

Faculty of Agriculture
Institute of Plant Breeding, Seed Science and Population Genetics
(350)

Crop Biodiversity and Breeding Informatics (350b)

Prof. Dr. Karl J. Schmid

Characterization of Genetic Variation among Ethiopian Barley
(*Hordeum vulgare* L.) Genotypes



Dissertation

submitted in fulfilment of the requirement for the degree

"Doktor der Agrarwissenschaften"

(Dr.sc.agr. /Ph.D. in Agricultural Sciences)

to the Faculty of Agricultural Sciences

Submitted by

Wosene Gebreselassie Abteu

born in Jimma, Ethiopia

Stuttgart-Hohenheim, 2019

Executive summary

Barley (*Hordeum vulgare* L.) is a major cereal crop in Ethiopia and accounts for 8% of the total cereal production based on cultivation area. Farmers may face unpredictable rainfall and drought stress patterns such as terminal drought where rainfall ends before crops have completed their physiological maturity, which then poses a challenge to crop production. The absence of efficient weather forecasts and a lack of efficient communication channels for resource-poor farmers ask for the development of varieties that are robust to such irregularities. A goal of plant breeding for areas with variable climate and limited resources for agricultural inputs is to produce stable varieties with higher average yield across diverse environments and growing conditions. Genotype by environment (G x E) interactions, however, frequently interfere with the selection of widely adapted genotypes. Landraces represent over 90% of the cultivated barley diversity of Ethiopia, and reflect a deeply rooted and ancient relationship between barley and Ethiopian farmers. Knowledge about the yield stability of existing Ethiopian barley varieties and landraces under changing environmental variables is important for the future development of barley varieties with high and stable yields. Therefore, it is useful to evaluate the robustness of barley varieties against late onset and early termination of rainfall.

In addition, yield components are quantitative with substantial influence of environment. Yield components also compensate each other in trait correlation dynamics. Since grain yield is a more complex trait than its components, environmental effects and genotype-by-environment (G x E) interactions for grain yield are stronger than for its components. Therefore, indirect selection of yield components may be more efficient than selection on grain yield per se to obtain higher yielding and stable cultivars. A study, therefore, was

initiated to 1) characterize the response of a diverse set of barley genotypes to different locations and variable planting dates and identify genotypes with wide adaptation and stable performance and/or genotypes with specific altitude and planting date 2) determine traits that contribute to high and stable yields across a range of different environments and planting dates 3) determine the pattern of population structure and genetic parameters among genotypes conserved in Ethiopian and German gene banks in for different period of time as well as currently growing in farmers' field. In order to meet the objectives 18 genotypes were tested at four different sowing dates with 15 days interval in different locations (Ambo and Jimma) and years (2012 and 2013). In addition, we investigated relationships among traits in these different situations, with the ultimate aim of identifying traits with reduced sensitivity to environmental effects that may contribute to higher yield stability.

Considering the genotypes and environments, both genotypes (G) and G x E interaction variance components were highly significant for grain yield, with a ratio of approximately 1:1. Of the 16 environments, 12 grouped into two clusters which largely corresponded to test locations. The tested genotypes revealed a wide variation for both static and dynamic yield stability measures. Compared to improved cultivars, farmers' landraces displayed higher average static stability and similar superiority indices (dynamic stability). These landraces are therefore a source of germplasm for breeding resilient barley cultivars. Staggered planting proved to be a useful method for evaluating genotype stability across environmental factors beyond location and season. In addition, we also noticed that compensatory relationship between kernels per spike and thousand kernel weight in landraces. Kernels per spike and number of fertile tillers can be proposed as robust traits in barley breeding for a wider adaptation as they had significant and consistent positive total

effects on grain yield.

In order to determine the pattern of population structure and genetic parameters among genotypes of different origin and gene banks, DNA samples were subject to double-digest by ApeK1 and Hind III enzymes. After sequencing, raw read was checked for major quality parameters. Sequence reads were then filtered for sequencing artifacts and low quality reads (preprocessing). The pre-processed reads were aligned to genome of barley cultivar Morex to call SNPs. Values of observed heterozygosity (H_o) ranged from 0.250 to 0.337 and were higher than the expected heterozygosity (H_e) that varied from 0.180 to 0.242 in genotypes of all origins. The inbreeding coefficient (F_{IS}) values that ranged between -0.240 and -0.639 across the regions were also higher and negative suggesting existence of excess outcrossing than expected. Based on the inferred clusters by the ADMIXTURE, high F_{st} values were observed between clusters suggesting high genetic differentiation among the genotypes tested though differentiation was not based on location. In addition, genetic differentiation computed based on the predetermined location, altitude and source of genotypes suggested weak differentiation among the groups.

These results indicate that, in Ethiopia, barley genetic variation between regions and altitudes were less pronounced than within region and altitude variations. This calls for the germplasm collection strategies to be cautious in considering location and altitude as a main factor of variation thus strategies should focus on exploiting the within region variation also for better germplasm conservation and utilization. The static yield stability of landrace has to be utilized by breeders for their wider recommendations for those farmers who cannot afford use of farm inputs and specific cultivars. In addition, the relative robustness as well as plasticity of traits sorted by the current study can be

incorporated in the breeding strategy of barley in Ethiopia.

Zusammenfassung

Gerste (*Hordeumvulgare* L.) ist eine bedeutende Getreideart in Äthiopien und macht 8% der gesamten Getreideerzeugung, in Bezug auf die Anbaufläche, aus. Unvorhersehbaren Regen- und Dürreereignisse, wie z.B. Dürren, bei denen der Regen endet, bevor die Gerste ihre physiologische Reife erreicht hat, stellen die Pflanzenproduktion in Äthiopien vor große Herausforderungen. Der mangelnde Zugang für Landwirte zu effizienten Wettervorhersagesystemen und Kommunikationskanäle erfordern die Entwicklung von Sorten, die extremen Wetterereignisse gegenüber tolerant sind. Ein Ziel der Pflanzenzüchtung, für Gebiete mit Extremwetterereignissen und begrenzten Ressourcen für landwirtschaftliche Betriebsmittel, ist die Erzeugung umweltstabiler Sorten mit höherem Durchschnittsertrag in unterschiedlichen Umwelten und unter verschiedenen Wachstumsbedingungen. Genotyp - Umwelt Interaktionen (G x E) erschweren jedoch häufig die Auswahl von Genotypen die sich an unterschiedliche Umweltbedingungen anpassen können. Landrassen machen über 90% der kultivierten Gerstenvielfalt Äthiopiens aus und spiegeln eine tief verwurzelte und anhaltend, gewachsene Beziehung zwischen der Gerste und äthiopischen Landwirten wider. Das Wissen über die Ertragsstabilität bekannter äthiopischer Gerstensorten und Landsorten, unter sich ändernden Umweltbedingungen, ist für die zukünftige Entwicklung von Gerstensorten mit hohen und stabilen Erträgen wichtig. Daher ist es unabdingbar, die Robustheit von Gerstensorten im Hinblick auf Schwankungen in der Niederschlagsmenge und den Niederschlagszeitpunkten zu beurteilen.

Darüber hinaus sind Ertragskomponenten, quantitative Merkmale, die stark von der Umwelt beeinflusst werden. Da der Kornertrag ein komplexeres Merkmal ist als die ertragsbestimmenden Komponenten, sind die Umwelteinflüsse und die Wechselwirkungen zwischen Genotyp und Umwelt (G x E) für den Kornertrag stärker als für Komponenten

die den Kornertrag bestimmen. Daher kann eine indirekte Selektion anhand von Ertragskomponenten effizienter sein als die per se Selektion auf Basis des Kornertrags, um Ertragreichere und stabilere Sorten zu erhalten. Daher wurde diese Studie initiiert um 1) die Reaktion verschiedener Gerstengenotypen auf verschiedene Standorte und Aussaattermine zu beurteilen und Genotypen mit einer weiten Anpassung und stabilen Leistung zu identifizieren, 2) Merkmale zu bestimmen, die zu hohen und stabilen Erträgen in einer Reihe unterschiedlicher Umwelten beitragen, 3) die Populationsstruktur und genetische Parameter von äthiopischen und deutschen Genbankakzessionen, sowie aktuellen Gerstensorten, zu erfassen.

Um diese Ziele zu erreichen, wurden 18 Genotypen an vier verschiedenen Aussaatterminen im Abstand von 15 Tagen an verschiedenen Orten (Ambo und Jimma) und Jahren (2012 und 2013) getestet. Darüber hinaus untersuchten wir die Beziehungen zwischen Merkmalen in diesen verschiedenen Situationen mit dem Ziel, Merkmale mit verminderter Empfindlichkeit gegenüber Umwelteinflüssen zu identifizieren, die zu einer höheren Ertragsstabilität beitragen können.

Sowohl die Genotyp- als auch die GxE Varianzkomponenten sind mit einem Verhältnis von etwa 1:1, für das Merkmal Kornertrag, von großer Bedeutung. Von den 16 Umwelten wurden 12 in zwei Cluster eingruppiert, die weitestgehend den Versuchsstandorten entsprechen. Die getesteten Genotypen zeigen eine große Variation, sowohl für die statische als auch für die dynamische Messung der Ertragsstabilität. Im Vergleich zu aktuellen Sorten zeigen die Landrassen der Landwirte eine höhere durchschnittliche statische Stabilität und eine ähnliche dynamische Stabilität. Diese Landrassen sind daher ein wertvoller Genpool für die Züchtung von widerstandsfähigen Gerstensorten. Die zeitversetzte Aussaat erwies sich als nützliche Methode zur Beurteilung

der Stabilität von Genotypen über Umweltfaktoren hinweg. Darüber hinaus haben wir auch eine kompensatorische Beziehung zwischen Kornanzahl pro Ähre und Tausendkorngewicht in Landrassen festgestellt. Die Kornanzahl pro Ähre und die Anzahl der fruchtbaren Bestockungstriebereisen wiesen sich als robuste Merkmale für eine breitere Adaption an unterschiedliche Umweltbedingungen, da sie einen signifikanten und beständig, positiven Effekt auf den Kornertrag haben.

Um die Populationsstruktur und genetische Parameter zwischen Genotypen verschiedener Herkunft und Genbanken zu bestimmen, wurden DNA-Proben mit ApeK1- und HindIII-Enzymen bearbeitet. Nach der Sequenzierung wurde die Rohdaten auf wichtige Qualitätsparameter überprüft. Sequenzen wurden gefiltert, um Artefakte zu eliminieren und Sequenzen mit geringer Qualität zu entfernen (Vorverarbeitung). Die vorverarbeiteten Sequenzen wurden an dem Genom der Gerstensorte Morex ausgerichtet, um SNPs zu identifizieren. Die Werte der beobachteten Heterozygotie (H_o) lagen im Bereich von 0,250 bis 0,337 und waren höher als die erwartete Heterozygotie (H_e), die in der gesamten Population von 0,180 bis 0,242 variierte. Die Werte für den Inzuchtkoeffizienten (F_{IS}), liegen zwischen -0,240 und -0,639, sind ebenfalls höher und negativ, was auf eine übermäßige Auskreuzung als erwartet hindeutet. Basierend auf den von ADMIXTURE abgeleiteten Clustern wurden hohe F_{st} -Werte zwischen den Clustern beobachtet. Dies lässt auf eine hohe genetische Differenzierung zwischen den getesteten Genotypen schließen, jedoch ließ sich keine ortsabhängige Differenzierung feststellen. Darüber hinaus deutet die genetische Differenzierung, die basierend auf Ort, Höhe und Sortentyp berechnet wurde, auf eine schwache Differenzierung zwischen den Gruppen hin.

Diese Ergebnisse zeigen, dass in Äthiopien die genetische Variation der Gerste zwischen

Regionen und Höhenlagen weniger ausgeprägt war als innerhalb von Region und Höhenlagen. Dies erfordert, dass Strategien zur Sammlung von genetischen Ressourcen sich nicht nur an Standort und Höhenlage als Hauptvariationsfaktor ausrichten. Vielmehr sollten sich Strategien zum Erhalt des Gersten-Genpools darauf konzentrieren, die Variationen innerhalb der Regionen und Höhenlagen zu nutzen um die genetische Diversität aufrecht zu erhalten. Die statische Ertragsstabilität der Landsorten sollte von Züchtern für ihre Empfehlungen für Landwirte berücksichtigt werden. Darüber hinaus kann empfohlen werden die relative Robustheit sowie die Plastizität von Merkmalen, die durch die aktuelle Studie identifiziert wurden, in die Züchtungsstrategie von Gerste in Äthiopien einzubeziehen.