

ZÁKLADNÍ PRINCIPY ŠLECHTĚNÍ SLADOVNICKÉHO JEČMENE (1. ČÁST)

BASIC PRINCIPLES OF MALTING BARLEY BREEDING (PART 1)

IVAN LANGER, SELGEN, a. s., Šlechtitelská stanice Stupice, 250 84 Sibřina

Klíčová slova: ječmen, šlechtění, kvalita

Keywords: barley, breeding, quality

D. C. Smith v roce 1966 [1] definoval šlechtění jako „umění a vědu ve zlepšování genetického potenciálu rostlin“. Od té doby uplynulo mnoho let a ve šlechtění se uplatňuje stále více nových vědeckých poznatků, nicméně umění porozumět šlechtěným plodinám a umění využít výsledků výzkumu k jejich zlepšení zůstává nenahraditelnou součástí šlechtitelské práce. Uměním a vědou můžeme ale plným právem nazvat i výrobu kvalitního sladu a piva, to mají se šlechtěním společné.

Účelem tohoto článku je seznámit pracovníky sladoven a pivovarů s problematikou šlechtění sladovního ječmene, aby si mohli udělat správnou představu, jak probíhá šlechtitelský proces, co mohou od šlechtitelů a od jimi vyšlechtěných odrůd očekávat a jak rychle mohou šlechtitelé reagovat na měnící se požadavky zpracovatelského průmyslu. Článek by měl přispět k lepšímu vzájemnému porozumění a užší spolupráci mezi šlechtiteli a zpracovateli.

PŮVOD A ROZŠÍŘENÍ JEČMENE

Současné odrůdy jarního sladovního ječmene jsou na vrcholu evoluce druhu *Hordeum*, která probíhala po dlouhé desítky tisíc let přirozenou cestou a později, když se na scéně objevil člověk a začal pěstovat hospodářské plodiny, neuvědomělým výběrem. Teprve v posledních asi 150 letech rozvoj poznání přírodních zákonitostí vedl k uvědomělému výběru a cílevědomému šlechtění hospodářsky důležitých plodin.

Donedávna nebylo zcela jasné, odkud vlastně ječmen pochází. Nové studie, využívající metod molekulární genetiky [2], prokázaly, že kolébkou ječmene je tzv. úrodný půlměsíc na Středním Východě, v oblasti dnešního Izraele, Libanonu, Sýrie, Iráku, Íránu a Turecka. Nejstarší známky pěstování ječmene pocházejí z údolí Nilu (19 000 let př.n.l.), archeologické nálezy obilok kulturního ječmene v Íránu jsou datovány na dobu 8 000 let př.n.l. Na území dnešní České republiky byly nejstarší nálezy datovány již do starší doby kamenné [3]. Ze Střední Asie se ječmen postupně šířil do okolních zemí a dále na všechny kontinenty. Celosvětově je v současné době ječmen čtvrtou nejdůležitější obilovinou (za rýží, pšenicí a kukuřicí) a v roce 2002 byla globální plocha pěstování ječmene 54,01 mil. ha. Při průměrném výnosu 2,44 t.ha⁻¹ celková produkce činila 132,6 mil. tun zrna [4].

TAXONOMIE RODU *Hordeum*

Rod *Hordeum* patří do čeledi lipnicovitých (*Poaceae*) a od ostatních rodů této čeledi se výrazně odlišuje stavbou klasu – jeho klásky jsou jednokvěté. Dříve se rozeznávalo kolem 150 druhů ječmene. Současné moderní metody taxonomie, využívající poznatky molekulární genetiky, umožnily daleko přesněji určit stupeň příbuznosti v rámci rodu *Hordeum*

a většina dříve samostatných druhů je nyní zahrnuta do druhu *H. vulgare* nebo do jiných druhů jako poddruhy, takže počet samostatných druhů se snížil na 31 [5]. Asi polovina druhů rodu *Hordeum* je diploidních ($2n=14$), ostatní druhy jsou tetraploidní ($2n=28$) nebo hexaploidní ($2n=42$). Kulturní formy pěstovaného ječmene patří do poddruhu *H. vulgare* ssp. *vulgare*. Pro šlechtění mají význam ještě *H. vulgare* ssp. *spontaneum*, *H. bulbosum*, případně některé další druhy.

GENOM JEČMENE A BIOLOGIE KVETENÍ JEČMENE

Kulturní ječmen *H. vulgare* ssp. *vulgare* je diploid se 7 páry chromosomů, označovaných 1H až 7H. Malý počet chromosomů a diploidní stav jsou výhodné pro genetické studie, proto se ječmen stal často používanou modelovou rostlinou pro genetický výzkum. Díky tomu byly jeho chromosomy brzy velmi podrobně prozkoumány a v současnosti již je lokalizováno mnoho set genů nejruznějších znaků a vlastností. Pokrok v molekulární genetice kromě toho umožnil i lokalizaci velkého počtu tzv. molekulárních DNA markerů využitelných ve šlechtění ječmene. Lokalizace jednotlivých genů na chromosomech je nejlépe patrna na tzv. chromosomových mapách (obr. 1).

Biologie kvetení má zásadní důležitost pro volbu odpovídajících metod šlechtění. Ječmen je rostlina samosprašná, až na malé výjimky se opyluje pouze vlastním pylem. K opylení dochází velmi brzy, když jsou ještě kvítky uzavřené a celý klas je ukryt v pochvě posledního listu (kleistogamie).

GENETICKÁ VARIABILITA, INTERAKCE GENOTYPU A PROSTŘEDÍ

Základním šlechtitelským postupem

je výběr, který může být účinný pouze v populaci s dostatečnou genetickou variabilitou. V materiálech geneticky uniformních (čistých liniích) nemá výběr žádný účinek, i když se jednotlivé rostliny v čisté linii mohou navzájem lišit v důsledku vlivu prostředí. Takové odlišnosti jsou nedědičné, v potomstvu se neprojeví. Interakce genotypu s prostředím je pro šlechtitele značným problémem, protože při výběru na různé znaky s ní musí počítat a vhodnými postupy její vliv na správnost výběru omezit. Různé znaky jsou prostředím různě silně ovlivňovány, mají různou dědivost (heritabilitu). To je nutno vzít v úvahu při volbě metody pro výběr na ten který znak.

V přírodě vzniká genetická variabilita spontánními mutacemi, tj. náhodnými dědičnými změnami nejruznějších znaků. Příčinou spontánních mutací jsou různé druhy přirozeného ionizujícího záření (rozpad radioaktivních prvků v horninách, kosmické záření), některé produkty fyziologických a biochemických procesů v buňkách, případně další vlivy. Naprostá většina mutací je pro rostlinu nevýhodná a je v průběhu přirozeného výběru z populace dříve či později eliminována. Příznivé mutace naopak jejich nositele zvyšují a přirozenou selekcí dochází k jejich rozšíření. U cizosprašných rostlin dále dochází ke vzájemnému křížení a vznikání nových genových kombinací. U rostlin samosprašných ke spontánnímu křížení dochází pouze sporadicky, a proto se u nich rekombinace v přirozeném vývoji nových forem uplatňuje v menší míře.

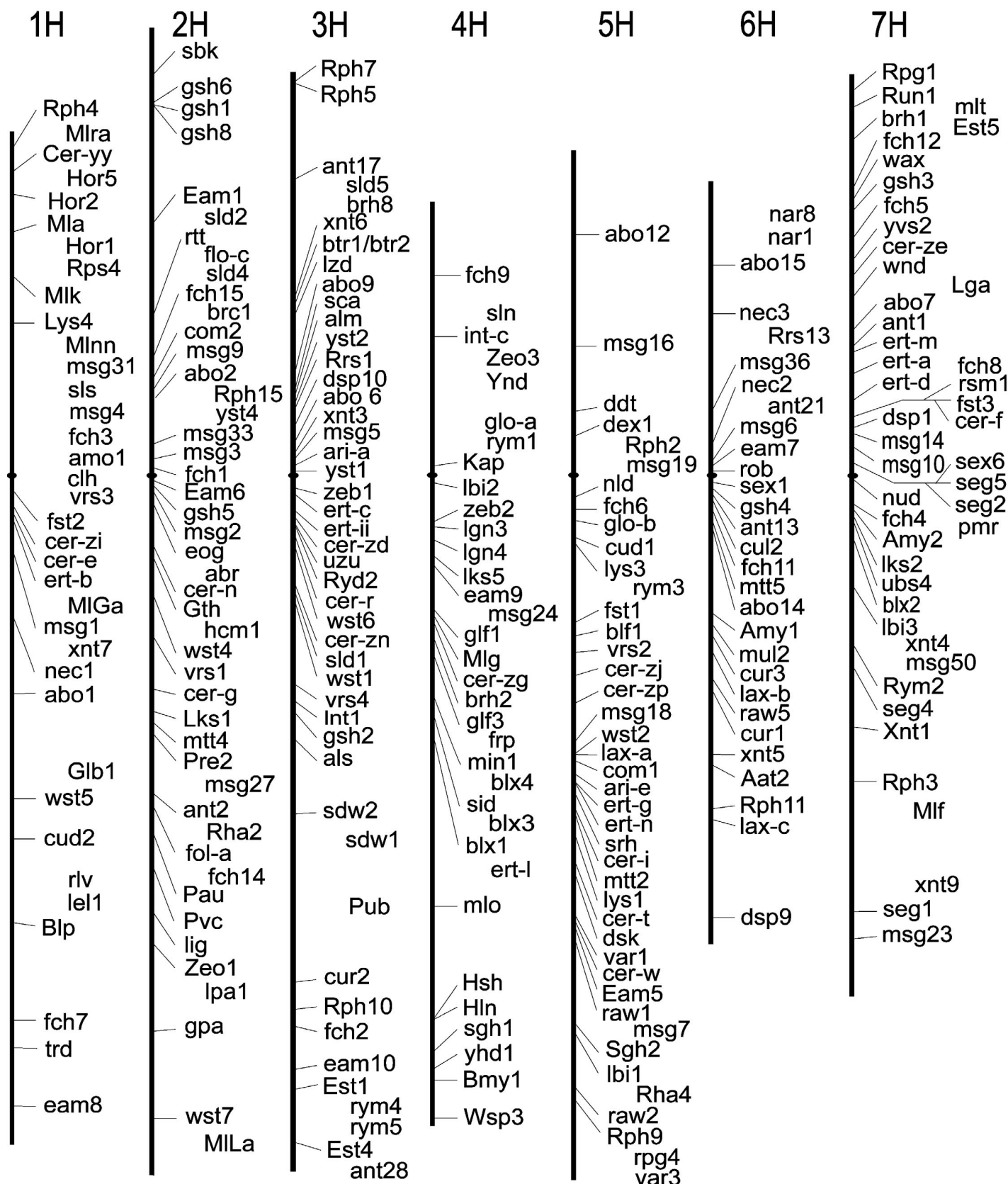
Přirozeně vzniklé genetické variability využíval člověk již od pradávna. Když pro výsev vybíral vždy nejlepší klasy z nejlepších porostů, prováděl tak výběr, i když ještě neuvědomělý. Později, od druhé poloviny 19. století a na začátku 20. století, kdy byly poznány základní

principy genetiky a dědičnosti, už šlechtitelé prováděli výběr uvědomělý v populacích krajových odrůd.

Časem se ukázalo, že genetická variabilita krajových odrůd je v podstatě již vyčerpána a začalo se používat záměrného křížení dvou různých rodičů. V je-

jich potomstvu pak byla prováděna selekce na žádané vlastnosti. Křížení zůstává hlavní metodou tvorby genetické variability dodnes a naprostá většina odrůd vznikla výběrem v populacích vzniklých křížením vhodných rodičovských forem.

V 60. letech 20. století byla věnována velká pozornost uměle indukovaným mutacím vyvolaným ionizujícím zářením nebo různými chemickými látkami. Bylo získáno mnoho hospodářsky cenných mutací a řada odrůd, nesoucích uměle indukovanou mutaci, byla regist-



Obr. 1 Chromosomová mapa ječmene

Tab. 1 Parametry sladovnické jakosti

	Bodové hodnocení pro USJ				Slad pro pivo českého typu
	1 b.	9 b.	9 b.	1 b.	
BZ [%]	9,5	10,7	11,2	11,9	x
EX [%]	81,5	83			min. 81,5
REX [%]	35	40	48	53	max. 38±1
KČ	40	42	48	53	39±1
DM [j.WK]	220	300			min. 220
DSP [%]	79	82			max. 80±1
FRI [%]	79	86			min. 75
BGL [mg.dm ⁻³]	250	100			max. 250

Bodové hodnocení:

9 – nejlepší, 1 – nejhorší, nepřijatelné

BZ – obsah bílkovin v zrně ječmene

EX – extrakt v sušině sladu

REX – relativní extrakt při 45 °C

KČ – Kolbachovo číslo

DM – diastatická mohutnost

DSP – dosažitelný stupeň prokvašení

FRI – friabilita

BGL – obsah β -glukanů ve sladině

rována u nás i v zahraničí. Snad nejvýznamnější mutanční odrůdou byl jarní ječmen Diamant, který vznikl z odrůdy Valtický po ozáření rentgenovými paprsky.

V posledních desetiletích došlo k ohromnému pokroku v oblasti molekulární genetiky. Genetické inženýrství umožňuje cíleně zasahovat do genomu rostlin a získávat jedince se zcela novými vlastnostmi, kterých nebylo dosud možno docílit klasickými metodami šlechtění. Praktické využití metod molekulární genetiky pro indukci genetických změn i pro efektivnější výběr na žádané znaky se v současné době stává realitou.

ZÁKLADNÍ ETAPY ŠLECHTITELSKÉHO PROCESU

Celý proces šlechtění můžeme rozdělit do několika hlavních etap, z nichž každá má pro dosažení konečného úspěchu podstatný význam. Nejprve musí být jasně definován cíl, kterého má být dosaženo. S ohledem na tento cíl šlechtitel volí vhodný výchozí materiál a metodu šlechtění i strategii a metody výběru na jednotlivé požadované znaky. V průběhu šlechtění je získáváno ohromné množství dat, která je nutno analyzovat, provést jejich syntézu a správně je interpretovat. Závěrem úspěšné šlechtitelské práce je potom registrace nové odrůdy a její prosazení v pěstitelské praxi a ve zpracovatelském průmyslu.

ŠLECHTITELSKÝ CÍL

Pro sladovnický ječmen je šlechtitelský cíl, pokud jde o jakost, dán požadavky sladen a pivovarů. Hlavními ukazateli sladovnické jakosti jsou obsah bílkovin v zrně, extrakt v sušině sladu, relativní extrakt při 45 °C, Kolbachovo číslo, diastatická mohutnost, dosažitelný stupeň prokvašení, friabilita a obsah β -glukanů ve sladině, ze kterých se pro orientační hodnocení ja-

kosti vypočítává ukazatel sladovnické jakosti (USJ) [6]. Různé pivovary ale mají odlišné požadavky na parametry sladu, vhodného pro výrobu určitého druhu piva na daném technologickém zařízení, proto nemůže být USJ univerzální mírou jakosti. V současné době u nás došlo k důležitému kroku v této oblasti: při rozhodování o registraci sladovnických odrůd ječmene se přihlíží k názoru zástupců pivovarů a sladen a rozlišují se dvě jakostní

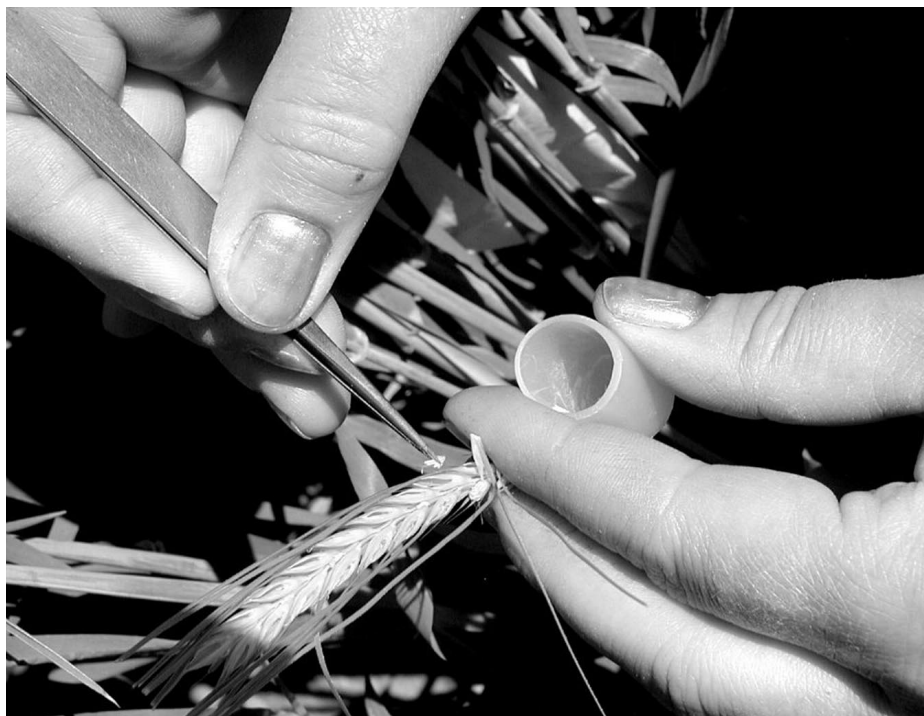
jemnost pluchy aj. Do pojmu sladovnická jakost patří i další znaky – délka dormance, stejnoměrnost a rychlost klíčení, které podstatnou měrou ovlivňují proces sladení.

Sladovnická odrůda ječmene musí samozřejmě splňovat celou řadu požadavků na agronomické a hospodářské znaky: vysoké hektarové výnosy předního zrna (zrno nad 2,5 mm), přiměřená délka vegetační doby, odolnost proti poléhání a lámání stébla, odolnost proti chorobám, odolnost proti abiotickým stresům.

Je nutné si uvědomit, že šlechtitelský proces je dlouhodobá záležitost, od křížení do registrace odrůdy uplyne nejméně 10–12 let, často i více. Cíl šlechtění proto musí být na počátku procesu stanoven s perspektivou na delší období, protože měnit zaměření v průběhu šlechtění je velmi problematické, často i nemožné (např. z potomstva určitých rodičovských genotypů vybraných s konkrétním cílem nelze vybrat linie s jinými, nově požadovanými vlastnostmi).

VÝCHOZÍ MATERIÁL

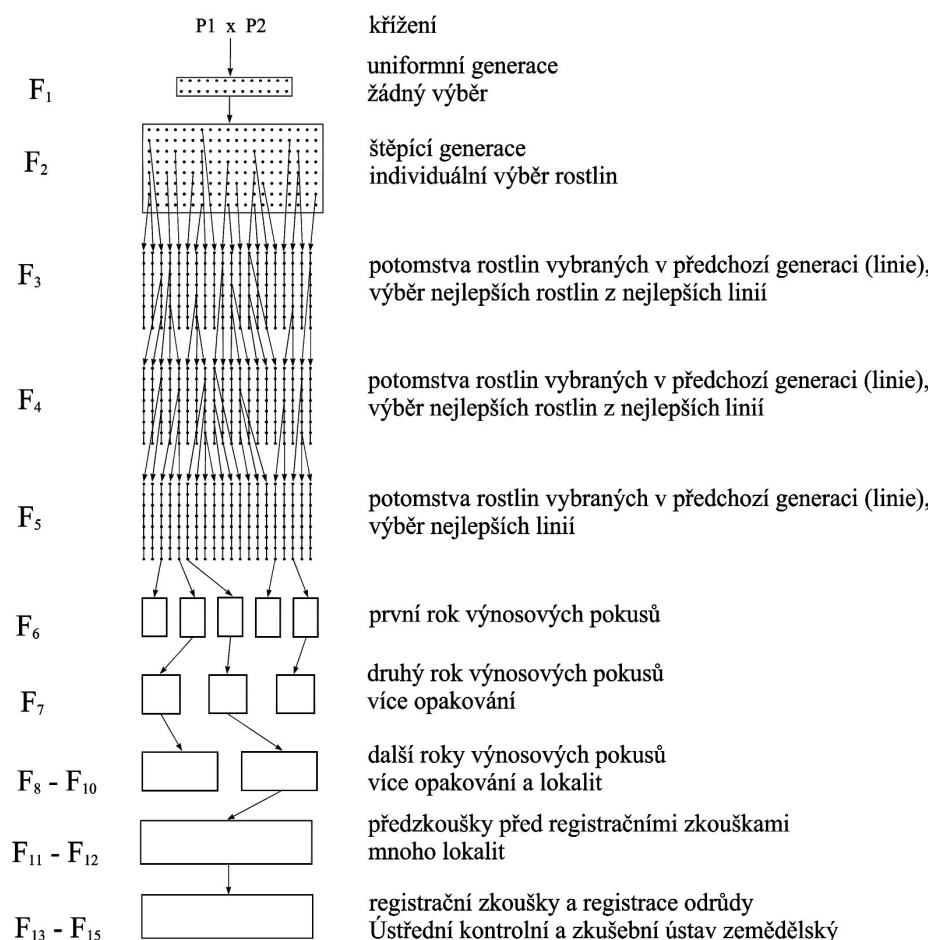
S ohledem na cíl šlechtění šlechtitel volí vhodný výchozí materiál tak, aby



Obr. 2 Křížení jarního ječmene

skupiny podle požadavků na parametry sladu určeného jednak pro běžné typy piv a jednak pro vysoce jakostní piva českého typu [7] (tab. 1). Uvedené parametry jakosti jsou komplexní znaky a jejich hodnota je výslednicí působení mnoha různých faktorů. Důležitý je obsah, aktivita, příp. termostabilita desítek až stovek enzymů, ale i např. velikost a struktura škrobových zrn, velikost a tvar zrna,

jeho genetické založení dávalo předpoklad pro úspěšný výběr linií splňujících požadovaný šlechtitelský cíl. Správný výběr výchozího materiálu je zásadní podmínkou pro dosažení vytčeného cíle, z nevhodného výchozího materiálu nelze vyšlechtit odrůdu požadovaných vlastností. Zvolit správně výchozí materiál ale není jednoduchá záležitost, protože šlechtitel pracuje s mnoha geneticky velmi komplexními znaky a vlast-



Obr. 3 Rodokmenová (pedigree) metoda šlechtění ječmene

nostmi a spolehlivá předpověď, který výchozí materiál bude pro dosažení žádoucího výsledku nejvhodnější, není možná. Existují sice určitá doporučení a návrhy metod výběru výchozího materiálu (např. [8] [9] [10] aj.), ale žádná z nich není použitelná bez výhrad. Proto musí být v praktickém šlechtitelském programu vždy rozpracován široký výchozí materiál s tím, že velká většina kombinací bude v průběhu selekce vyřazena.

Dominující metodou vytváření genetické variability je stále křížení dvou různých genotypů. Vzhledem ke kleistogamickému kvetení je nutno ještě před vymetáním klasu kvítky kastrovat (odstranit nezralé prašníky), klasy izolovat, aby nedošlo k nežádoucímu opylení cizím pylem a po několika dnech opylit vybranou otcovskou formou (obr. 2). Výchozím materiálem pro křížení jsou tedy rodičovské formy, v jejichž potomstvu očekáváme vyštěpení žádoucí kombinace genů. Pro křížení se většinou využívají osvědčené domácí i zahraniční odrůdy s vynikajícími vlastnostmi, adaptované na dané přírodní podmínky. Pro speciální cíle, např. přenesení nějaké jednoduše geneticky založené vlastnosti (nejčastěji odolnosti proti chorobám) do výkoného genotypu, se mohou použít i ječ-

meny, které nejsou pro dané podmínky adaptované, např. odrůdy a genové zdroje ze světového sortimentu nebo i nekulturní příbuzný poddruh *Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum*.

Výchozí materiál je neméně důležitý i při šlechtitelských postupech využívajících indukované mutace nebo metody genetického inženýrství.

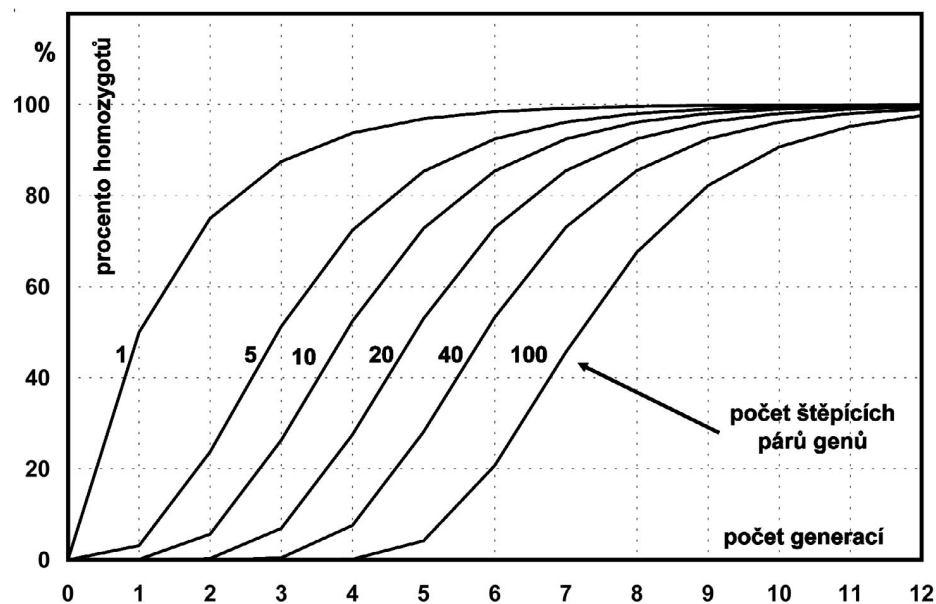
ŠLECHTITELSKÉ METODY

Základním kritériem pro volbu šlechtitelské metody je způsob rozmnožování šlechtěné plodiny. Ječmen je rostlinou samosprašnou, proto je nutno použít některou z metod vhodných pro tento typ rostlin. Dalšími faktory, které mají vliv na výběr šlechtitelského postupu, jsou šlechtitelský cíl, použitý výchozí materiál, technické a ekonomické podmínky pracoviště ale i zkušenosti a názory šlechtitele.

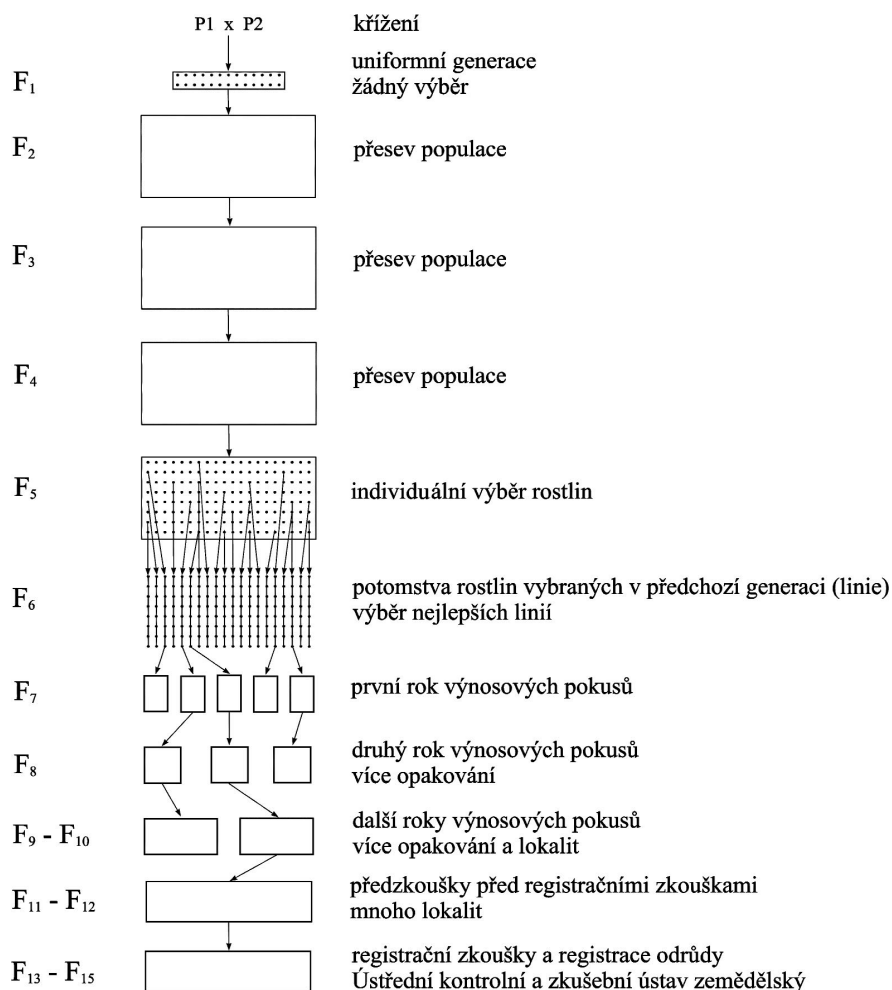
Při konvenčním šlechtění samosprašných rostlin se používá mnoho různých postupů a jejich variant, z nichž základními a podstatně se lišícími jsou metoda rodokmenová (pedigree) a metoda populační. Kromě toho existují zvláštní postupy pro různé specifické účely a pro metody mutačního šlechtění a genetického inženýrství.

Rodokmenová (pedigree) metoda je založena na opakovaném každoročním individuálním výběru rostlin nebo klasů po několika generacích s následujícími zkouškami výkonu v několika stupních (obr. 3). Po křížení dvou homozygotních rodičů je generace F₁ geneticky uniformní, proto se s výběrem začíná v generaci F₂, kdy dochází ke štěpení. V této generaci je však většina rostlin v heterozygotním stavu a teprve postupně v dalších generacích rapidně vzrůstá podíl rostlin homozygotních (obr. 4). Individuální výběr je možno ukončit až po dosažení dostatečné fenotypické i genotypické uniformity. V této čisté podobě se pedigree metoda již prakticky nepoužívá, protože je pracovně a časově náročná a v potomstvech rostlin (klasů) je obtížné provádět výběr na kvantitativní znaky.

Protikladem rodokmenové metody je **metoda hromadně populační** (obr. 5). Po křížení se obvykle až do generace



Obr. 4 Podíl homozygotních rostlin v různých generacích po křížení

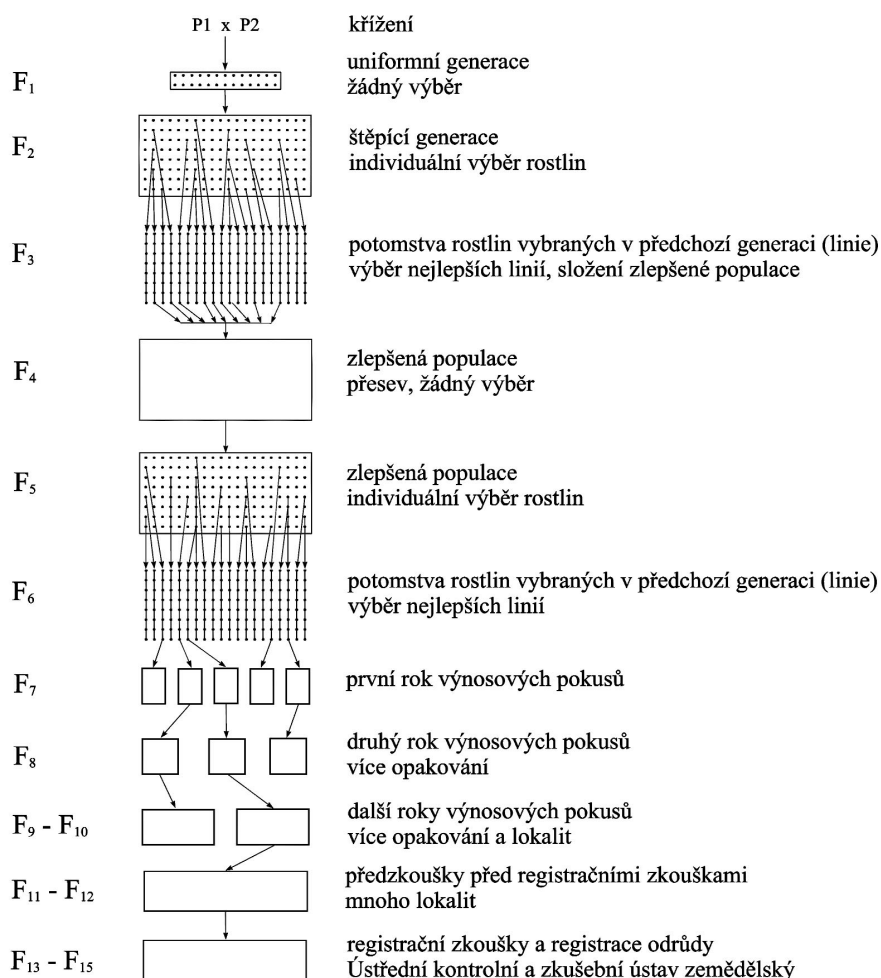


Obr. 5 Hromadně populační metoda šlechtění ječmene

F5 neprovádí žádný výběr, materiál se pouze přesévá jako populace. V materiálu přibývá homozygotních rostlin, celková variabilita zůstává zachována. Potomstva rostlin vybraných v F5 jsou většinou již dostatečně vyrovnaná a v následujících letech je možno přistoupit k hodnocení výnosu. Tento postup je méně pracný, ale nevýhodou je fakt, že v populacích dochází vlivem konkurence mezi rostlinami k přirozenému výběru, jehož směr může být v rozporu se šlechtitelským cílem, a ke genetickému driftu, který má za následek redukcí genetické variability populace.

Tento nedostatek odstraňuje **single seed descent (SSD) metoda**, někdy také označovaná jako jednozrnný raměš [11]. Spočívá v tom, že počínaje F2 se do další generace vysévá vždy pouze jedno zrna z každé rostliny. Tím je zaručeno zachování genetické variability bez vlivu přirozeného výběru a genetického driftu. Přesévané populace musí mít dostatečný rozsah (řádově stovky rostlin), což je podstatně méně než při hromadně populační metodě. Proto je možno celý proces výrazně urychlit pěstováním mimovegetačních

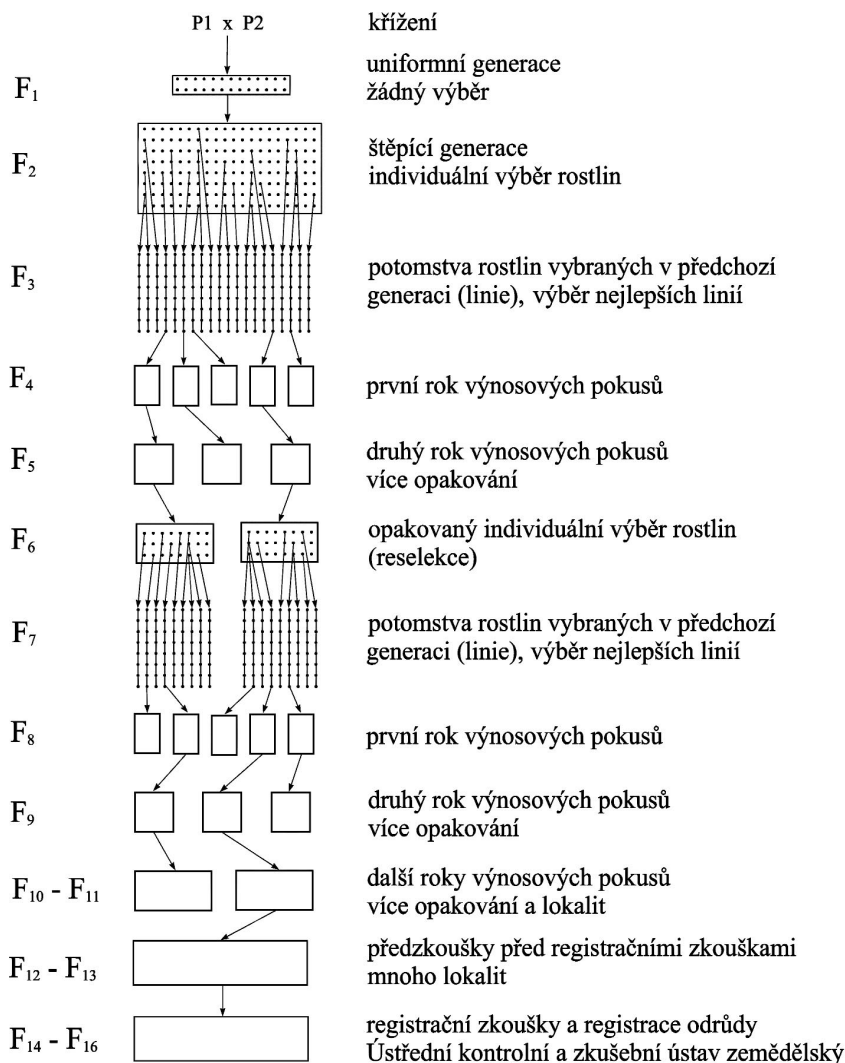
Obr. 6 Metoda populačně-rodokmenová



generací ve skleníku nebo v lokalitách na jižní polokouli. Po několika generacích přesetých tímto způsobem se zahájí individuální výběr a zkoušení vzniklých linií.

Jako příklad jedné z mnoha variant šlechtitelských postupů, používaných v praktických programech šlechtění ječmene, je tzv. **metoda populačně-rodokmenová** [12] (obr. 6). Počáteční generace F1 až F3 jsou stejné jako u pedigree metody, v F3 se však již neprovádí individuální výběr, ale vybírají se nejlepší linie a v rámci nich nejlepší rostliny různého typu, aby byla zachována genetická variabilita. Počet vybraných linií a rostlin musí být dostatečně velký (desítky linií z jedné kombinace a desítky klasů z jedné linie). Sklizené zrna z jedné kombinace se smíchá dohromady a do F4 se vyseje jako nová, zlepšená populace. V F4 se neprovádí žádný výběr, populace se znovu vysévá v F5 generaci. Možnou variantou je screening, např. na podíl předního zrna v populacích F4 a F5 tříděním na sítích. Znovu zahájit individuální výběr lze v F5 nebo v F6 generaci, následovaný zkoušením jednotlivých linií.

Jiným příkladem může být **metoda raného zkoušení výnosu** (někdy též označovaná jako metoda potomstev F2 rostlin) [11]. Při použití této metody jsou první výnosové pokusy zakládány již v F4 generaci s tím, že v pozdějších ge-



Obr. 7 Metoda raného zkoušení

neracích (F5, F6) bývá nutná reselekce, aby byly získány dostatečně vyrovnané linie (obr. 7).

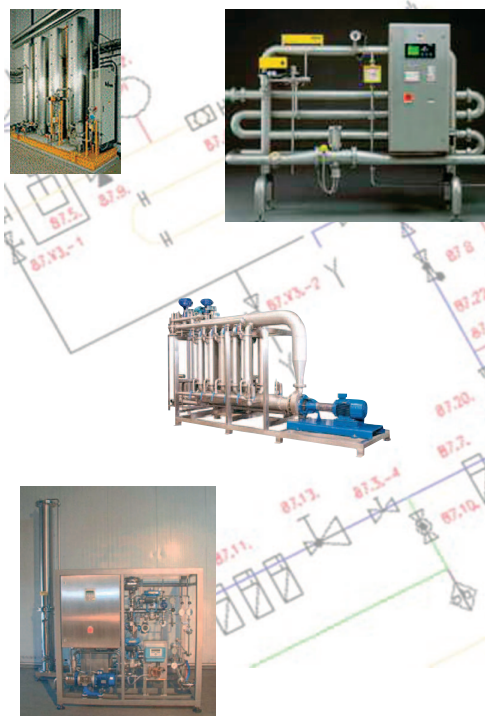
Různých variant šlechtitelských postupů existuje nepřeberné množství. Pro některé účely se používá tzv. zpětného křížení (back crossing), konvergentního šlechtění, rekurentních metod šlechtění aj. Novější metodou rychlého dosažení teoreticky úplně homozygotních linií je metoda využití zdvojených haploidů (doubled haploids, DH). Principem je nejprve získání haploidů, ze kterých spontánním nebo umělým procesem vzniknou homozygotní diploidy. V praxi se používají dva způsoby produkce haploidů. První z nich je založen na kultivaci nezralých prašníků resp. mateřských pylových buněk *in vitro* na speciálních živných médiích, na kterých dojde k diferenciaci tkání a vzniku embryoidů, ze kterých lze vypěstovat celé rostliny [13, 14]. Při druhém způsobu se vyvolá zdvojnásobení počtu chromosomů [15]. Každá z těchto metod má své výhody a nevýhody a obě jsou stále zdokonalovány a zlepšovány.

Mezi šlechtiteli někdy dochází k debatám o tom, která metoda šlechtění je nejlepší. Takový spor asi nelze jednoznačně rozsoudit, protože každá z metod má svoje klady i zápory a pro různé účely a cíle mohou být vhodné různé postupy. Hallauer [16] posuzuje vhodnost šlechtitelských metod asi takto: každá metoda, která respektuje genetické zákonitosti, umožňuje plynulý průchod materiálu jednotlivými generacemi a etapami výběru a je vyhovující po stránce technické i ekonomické, je dobře použitelná a dává předpoklady pro úspěšné dosažení šlechtitelského cíle.

(Dokončení článku včetně literárních odkazů a souhrnů v čísle 7-8/2003)

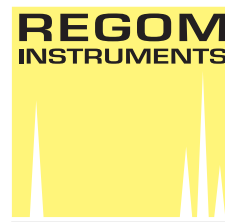
Technologie

- Vzorkovací systémy
- Filtrace
- Odplynění vody
- HGB
- Dosycování CO₂
- CIP stanice
- PT tanky
- Automatizace
- Jímání CO₂



REGOM INSTRUMENTS s.r.o.

Váš spolehlivý partner



BRABCOVA 2 / 1159, 147 00 PRAHA 4

Tel.: 241 402 206

www.regom.cz

Fax: 241 400 290

regom@regom.cz