

VASARAS MIEŽU ŠĶIRŅU SAKŅU MORFOLOĢISKO PAZĪMJU NOVĒRTĒJUMS *EVALUATION OF MORPHOLOGICAL TRAITS OF SPRING BARLEY VARIETIES*

Sanita Švedenberga, Zaiga Jansone, Māra Bleidere

Agroresursu un ekonomikas institūts

sanita.svedenberga@arei.lv

Ievads

Pieejamo resursu samazināšanās un pārtikas pieprasījuma pieaugums rada nepieciešamību identificēt jaunus risinājumus ģenētisko resursu izpētē un jaunu, konkurētspējīgu šķirņu selekcijai, lai palielinātu laukaugu produktivitāti un resursu izmantošanas efektivitāti, ņemot vērā klimata pārmaiņu scenāriju (Galluzi et al., 2020). Vasarāju graudaugiem Latvijā īpaši svarīgi ir laika apstākļi maija mēnesī, ilggadējie novērojumi Stendē liecina, ka vidējai diennakts temperatūrai veģetācijas perioda sākumā ir tendence pieaugt, bet nokrišņu daudzumam – samazināties. Šī iemesla dēļ sausumizturīgu šķirņu veidošana ir viena no stratēģijām, kas var uzlabot to adaptēšanās spēju meteoroloģisko apstākļu pārmaiņām (Galluzi et al., 2020).

Saknes ir auga orgāni, kas pirmās reaģē uz mitruma nepietiekamību, tāpēc tās ir nozīmīgs izpētes objekts – ar mērķi veidot šķirnes ar augstāku adaptēšanās spēju, īpaši vidēs, kuras raksturo pazemināts ūdens un barības vielu nodrošinājums (Kuijken et al., 2015). Sakņu sistēmas arhitektūra ietver plašu sakņu morfoloģisko parametru klāstu, piemēram, saknes garumu, sakņu blīvumu, sakņu skaitu, saknes izvēsuma leņķi un kopējo sakņu laukumu (Jia et al., 2019). Izvēlētai šo pazīmju fenotipēšanas metodei ir vēlamas, pirmkārt, zemas izstrādes un ekspluatācijas izmaksas un, otrkārt, iespēja ar nelielu piepūli izmērīt lielu atsevišķu atkārtojumu, genotipu vai apstrādes variantu skaitu (Kuijken et al., 2015). Konstatēts, ka vertikālāks sakņu izvēsuma leņķis un lielāks šo sakņu skaits vēlāk nodrošina kompaktāku un dziļāku sakņu sistēmu, kas ir īpaši svarīgi sausuma stresa apstākļos (Manschadi et al., 2008). Agrīnajos augu attīstības etapos šīs sakņu morfoloģiskās pazīmes rekomendē izmantot selekcijā gan kviešiem (Richard et al., 2015), gan miežiem (Robinson et al., 2016; Robinson et al., 2018; Jia et al., 2019), konstatējot būtiskas atšķirības starp šķirnēm. Pētījuma mērķis bija novērtēt vasaras miežu šķirņu sakņu izvēsuma leņķi un sakņu skaitu podu izmēģinājumā agrīnajā augu attīstības etapā. Vasaras miežu šķirņu selekcijas programmas ietvaros sakņu sistēmas izpēte Latvijā līdz šim nav veikta. Raksts prezentēs pirmos iegūtos rezultātus Latvijā un ārvalstīs selekcionētām vasaras miežu šķirnēm.

Materiāli un metodes

Agroresursu un ekonomikas institūta (AREI) Laukaugu selekcijas un agroekoloģijas nodaļas pirmsselekcijas laboratorijā iekārtots podu izmēģinājums, izmantojot Richard et al. (2015) metodiku. Pētījumā iekļautas 18 divkanšu vasaras miežu šķirnes, no kurām 9 ir selekcionētas Latvijā un 9 – ārvalstīs.

Podu izmēģinājuma iekārtošanas metodika. Pētījumā izmanto sēklu paraugus no 2020. un 2021. gada ražas. No miežu graudu frakcijas virs 2.8 x 20 mm sieta atlasa slīmus un bojātus graudus. Sēklu paraugus 30 sekundes dezinficē ar 70% etanolu, divas reizes skalo ar jonizētu ūdeni, sēklas paturot ūdenī 5 minūtes. Lieko ūdeni notecina, un sēklu paraugu nosusina. Lai podu izmēģinājumam izvēlētos sēklas vienādā attīstības etapā, sēklu paraugus liek diedzēties Petri platē starp diviem filtrpapīriem (diametrs – 90 mm), uzlejot 7 mL destilētu ūdeni. Sēklas diedzē tumšā klimata kamerā (modelis F. Lli Della Marca, Itālija) trīs diennaktis 15 °C temperatūrā, gaisa mitrums – 75%.

Miežu augu diedzēšanai izmanto caurspīdīgus plastmasas podus (tilpums – 3 L; diametrs – 190 mm, augstums – 150 mm). Podus piepilda ar kūdras substrātu, ko raksturo šādi parametri: KKS – S, 0–7 mm griezta sūnu kūdra (sijāta) 30 %, 0–7 mm frēzkūdra (sijāta) – 70 %, pH KCL 5.8–6.6, kas sajaukts ar smiltīm attiecībā 3:1. Podu izmēģinājumu iekārto 18 podos, katrā podā sēj 20 sēklas, tās izvieto ik pēc 2.5 cm. Šķirņu secība katrā podā plānota randomizēti, respektīvi, katrā podā sēj vienu sēklu no katras šķirnes, bet šķirnēm 'Ansis' un 'Idumeja' – divas sēklas. Sējai izvēlas sēklas ar dīgstu 05. AE (parādās dīgsts). Sēklas attiecībā pret poda malu ar pinceti virs augsnes novieto 45° leņķī ar grauda rievīņu uz poda centru tā, lai grauda dīgļis atrastos cieši pie poda sienas. Pēc sējas sēklām uzber augsnes substrātu 2 cm biezumā. Caurspīdīgos podus ievieto tumšos podos (3 L; diametrs 190 mm, augstums 150 mm). Katram podam mitrina augsni, vienmērīgi izsmidzinot 300 ml ūdens, papildu laistīšanu un mēslošanu vairs neveic. Augu augšana norit 3 diennaktis klimata kamerā,

nodrošinot šādus apstākļus: temperatūra 12 °C, gaisa mitrums 65%, dienas/nakts garuma attiecība 16/8 stundas.

Saknes izvērsuma leņķis. Pēc trīs diennaktīm augiem veic miežu sakņu attēlu uzņemšanu ar fotokameru (Canon EOS 1300D), kas piestiprināta pie statīva. Augu sakņu fotografēšanu veic secīgi katram augam, izmantojot kasti ar lodziņu un melnām gaismu reflektējošām sienām, pagriežot podu pulksteņrādītāja virzienā. Attēlus no katra poda (atkārtojuma) savieno, izveidojot panorāmas attēlu, izmantojot datorprogrammu *PhotoStitch*. Analizējot panorāmas attēlu, katram augam veic saknes izvērsuma leņķa mērījumu starp diviem malējiem sakņu pāriem 3 cm attālumā no grauda, izmantojot datorprogrammu *ImageJ*.

Sakņu skaits. Katram miežu augam saknes saskaita pēc divām metodēm: (1) saskaita saknes, kas saredzamas caurspīdīgā poda sieniņas attēlā; (2) augus saudzīgi izņem no augsnes substrāta un nosaka faktisko sakņu skaitu.

Podu izmēģinājumam veic divus neatkarīgu atkārtojumu ciklus: 1. izmēģinājums – no 2021. gada 16. līdz 21. februārim (IZM_1), 2. izmēģinājums – no 2021. gada 3. līdz 8. decembrim (IZM_2).

Datu statistiskā apstrāde. Iegūtie rezultāti statistiski apstrādāti, īstenojot aprakstošās un dispersijas analīzes, korelācijas analīzes metodes. Divfaktoru dispersijas analīze lietota, lai novērtētu genotipa un izmēģinājuma atkārtojumu kā faktoru būtiskumu un to ietekmes īpatsvaru (η^2 , %) uz analizēto pazīmju mainību. Podu eksperimenta sakritības jeb atkārtojamības novērtēšanai 2. eksperimenta (IZM_2) dati regresēti pret 1. eksperimenta (IZM_1) datiem, noteikts determinācijas koeficients (R^2) un iedzimstamības koeficients (H^2), ko raksturo ar korelācijas koeficientu starp abiem podu izmēģinājuma atkārtojumiem. Tā kā starp izvēlēto standartu 'Ansis' un 'Idumeja' abu atkārtojumu vidējām vērtībām nav būtisku atšķirību, datu statistiskajā apstrādē iekļauti šo šķirņu vidējie dati.

Rezultāti un diskusijas

Rezultātu 1. tabulā apkopoti pazīmju datu statistiskie parametri, kas raksturo sakņu morfoloģisko pazīmju mainību starp 18 pētījumā iekļautajām šķirnēm un diviem podu izmēģinājumiem. Iegūtie mūsu pētījuma rezultāti prezentē ne tikai genotipiskās šo pazīmju variācijas starp šķirnēm, bet arī ļauj novērtēt veikto podu izmēģinājumu sakritību jeb atkārtojamību.

1. tabula / Table 1

Sakņu sistēmas morfoloģisko pazīmju datu apstrādes parametri

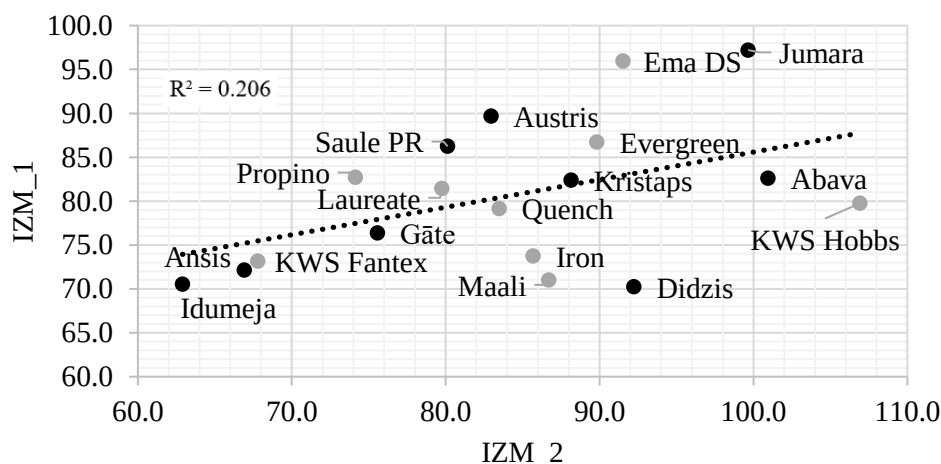
Statistical parameters for the morphological traits of the root system

Statistikas parametri / Statistical parameters	Sakņu izvērsuma leņķis, grādi / Root spreading angle, degrees			Sakņu skaits augam fotoattēlā / Imaged root number			Faktiskais sakņu skaits / Actual root number		
	IZM_1	IZM_2	Vidēji	IZM_1 ¹	IZM_2	Vidēji	IZM_1	IZM_2	Vidēji
Vidēji	84.2 ^a	80.6 ^a	82.4	5.5 ^{a 2}	5.1 ^b	5.3	6.3 ^a	5.7 ^b	6.0
Min.	62.9	70.2	66.7	4.5	4.1	4.3	5.5	5.0	5.3
Max.	106.9	97.2	98.4	6.3	5.8	6.0	7.0	6.6	6.8
s	11.9	8.3	8.7	0.5	0.5	0.4	0.4	0.5	0.4
Rs _{0.05}	12.897	15.497	9.886	0.550	0.528	0.382	0.510	0.491	0.339
η^2 šķirne, %	29**	11**	13.4**	22**	25**	18**	21**	32**	14**
η^2 IZM, %	7.1	8**	0.6	6	8**	4**	6	8**	16**
η^2 atlikuma, %	64	81	81	72	67	73	73	60	66
H ² IZM_2:IZM_1	0.450*			0.633**			0.743**		
R ² IZM_1/IZM_2	0.21			0.401			0.551		

¹IZM_1 – 1. Izmēģinājums; IZM_2 – 2. izmēģinājums; ² vidējā starpība starp IZM_1 un IZM2 ar atšķirīgiem burtiem augšrakstā būtiska pie $p < 0.05$; faktoru ietekme būtiska * $p < 0.01$, ** $p < 0.001$; korelācijas koeficienti būtiski pie * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

Visas vērtētās miežu sakņu morfoloģiskās pazīmes starp šķirnēm variēja būtiski ($p < 0.001$), ar šķirnes kā faktora ietekmes īpatsvaru no 11 līdz 32%. Atlikuma dispersija starp visām vērtētajām pazīmēm un abiem podu izmēģinājuma cikliem variēja no 66 līdz 81%, kas apliecina, ka pazīmēm datu mainība starp atsevišķu šķirņu atkārtojumiem bijusi lielāka nekā starp dažādu šķirņu vidējiem datiem.

Sakņu izvērsuma leņķis starp 18 pētījumā iekļautajām vasaras miežu šķirnēm variēja vidēji no 66.7° līdz 98.4°. Citos pētījumos saknes izvērsuma leņķis miežiem ir parādījis daudz lielāku variāciju starp šķirnēm. Piemēram, divos H. Robinson (2016; 2018) pētījumos, izmantojot caurspīdīgo podu metodi, starp 30 miežu šķirnēm šī pazīme variēja no 13.5° līdz 82.2°, bet, izvērtējot 216 miežu līnijas, saknes izvērsuma leņķis variēja no 12.0° līdz 89.4°. Savukārt Z. Jia et al. (2019) pētījumā starp 221 šķirni šī pazīme variēja no 46.7° līdz 131.7°, uzrādot augstu šīs pazīmes iedzimstamību ($h^2 = 84.9\%$). Mūsu pētījumā iedzimstamības koeficients datiem sakņu izvērsuma leņķim bija 0.45 ($R^2 = 0.21$) (1. tab.; 1. att.), bet C. Richard (2015) pētījumā, sakņu izvērsuma leņķi novērtējot ar caurspīdīgo podu metodi, tika iegūts augstāks rādītājs ($h^2 = 0.65$). Kā norāda R. Kuijken et al. (2015), izvēloties piemērotāko fenotipēšanas metodi sakņu morfoloģisko pazīmju kvantitatīvai analīzei, ir jāņem vērā trīs savstarpēji saistīti etapi, kas var ietekmēt rezultātu: augu audzēšana, datu iegūšana un datu apstrāde. Salīdzinoši zemie iedzimstamības un determinācijas koeficienti sakņu izvērsuma leņķim norāda uz to, ka augu audzēšanas etaps šai metodei vēl ir pilnveidojams, minimizējot iespējamo mikroapstākļu variāciju starp šķirņu atkārtojumiem augu audzēšanas laikā. Miežu šķirnēm 'Idumeja', 'Ansis' un 'KWS Fantex' abos podu izmēģinājumos tika novērots salīdzinoši šaurākais saknes izvērsuma leņķis (vidēji attiecīgi 69.5° un 70.5°), bet šķirnēm 'Jumara' un 'Ema DS' tas bija platākais (vidēji 98.4° un 93.7°), kas ir statistiski būtiskas atšķirības (1. tab.; 1. att.). Lielākā variācija starp abiem izmēģinājumiem saknes izvērsuma leņķim konstatēta šķirnēm 'Abava', 'Didzis', 'Maali', 'KWS Hobbs' un 'Iron', tāpēc šīm šķirnēm izpēte būtu jāturpina.



1. att. Saknes izvērsuma leņķis 18 vasaras miežu šķirnēm. Izkliedes diagramma saknes izvērsuma leņķim grādos starp diviem neatkarīgiem podu izmēģinājumiem (IZM_1 un IZM_2). Melnie punkti – Latvijā selekcionētās šķirnes, pelēkie punkti – ārvalstīs selekcionētās šķirnes.

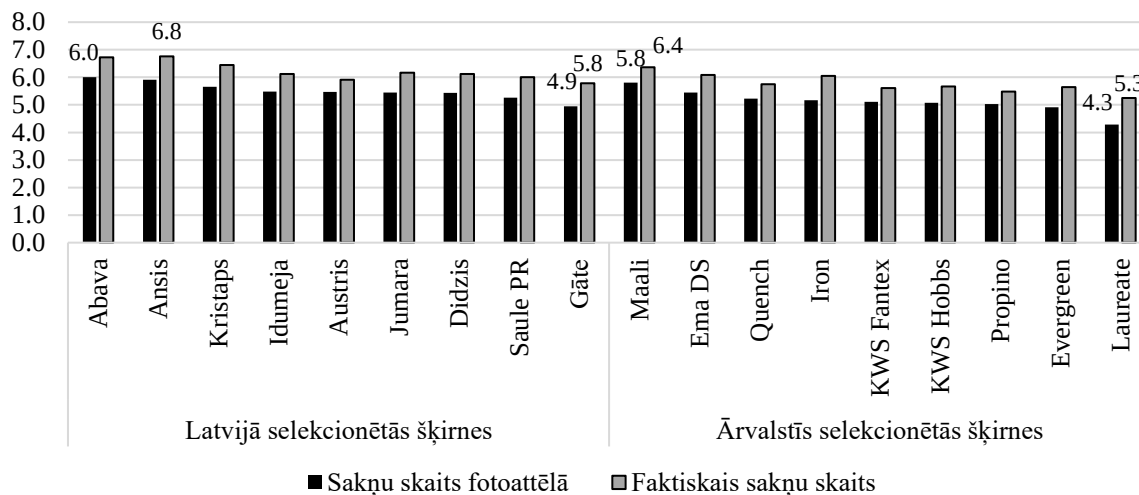
Fig. 1. Root spreading angle for 18 spring barley varieties. Scatterplot for the root spreading angle in degrees between two independent pot trials (IZM_1 and IZM_2). Black dots represent varieties bred in Latvia, gray dots represent varieties bred abroad.

Salīdzinot rezultātus ar korelācijas koeficientu starp divām datu kopām, ja sakņu skaitu augam vērtē divējādi, pamatojoties uz fotoattēlu un saskaitot saknes izrautam augam, šī sakarība ir pozitīva un cieša ($r = 0.93$; $R^2 = 0.87$), šķirņu rangs šīs pazīmes novērtējumam ar abām metodēm ir līdzīgs (2. att.). Tas nozīmē, ka šīs pazīmes novērtēšanu varētu veikt ātrāk, respektīvi, vienlaicīgi ar saknes leņķa mērījumu, neizraujot augu no substrāta. Sakņu morfoloģiskās pazīmes novērtējot ar caurspīdīgo podu metodi, līdzīgi rezultāti iegūti arī C. Richard (2015) pētījumā. Turklāt, izmantojot caurspīdīgo podu metodi, pēc sakņu sistēmas novērtēšanas, atstājot perspektīvos īpatņus, iegūst graudu ražu genotipu turpmākajai pavairošanai, kas selekcijas darbā jo īpaši svarīgi agrīnajās hibrīdajās paaudzēs.

Salīdzinoši augstākie iedzimstamības un determinācijas koeficienti ir iegūti faktiskajam sakņu skaitam, kas dažādām miežu šķirnēm variēja vidēji no 5.3 līdz 6.8 (1. tab.; 2. att.). Salīdzinot savstarpēji Latvijā un ārvalstīs selekcionēto šķirņu grupas, pēc šīs pazīmes nav konstatētas statistiski būtiskas atšķirības, tomēr salīdzinoši vairāk sakņu veidoja Latvijā selekcionētās šķirnes 'Abava' un 'Ansis'. Arī šķirņu 'Kristaps', 'Idumeja', 'Jumara' un 'Didzis' augiem bija vairāk par 6 saknēm. Citos

pētījumos sakņu skaits starp dažādiem miežu genotipiem variēja no 3.6 līdz 6.9 (Robinson, 2016) un no 4.8 līdz 6.1 (Robinson, 2018).

H. Robinson et al. (2018) pētījumā, kur ģenētiskās korelācijas koeficienti starp graudu ražu un saknes izvērsuma leņķi variēja no 0.21 līdz 0.36 un sakņu skaitu no 0.20 līdz 0.25, secināts, ka sakarību ciešumu ietekmēja audzēšanas apstākļi. Savukārt Z. Jia et al. (2019) pētījums atklāj, ka, raugoties no miežu saknes morfoloģiskajām pazīmēm, sakņu garums un sakņu izvērsuma leņķis agrīnajos augu attīstības etapas uzrādīja visaugstāko iedzīstamību un korelatīvās sakarības ar 1000 graudu masu, tāpēc izmantojamas kā izlases kritēriji tādu šķirņu selekcijai, kas ir labāk pielāgotas limitētam ūdens un barības vielu nodrošinājumam.



2. att. Sakņu skaits augam fotoattēlā un faktiskais sakņu skaits, vidēji divos podu izmēģinājumos.
Fig. 2. Number of roots counted in the image of the plant and the root number obtained from measurements, average in two pot trials.

Tā kā sakarības starp atsevišķām sakņu sistēmas morfoloģiskajām pazīmēm un graudu ražu miežiem līdz šim ir maz pētītas, to plānojam noskaidrot, izmantojot arī šajā miežu šķirņu salīdzinājumā iegūtos rezultātus.

Secinājumi

Sakņu izvērsuma leņķis un sakņu skaits būtiski variēja starp pētījumā iekļautajām miežu šķirnēm. No Latvijā selekcionētajām miežu šķirnēm 'Ansis' un 'Idumeja' raksturojami ar šauru saknes izvērsuma leņķi, bet lielākais sakņu skaits konstatēts šķirnēm 'Abava' un 'Ansis'. Jāturpina caurspīdīgo podu metodes pilnveide, samazinot kļūdas dispersijas īpatsvaru. Tā ir perspektīva metode miežu morfoloģisko pazīmju novērtēšanai ne tikai dažādām šķirnēm, bet arī līnijām agrīnajās hibrīdajās paaudzēs, kas ļauj nedestruktīvi īsā laikā veikt novērtēšanu lielam genotipu skaitam, kas ir svarīgs nosacījums selekcijas darbā.

Izmantotā literatūra

- Galluzzi G., Seyoum A., Halewood M., Lopez Noriega I., Welch E.W (2020). The role of genetic resources in breeding for climate change: The case of public breeding programs in eighteen developing countries, *Plants*, Vol. 9, p. 1–19.
- Jia Z., Liu Y., Gruber B.D., Neumann K., Kilian B., Graner A., von Wiren N. (2019) Genetic Dissection of Root System Architectural Traits in Spring Barley. *Frontiers in Plant Science*, Vol. 10, p. 400.
- Kuijken R.C.P. Eeuwijk F.A., Marcelis L.F.M., Bouwmeester H.J. (2015). **Root phenotyping: from component trait in the lab to breeding.** *Journal of Experimental Botany*, Vol. 66 (18), p. 5389–5401.
- Manschadi A, Hammer G, Christopher J, DeVoi P. (2008). Genotypic variation in seedling root architectural traits and implications for drought adaptation in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Soil*, Vol. 303, p. 115–129.

5. Richard C., Hickey L.T., Fletcher S., Jennings R., Chenu K., Christopher J.T. (2015). High-throughput phenotyping of seminal root traits in wheat. *Plant Methods*, Vol. 11, p. 1–11.
6. Robinson H., Hickey L., Richard C., Mace E., Kelly A., Borell A., Frankowiak J., Fox G. (2016). Genomic Regions Influencing Seminal Root Traits in Barley. *The Plant Genome*. Vol 9 (1), p. 1–13.
7. Robinson H., Kelly A., Fox G., Frankowiak J., Borrell A., Hickey L. (2018). Root architectural traits and yield: exploring the relationship in barley breeding trials. *Euphytica*, Vol. 214, p. 151.