupek et al. 2003).

Tab. 1 Celková analýza variance hodnot vitality obilek ječmene zjištěných pro rok 2008 – 2010.

	Stupně volnosti	Variance	F	Průkaznost	Podíl faktorů na proměnlivosti (%)*
Ročník	2	456	19,5	0,000000	18,82
Lokalita	1	1334	57,2	0,000000	32,10
Odrůda	132	78	3,3	0,000000	7,74
a x b	2	627	26,9	0,000000	21,98
a x c	264	42	1,8	0,000000	5,72
b x c	132	28	1,2	0,069957	4,66
a x b x c	264	29	1,2	0,011370	4,76
Chyba	798	23			4,22

*a - ročník, b - lokalita, c - odrůda, * Podíl jednotlivých faktorů na celkové proměnlivosti na celkové variabilitě byl vypočten z hodnot směrodaté odchylky (tj. z druhé odmocniny variance).*

Vitalita obilek stanovená za uvedených podmínek, může sloužit jako selekční kritérium při šlechtění sladových odrůd, neboť postihuje stres sníženou teplotou, zkouška je prováděná při 10 °C. Při máčení a klíčení při výrobě sladu jsou zrna ječmene vystavena teplotám 12 až 15 °C Pelikán et al. (2004). Další možný stres, který je navozen při zkoušce vitality roztokem PEG je nedostatek vzduchu, při technologii dlouhého máčení; jak uvádí Prokeš (2000) doba zrna ve vodě je dlouhá a vzdušné přestávky krátké a proto dochází k vyšší výtěžnosti.

Při studiu vitality obilek ječmene spolupracujeme s Výzkumným ústavem v Dundee (Skotsko), zejména při identifikaci genů, řídicích vitalitu. Předběžné výsledky identifikovaly QTL pro vyšší vitalitu v blízkosti genu polozakrslosti *ari-e.GP* na chromozómu 5H, pocházející z rodiče *B 83*.

ZÁVĚR

Naše výsledky potvrzují významný podíl genotypu pro vitalitu obilek ječmene a jsou předpokladem pro využití vitality jako selekčního kritéria ve šlechtění. Výzkum a šlechtění na zlepšení vitality jsou však komplikované, vzhledem ke kvantitativní povaze dané vlastnosti a absenci metod, které jsou doporučeny organizací ISTA pro hodnocení vitality u obilovin. Jak uvádí nejen Finch-Savage (1995), vitalita semen však přispívá k ekonomickému úspěchu komerčně využívaných plodin a semenářské společnosti mají zájem mít způsob získávání objektivních odhadů vitality. Proto také ve spolupráci s vědci ze Scottish Crop Research Institute Dundee se snažíme nalézt molekulární markéry pro relevantní QTL, které by mohly selekci zefektivnit.

LITERATURA

- Argyris J et al. (2005): Quantitative trait loci associated with seed and seedling traits in *Lactuca*. *Theor. Appl. Genet.* 111: 1365-1376.
- Laiding F., Drobek T., Meyer U. (2008): Genotypic and environmental variability for cultivars from 30 different crops in German official variety trials. *Plant Breeding* 127: 541 – 547.
- Edney M. J., Mather D. E. (2004): Quantitative trait loci affecting germination traits and malt friability in a two-rowed by six-rowed barley cross. *Journal of Cereal Science* 39: 283-290.
- Hampton J. G., Coolbear P. (1990): Potential versus actual seed performance – can vigour testing provide an answer? *Seed Sci. Technol.* 18: 215-228.
- Betty M., Finch-Savage W.E., King G. J. Lynn J. R. (2000): Quantitative genetic analysis of seed vigour and pre-emergence seedling growth traits in *Brassica oleracea*. *New Phytol.* 148: 277-286.
- Clerckx et al. (2004): Analysis of natural allelic variation of *Arabidopsis* seed germination and seed longevity traits between the accessions Landsberg erecta and Shikdara, using a new recombinant inbred line population. *Plant Physiol.* 135: 432-443.
- Finch-Savage W.E. (1995): Influence of seed quality on crop establishment, growth and yield. In: Basra AS, ed. *Seed quality. Basic mechanisms and agricultural implications*. New York, USA: Haworth Press: 361.
- Hrstková P., Chloupek O., Bébarová, J. (2004): Effects of cultivar and provenance on vigour of barley seed. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* 40: 168.
- Chloupek O., Ehrenbergerová J., Ševčík R., Pařízek P. (1997): Genetic and non-genetic factors affecting germination and vitality in spring barley seed. *Plant Breeding* 166: 186-188.
- Chloupek O., Hrstková P., Jurečka D. (2003): Tolerance of barley seed germination to cold- and drought-stress expressed as seed vigour. *Plant Breeding* 3: 199-203.
- Chloupek O., Forster B. P. (2006): The effect of semi-dwarf genes on root system size in field-grown barley. *Theor Appl Genet* 112: 779 – 786.
- Landjeva S., Lohwasser U., Börner A. (2010): Genetic mapping within the wheat D genome reveals QTL for germination, seed vigour and longevity, and early seedling growth. *Euphytica* 171: 129 – 143.
- Venter A. (2001): Seed vigour Testing. *ISTA News Bulletin* 122, September 2001: 12 – 14.
- Pelikán, M., Dudáš, F., Míša, D. (2004): *Technologie kvasného průmyslu*. 2. vyd. Brno: Mendelova univerzita, 2004.
- Sinniah U., Ellis R., John P. (1998): Irrigation and seed quality development in rapid-cycling brassica: seed germination and longevity. *Annals of Botany* 82: 309 – 314.
- Hampton, J. G., Tekrony, D. M (1995): *Handbook of vigour test methods*. Zurich: ISTA, 117.

Dornbos, J. D.L. (1995): Seed Vigor. In: Seed Quality: Basic Mechanisms and Agricultural Implications. Basra, Haworth Press, Inc., New York. 45-80.

Malmberg RL et al. (2005): Epistasis for fitness-related quantitative traits in *Arabidopsis thaliana* grown in the field and in the greenhouse. *Genetics* 171: 2013-2027.