

# Klasifikace odrůd ječmene pro „České pivo“ s využitím diskriminační analýzy

## *Classification of barley varieties for “České pivo” using discriminant analysis*

Tibor SEDLÁČEK<sup>1</sup>, Vratislav PSOTA<sup>2</sup><sup>1</sup>Výzkumné centrum SELTON, s. r. o., Stupice 24, 25084 Sibřina / SELTON Research Centre, Ltd., Stupice 24, 25084 Sibřina<sup>2</sup>Výzkumný ústav pivovarský a sladařský a. s., Lípová 15, 120 44 Praha 2 / Research Institute of Brewing and Malting, Plc.,

Lípová 15, 120 44 Praha 2

e-mail: sedlacek@selton.cz

Recenzovaný článek / Reviewed Paper

**Sedláček, T. – Psota, V.: Klasifikace odrůd ječmene pro „České pivo“ s využitím diskriminační analýzy.** Kvasny Prum. 61, 2015, č. 9, s. 262–267

Získání chráněného zeměpisného označení „České pivo“ vedlo k nutnosti cíleného šlechtění odrůd ječmene s vlastnostmi odpovídajícími parametřům tohoto typu piva. V této studii jsme sledovali vliv odrůd a vliv lokality pěstování na hlavní ukazatele sladovnické jakosti s cílem identifikovat nejvhodnější selekční kritérium. Jako vhodné parametry se ukázaly relativní extrakt při 45 °C, obsah β-glukanů ve sladině a Kolbachovo číslo. Protože tyto parametry také výrazně ovlivňuje prostředí a reziduální vlivy, vyvinuli jsme klasifikační funkci s využitím diskriminační analýzy. Funkce úspěšně klasifikovala 94 % vzorků bez ohledu na lokalitu pěstování, mohla by se tudíž stát vhodným nástrojem pro výběr linií ječmene splňujících kvalitativní požadavky kladené na odrůdy doporučené pro výrobu piva s chráněným zeměpisným označením „České pivo“.

**Sedláček, T. – Psota, V.: Classification of barley varieties for “České pivo” using discriminant analysis.** Kvasny Prum. 61, 2015, No. 9, pp. 262–267

Awarding of the Protected Geographical Indication “České pivo” (i.e. Czech Beer) led to the necessity of targeted breeding of barley varieties. This study investigated the effect of varieties and growing sites on the key indicators of malting quality with the aim to identify the most suitable selection criteria. Relative extract at 45 °C, β-glucan content in wort, and Kolbach Index were identified as the most suitable parameters. As these parameters are also significantly affected by the environment and residual influences, a classification function using discriminant analysis was developed. The function classified successfully 94% of samples regardless of the growing site and thus it may be used as a suitable tool for selection of barley lines that meet the qualitative requirements for the varieties recommended for production of beer with the Protected Geographical Indication “České pivo”.

**Sedláček, T. – Psota, V.: Klassifikation der Gerstensorten für die Herstellung des Bieres mit der geschützten geografischen Bezeichnung „České pivo“ (Tschechisches Bier) unter Anwendung einer Diskriminationsanalyse.** Kvasny Prum. 61, 2015, Nr. 9, S. 262–267

Der Erwerb der geschützten geografischen Bezeichnung „České pivo“ führte zur Notwendigkeit einer gezielten Veredelung von Gerstensorten mit den Parametern von entsprechenden Eigenschaften für den Typ des Bieres. Im Artikel wird der Einfluss der Gerstensorten und der Anbaulokalität auf die Hauptparameter der Malzqualität beschrieben mit dem Ziel das am besten geeignete Auswahlkriterium zu identifizieren. Als die geeignete Parameter wurden relativer Extrakt bei 45 °C, β-Glukangehalt in der Süßwürze und Kolbachzahl nachgewiesen. Weil auch diese Parameter wesentlich das Lebensmilieu und residuale Einflüsse beeinflussen, wurde eine Klassifikationsfunktion unter Anwendung einer Diskriminationsanalyse entwickelt. Diese Funktion hat erfolgreich 94% Muster rücksichtslos auf die Anbaulokalität klassifiziert, dadurch konnte sie als ein geeignetes Instrument zur Auswahl von Gerstenlinien dienen, die die qualitative Anforderungen an die Gerstensorten für die Herstellung des Bieres mit der geschützten geografischen Bezeichnung „České pivo“ erfüllen.

**Klíčová slova:** sladovnická kvalita, Chráněné zeměpisné označení „České pivo“, diskriminační analýza**Keywords:** malting quality, Protected Geographical Indication “České pivo”, discriminant analysis

## 1 ÚVOD

Chráněné zeměpisné označení „České pivo“ (dále jen CHZO „České pivo“) bylo zapsáno do Rejstříku chráněných zeměpisných označení v roce 2008 (Commission, 2008). V téže roce doporučil VÚPS první odrůdy splňující kvalitativní požadavky na výrobu piva s CHZO „České pivo“ (Psota, 2008). Byly to již dříve registrované odrůdy, které splňovaly v žádosti uvedené požadavky. Odrůdy pro „České pivo“ mají mít především nižší úroveň prokvašení a nižší proteolytické rozluštění. To je pro šlechtitele dosti zásadní změna dosavadního pohledu na sladovnickou kvalitu nových odrůd ječmene.

Pro úspěšné šlechtění je třeba mít k dispozici dostatečně robustní selekční kritéria. V případě monogenně založených znaků je jejich dědičnost jednoduchá a selekce účinná na základě jasných fenotypových projevů (Baker, 1986). V případě polygenně založených znaků, mezi které kvalita patří, je situace mnohem obtížnější. Pro charakterizaci sladovnické kvality se používá řada parametrů, z nich každý postihuje pouze určitou část komplexní problematiky. Vzhledem k tomu, že i tyto dílčí kvalitativní znaky jsou polygenně založené, je selekce na sladovnickou kvalitu velmi obtížná (Swanston a Ellis, 2002). K polygennímu charakteru a komplexní problematice

## 1 INTRODUCTION

The Protected Geographical Indication “České pivo/Czech Beer” (further only PGI České pivo) was recorded in the European Register of the Protected Geographic Indications in 2008 (Commission, 2008). In the same year, the Research Institute of Brewing and Malting (RIBM) recommended the first varieties meeting qualitative requirements for production of “České pivo” (Psota, 2008). These previously registered varieties fulfilled the requirements specified in the application. The varieties for “České pivo” are characterized by a lower level of fermentation and lower proteolytic modification; this represents for breeders a principal change in terms of malting quality of new barley varieties

Successful breeding requires the availability of sufficiently robust selection criteria. In monogenic traits, their inheritance is simple and their selection effective based on clear phenotype performance (Baker, 1986). In polygenic traits, which include quality, the situation is much more difficult. Many parameters are used to characterize malting quality; each of them only addresses a specific aspect of the complex issue. Considering the fact that even these partial qualitative attributes are polygenic, the selection for malting quality

sladovnické kvality dále přistupuje podíl vlivu prostředí na fenotypový projev (Eagles et al., 1995). V praxi to znamená, že genotyp s fixovaným genetickým založením má různé hodnoty kvalitativních parametrů na různých lokalitách a v různých ročnicích (Foster et al., 1967). Standardním šlechtitelským postupem pro selekci na sladovnickou kvalitu je tak rozsáhlé testování materiálů na více lokalitách a ve více ročnicích. Takovéto testování je však velmi nákladné a náročné na množství materiálu, provádí se proto u omezeného množství nově vyšlechtěných linií v pokročilejších generacích.

Pro zrychlení šlechtitelského postupu a vyšší účinnost šlechtění ječmene je žádoucí posunout výběr genotypů do dřívějších generací (Baker et al., 1968). Pro šlechtění na sladovnickou kvalitu se vyžadují parametry sladovnické kvality, které jsou silně ovlivněny genotypem a málo vlivy prostředí. Cílem této studie bylo určit znaky sladovnické kvality, schopné identifikovat nově vyšlechtěné linie ječmene splňující kvalitativní požadavky kladené na odrůdy vhodné pro výrobu piva s CHZO „České pivo“.

## 2 MATERIÁL A METODY

Do experimentálního souboru byly zařazeny odrůdy Aksamit, Blaník, Bojos a Malz doporučené pro výrobu piva s CHZO „České pivo“ a odrůdy Kangoo, Sebastian, Xanadu a Zeppelin vhodné pro ostatní druhy piv (tab. 1a)

Tab. 1a Odrůdy experimentálního souboru / Table 1a Varieties of the experimental set

Odrůda	Rodokmen	Rok registrace	Země původu
Variety	Pedigree	Year of registration	Country of origin
<b>Aksamit</b>	NSL 94-1384 B x (Perun x Tu 33) x Atribut	2007	CZ
<b>Blaník</b>	NFC 495-17 x Madonna	2007	NL
<b>Bojos</b>	Madonna x Nordus	2005	CZ
<b>Kangoo</b>	Braemer x Br 5509a	2008	NL
<b>Malz</b>	Famin x Scarlett	2002	CZ
<b>Sebastian</b>	Lux x Viskosa	2005	DK
<b>Xanadu</b>	Viskosa x Scarlett	2005	DE
<b>Zeppelin</b>	(Scandium x Isabella) x SJ 050623	2012	DK

Odrůdy experimentálního souboru byly pěstovány v roce 2012 v maloparcelkových pokusech ve dvou opakováních v úplných znárodněných blocích standardní agrotechnikou pro sladovnický ječmen. Kontrolním souborem byly sladovnické odrůdy ječmene zkoušené pro Seznam doporučených odrůd (tab. 1b) v roce 2008. Popis pokusných stanovišť je uveden v tab. 2.

Sladování 0,5 kg vzorků zrna > 2,5 mm probíhalo v mikrosladovně fy KVM (ČR). Pro laboratorní sladování byl použit postup tradičně používaný ve VÚPS, který je v podstatě totožný z metodikou MEBAK (2011).

Tab. 2 Popisy zkušebních stanovišť / Table 2 Descriptions of the trial sites

Zkušební stanoviště	Kód lokality	Výrobní oblast	Nadmořská výška (m)	Dlouhodobá průměrná teplota t30 (°C)	Dlouhodobý průměrný úhrn srážek s30 (mm)	Půdní typ a druh
Trial site	Code of the site	Production region	Altitude (m)	Long-term average temperature t30 (°C)	Long-term average sum of precipitation p30 (mm)	Code of soil
<b>Hrubčice</b>	HE	Ř	210	8.5	578	ČMh – h
<b>Stupice</b>	ST	Ř	287	8.3	588	HMm – jh
<b>Věrovany</b>	VER	Ř	207	8.7	502	ČMh – h
<b>Polná</b>	PO	B	590	8.1	705	HMm – ph
<b>Krukanice</b>	KR	O	474	7.3	496	HMm – ph

### Vysvětlivky / Explanations

Ř – Řepařská výrobní oblast / Sugar-beet production region  
O – Obilnářská výrobní oblast / Cereal production region  
B – Bramborářská výrobní oblast / Potato production region  
ČMh – Černozem hnědozemní / Luvii-haplic Chernozem

is very difficult (Swanston and Ellis, 2002). In addition, besides the polygenic character and the complex malting quality, the influence of the environment on the phenotype performance must be considered (Eagles et al., 1995). In practice, this means that a genotype with a fixed genetic basis has various values of qualitative parameters in different sites and different years (Foster et al., 1967). Thus, the standard breeding approach to selection for malting quality is based on extensive testing of materials in various sites and various years. This testing is very costly and difficult given the quantity of the material; therefore, it is carried out on a limited quantity of new breeding lines in advanced generations.

To accelerate the breeding process and make it more effective, selection of genotypes should be shifted to earlier generations (Baker et al., 1968). In breeding barley for malting quality, the parameters that are strongly affected by a genotype and minimally by the environment are required. The objective of this study was to determine the malting quality parameters capable to identify new breeding lines meeting the qualitative requirements for brewing beer with the PGI “České pivo”.

## 2 MATERIALS AND METHODS

The experimental set included the varieties Aksamit, Blaník, Bojos, and Malz which are recommended for production of beer with the PGI “České pivo” (CP) and the varieties Kangoo, Sebastian, Xanadu,

Tab. 1b Odrůdy kontrolního souboru / Table 1b Varieties of the control set

Odrůda	Rodokmen	Rok registrace	Země původu
Variety	Pedigree	Year of registration	Country of origin
<b>Acrobat</b>	Chaserx (Aspen x Prestige)	2008	FR
<b>Aksamit</b>	NSL 94-1384 B x (Perun x Tu 33) x Atribut	2007	CZ
<b>Aktiv</b>	HE 8270 x Madonna	2008	CZ
<b>Blaník</b>	NFC 495-17 x Madonna	2007	NL
<b>Bojos</b>	Madonna x Nordus	2005	CZ
<b>Calgary</b>	(Dominique x Blenheim) x (Barleta x Chapka)	2003	FR
<b>Diplom</b>	(Ditta x Cooper) x Krona	2002	DE
<b>Jersey</b>	Apex x Alexis	2000	NL
<b>Kangoo</b>	Braemer x Br 5509a	2008	NL
<b>Marthe</b>	Neruda x Recept	2008	DE
<b>Prestige</b>	Cork x Chariot	2002	FR
<b>Publican</b>	Drum x Sebastian	2008	GB
<b>Radegast</b>	Nordus x Heris	2005	CZ
<b>Sebastian</b>	Lux x Viskosa	2005	DK
<b>Spilka</b>	(94/633/4 x Viskosa) x Neruda	2007	DE
<b>Tolar</b>	HE 4710 x HWS 78 267/83	1997	CZ
<b>Westminster</b>	NSL 97-5547 x Barke	2007	GB
<b>Xanadu</b>	Viskosa x Scarlett	2005	DE

HMm – Hnědozem typická / Orthic Luvisol  
h – hlinitá půda (střední) / Loamy soil (medium)  
ph – písčitolinitá půda (střední) / Sandy-loam (medium)  
jh – jílovitolinitá půda (těžká) / Clayey-loam (heavy)

Tab. 3 Souhrnná data ANOVA / Table 3 Summary ANOVA

Kvalitativní parametr <i>Qualitative parameter</i>	Stanoviště / Site			Kategorie / Category			Residual
	F	p	% variability	F	p	% variability	% variability
NL (%)	224.30	< 0.00	95.8	2.20	0.15	0.3	3.9
E (%)	47.50	< 0.00	80.4	7.80	< 0.00	4.4	15.2
RE45 (%)	21.40	< 0.00	51.7	32.90	< 0.00	26.5	21.8
K (%)	9.50	< 0.00	39.9	15.80	< 0.00	22.2	37.9
DM (WK)	17.70	< 0.00	66.0	0.30	0.60	3.6	30.4
DSP (%)	1.83	0.17	14.4	5.52	0.03	14.5	71.1
Fm (%)	21.50	< 0.00	67.8	3.60	0.07	3.8	28.4
BGw (mg/l)	3.70	0.02	21.6	12.90	< 0.00	25.4	53.0

## Vysvětlivky / Explanations

NL – Obsah dusíkatých látek / Protein content

E – Extrakt sladu / Extract of malt

RE45 – Relativní extrakt při 45 °C / Relative extract at 45 °C

K – Kolbachovo číslo / Kolbach Index

DM – Diastatická mohutnost / Diastatic power

DSP – Dosažitelný stupeň prokvašení / Apparent final attenuation

Fm – Friabilita / Friability

BGw – Obsah β-glukanů ve sladně / β-glucan content in sweet wort

F – testovací kritéria / test criteria

p – p-hodnota / p-value

Namáčka probíhala ve skříňové máčárně. Teplota vody a teplota vzduchu byla udržována na hodnotě 14,5 °C. Délka namáček 1. den – 5 hodin; 2. den – 4 hodiny. Třetí den byl obsah vody v klíčícím zrně namáčkou nebo dokropením upraven na hodnotu 45 %.

Klíčení probíhalo ve skříňovém klíčidle. Teplota v průběhu klíčení byla 14,5 °C. Celkový čas máčení a klíčení byl 144 hodin.

Hvozďení probíhalo na jednolískovém elektricky vyhřívaném hvozdu. Celková doba hvozďení byla 22 hodin, fáze předsoušení probíhala při teplotě 55 °C, teplota fáze dotahování byla 80 °C po 4 hodiny.

Sladovnická kvalita je definována obsahem bílkovin (NL, v %), extrakt (E, v %), relativní extrakt při 45 °C (RE45, v %), Kolbachovo číslo (K, v %), diastatická mohutnost (DM, v j.WK), dosažitelný stupeň prokvašení (DSP, v %), friabilita (Fm, v %) a β-glukany ve sladně (BGw, v mg.dm<sup>-3</sup>) byla stanovena podle metodik uvedených v publikacích EBC (2010) a MEBAK (2011).

ANOVA a modelování klasifikačních funkcí diskriminační analýzou byly provedeny v statistickém softwaru Statgraphics Centurion.

## 3 VÝSLEDKY

Získané výsledky kvalitativních parametrů byly analyzovány dvoufaktorovou analýzou rozptylu, kde faktory byly lokalita pěstování a kategorie sladovnické kvality. Souhrnné výsledky testovacího kritéria F, p-hodnoty a procenta popsané variability pro lokalitu pěstování, kategorii sladovnické kvality a reziduální vlivy jsou uvedeny v tab. 3.

Sledované parametry sladovnické kvality s výjimkou DSP byly statisticky průkazně závislé na prostředí (p < 0,05). Tento vliv byl vysoký až velmi vysoký vyjma parametru BGw, K a RE45. Sledované parametry sladovnické kvality byly také statisticky průkazně závislé (p < 0,05) na kategorii sladovnické kvality, s výjimkou DM, NL a Fm. Vliv kategorie sladovnické kvality však byl velmi nízký až nízký. Nejvyšší procento popsané variability bylo u parametrů RE45, BGw a K. Zjištěné hodnoty však nedostačují pro rutinní využití jako selekčního parametru. Z tohoto důvodu bylo přistoupeno k modelování klasifikačních funkcí metodou diskriminační analýzy (Fisher, 1936),

Tab. 4 Koeficienty klasifikačních funkcí / Table 4 Classification function coefficients

	CP	O
NL (%)	-36.68	-39.29
RE45 (%)	29.18	30.90
DSP (%)	113.50	116.30
CONSTANT	-4 889.00	-5 155.00

## Vysvětlivky / Explanations

NL – Obsah dusíkatých látek / Protein content

RE45 – Relativní extrakt při 45 °C / Relative extract at 45 °C

DSP – Dosažitelný stupeň prokvašení / Apparent final attenuation

CP – odrůdy pro pivo s CHZO „České pivo“ / Varieties for beer with PGI „České pivo“

O – ostatní sladovnické odrůdy / Other malting varieties

and Zeppelin which are suitable for production of other types of beers (Table 1a).

The varieties of the experimental set were grown in two replications in small plot field experiments in 2012. Completely randomized block design and standard crop management practice for malting barley were used. The malting varieties tested for the List of Recommended Varieties in 2008 were used as the control set (Table 1b). The description of the experimental sites is given in Table 2.

Samples (0.5 kg) of grain > 2.5 mm were malted in the micromalting plant of the company KVM (CR). The samples were placed in bottom-perforated metal boxes. Laboratory malting was performed with the method traditionally used in the RIBM which corresponds to the MEBAK method (2011).

Steeping was carried out in the steeping box. The water and air temperature was kept at 14.5 °C. Length of steeping: on the 1st day – 5 hours; 2nd day – 4 hours. On the third day the water content in the germinating grain was adjusted to 45% by steeping or spraying.

Germination was carried out in the germinating box. The air temperature was kept at 14.5 °C. The total steeping and germination time was 144 h.

Kilning was conducted on a one-floored electrically heated kiln. Total germination time was 22 h, pre-drying was performed at 55 °C, kiln temperature was 80 °C for 4 hours.

Malting quality was defined by protein content (NL, in %), extract (E, in %), relative extract at 45 °C (RE45, in %), Kolbach Index (K, in %), diastatic power (DM, in WK), apparent final attenuation (DSP, in %), friability (Fm, in %) and β-glucan in sweet wort (BG, in mg.dm<sup>-3</sup>) according to the EBC (2010) and MEBAK (2011) methods.

ANOVA and modeling of classification functions using discriminant analysis were conducted using Statgraphics Centurion statistical software.

## 3 RESULTS

The obtained results of qualitative parameters were analyzed using two-factor analysis of variance, where the factors were the growing site and the category of malting quality. The summary results of F-test, p values and percentage of variability observed for the growing site, malting quality category, and residual influences are listed in Table 3.

The studied parameters of malting quality, with the exception of DSP, depended statistically significantly on the environment (p < 0.05). This effect was high to very high with the exception of the parameters BGw, K and RE45. The malting quality parameters under study also depended statistically significantly (p < 0.05) on the category of malting quality, with the exception of DM, NL, and Fm. However, the influence of malting quality category was very low to low. The highest percentage of the variability was recorded in the parameters RE45, BGw, and K. The detected values, however, are not sufficient for routine use as a selection parameter. For this reason, modeling of classification functions using discriminant analysis (Fisher, 1936), specifically stepwise regression with the adding variables, was carried out. As an initial value, all the measured qualitative parameters were used. In the individual iterations of the stepwise

Tab. 5 Ověřování klasifikace odrůd / Table 5 Verification of the variety classification

Odrůda Variety	NL (%)	RE45 (%)	DSP (%)	S <sub>CP</sub>	T	SCP -T	Predikce kategorie / Predicted category	Kategorie Category
Acrobat	11.0	43.5	83.9	5 500	5 015	484	O	O
Aksamit	11.3	34.8	82.4	5 064	5 015	49	O	CP
Aktiv	12.4	39.9	81.8	5 105	5 015	90	O	O
Blaník	11.7	35.8	81.7	4 999	5 015	-16	CP	CP
Bojos	11.4	37.1	79.2	4 765	5 015	-250	CP	CP
Calgary	11.8	37.5	81.0	4 966	5 015	-49	CP	CP
Diplom	11.6	38.5	81.7	5 082	5 015	67	O	O
Jersey	11.9	42.5	81.6	5 176	5 015	161	O	O
Kangoo	11.5	39.8	83.7	5 350	5 015	335	O	O
Marthe	11.8	43.8	83.7	5 456	5 015	441	O	O
Prestige	11.5	41.2	82.3	5 232	5 015	217	O	O
Publican	11.0	37.9	82.7	5 200	5 015	185	O	O
Radegast	11.6	38.6	78.6	4 733	5 015	-282	CP	CP
Sebastian	10.5	40.5	83.2	5 351	5 015	336	O	O
Spilka	11.7	44.5	79.9	5 049	5 015	34	O	O
Tolar	11.6	35.5	80.7	4 881	5 015	-134	CP	CP
Westminster	11.0	46.1	81.7	5 326	5 015	311	O	O
Xanadu	11.3	43.7	81.5	5 222	5 015	207	O	O

## Vysvětlivky / Explanations

NL – Obsah dusíkatých látek / Protein content

RE45 – Relativní extrakt při 45 °C / Relative extract at 45 °C

DSP – dosažitelný stupeň prokvašení / Apparent final attenuation

S<sub>CP</sub> – Klasifikační skóre / Classification score

T – Prahová hodnota / Threshold value

CP – odrůdy pro pivo s CHZO „České pivo“ / Varieties for beer with PGI “České pivo”

O – ostatní sladovnické odrůdy / Other malting varieties

konkrétně krokové regrese s přidáváním proměnných. Jako vstupní proměnné byly použity všechny naměřené kvalitativní parametry. V jednotlivých iteracích krokové regrese byly do modelu postupně přidávány proměnné s hodnotou testovacího kritéria  $F > 10$  (vzhledem ke kategorii CP/O) až po dosažení uspokojivé hladiny statistické spolehlivosti ( $p < 0,01$ ). Během tří iterací bylo dosaženo optimální klasifikační funkce zahrnující proměnné NL, RE45 a DSP se statistickou spolehlivostí  $p < 0,001$ . Funkce pro kategorizaci odrůd jako CP nebo O jsou uvedeny v tab. 4.

Dosažením do obecné rovnice  $S_{\text{kategorie}} = a + b_1 \cdot x_1 + b_2 \cdot x_2 + \dots + b_m \cdot x_m$  získáme klasifikační funkci např. pro kategorii CP:

Klasifikační skóre ( $S_{\text{CP}}$ ) =  $-4889 - 36,68 \cdot \text{NL} + 29,18 \cdot \text{RE45} + 113,5 \cdot \text{DSP}$

Výpočtem průměrné hodnoty  $S_{\text{CP}}$  pro základní skupinu vzorků CP a O, jejich součtem a vydělením 2 pak získáme prahovou hodnotu „threshold“  $T = (\bar{x}_{\text{CP}} + \bar{x}_{\text{O}}) / 2$ , zde hodnota  $T = 5015$ . Pokud je vypočtená hodnota  $S_{\text{CP}}$  u neznámého vzorku  $< T$ , kategorizujeme vzorek jako CP, pokud je  $> T$ , kategorizujeme vzorek jako O. Tento postup je nejjednodušší, existuje řada dalších, např. výpočet příslušnosti neznámého vzorku do kategorie pomocí Mahalanobisovy vzdálenosti (Mahalanobis, 1936), pro přehled viz Rencher a Christensen (2012). Dále byla testována schopnost klasifikačních funkcí kategorizovat odrůdy jako CP či O. Pomocí výše uvedených funkcí byly u vzorků kontrolního souboru vypočítány hodnoty  $S_{\text{CP}}$  a vzorky zařazeny do kategorií (tab. 5). Odrůdy byly správně kategorizovány v 94 % případů.

## 4 DISKUZE

Sladovnická kvalita je dána souhrnem kvantitativních znaků, které jsou níže až středně ovlivněny genotypem (Molina-Cano et al., 1997), což bylo touto prací potvrzeno. Sladovnické znaky se do jisté míry navzájem kompenzují a s využitím pokročilých statistických metod je možné jejich vzájemné kompenzační vztahy zachytit a zapracovat do matematických modelů umožňujících správnou klasifikaci analyzovaných genotypů (Gianinetti et al., 2005). Obdobný přístup byl zvolen pro vypracování klasifikační funkce pro identifikaci genotypů s kvalitou vhodnou pro „České pivo“.

Jedním ze základních ukazatelů sladovnické kvality je obsah dusíkatých látek v zrně ječmene. Tento parametr je však velmi snadno ovlivnitelný vnějšími podmínkami působícími na rostliny ječmene

regression, variables with the testing criteria value of  $F > 10$  (with regard to categories CP/O) were gradually added to the model until satisfactory levels of statistical significance were achieved ( $p < 0,01$ ). During three iterations, the optimal model of classification functions was achieved, the model included NL and RE45, and DSP variables with statistical significance of  $p < 0,001$ . Functions for classification of the varieties as CP or O are listed in Table 4.

The classification function was obtained by substituting the coefficients into general equation  $S_{\text{category}} = a + b_1 \cdot x_1 + b_2 \cdot x_2 + \dots + b_m \cdot x_m$  we get, for example for classification as CP:

Classification score ( $S_{\text{CP}}$ ) =  $-4889 - 36,68 \cdot \text{NL} + 29,18 \cdot \text{RE45} + 113,5 \cdot \text{DSP}$

The threshold value (T) is calculated as follows: a sum of average values of  $S_{\text{CP}}$  for the basic sample group CP and O divided by 2:  $T = (\bar{x}_{\text{CP}} + \bar{x}_{\text{O}}) / 2$ , (here  $T = 5015$ ). If the  $S_{\text{CP}}$  value of an unknown sample is  $< T$  the sample is classified as CP, if the value is  $> T$  the sample belongs to the class O. This is the simplest method, several other methods exist, for example calculation of classification of an unknown sample to a category using Mahalanobis distance (Mahalanobis, 1936), for review, see Rencher and Christensen (2012). Further, we tested the capacity of the classification functions to classify the varieties as CP or O. Using the functions described above, the  $S_{\text{CP}}$  values in the control set were computed and the samples were assigned to the categories (Table 5). The varieties were correctly classified in 94%.

## 4 DISCUSSION

Malting quality is defined by a sum of quantitative traits which are to a lower or medium extent affected by a genotype (Molina-Cano et al., 1997), our study confirmed this finding. Malting traits, to a certain extent, mutually compensate each other and with the use of advanced statistical methods, these mutual compensation relationships can be identified and processed in mathematical models, which enable a correct classification of the analyzed genotypes (Gianinetti et al., 2005). A similar approach was selected for designing a classification function for the identification of the genotypes with quality suitable for “České pivo”.

Content of nitrogenous substances in the barley grain belongs to the basic indicators of malting quality. This parameter, however, can be easily influenced by external conditions affecting the barley plant

v průběhu jejich vegetace, výběrem lokality apod. (Sachambula et al., 2009). Vysoké hodnoty  $\geq 12,5\%$  nebo naopak nízké hodnoty  $\leq 9,5\%$  jsou považovány za hraniční. Obsah dusíkatých látek v zrna ječmene ovlivňuje většinu dalších sladovnických znaků. Se zvyšováním obsahu dusíkatých látek se snižuje obsah extraktu, snižuje se hodnota Kolbachova čísla a zvyšují se hodnoty relativního extraktu při  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  a diastatické mohutnosti (Schildbach, 1974). Důležitost obsahu dusíkatých látek ukazuje jeho zahrnutí do vytvořené klasifikační funkce, kde tento parametr slouží pro normalizaci hodnot relativního extraktu při  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  a dosažitelného stupně prokvašení.

Dalším základním ukazatelem sladovnické kvality je obsah extraktu, který vypovídá o úrovni modifikace škrobu v průběhu sladování. U tohoto významného technologického a ekonomického znaku je vidět výrazný výsledek šlechtitelského úsilí. Genetický zisk v tomto znaku byl ovlivněn snížením akumulace dusíkatých látek v zrna a zvýšením aktivity hydrolytických enzymů obilky v průběhu sladování u moderních odrůd. Průměrný meziroční přírůstek extraktu v sušíně sladu v průběhu padesáti let byl 0,0641 procentních bodů (Psota et al., 2009). Přes jeho důležitost nebyl tento parametr zahrnut do vypracované klasifikační funkce, protože nenapomáhá nalézt odrůdy vhodné pro výrobu „Českého piva“.

Relativní extrakt při  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  vyjadřuje aktivitu proteolytických enzymů a  $\alpha$ -amylasy. Hodnota relativního extraktu při  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  je ovlivňována odrůdou i průběhem počasí v daném roce. Průměrný meziroční nárůst relativního extraktu byl za sledované období 0,645 procentních bodů (Psota et al., 2009). Vzhledem k tomu, že odrůdy doporučené pro výrobu piva s CHZO „České pivo“ mají odlišné hodnoty tohoto parametru a jeho relativně silné (vzhledem k jiným parametrům sladovnické kvality) genetické determinaci byl zařazen jako součást klasifikační funkce.

Proteolytické rozluštění je vyjádřeno hodnotou Kolbachova čísla. Průměrný meziroční nárůst Kolbachova čísla byl v dlouhodobé časové řadě 0,1456 procentních bodů (Psota et al., 2009). Kolbachovo číslo koreluje do určité míry s hodnotou relativního extraktu při  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ , z tohoto důvodu nebyl tento parametr zařazen jako součást klasifikační funkce – nedocházelo k významnému zlepšení její výpovědní hodnoty.

Hodnota dosažitelného stupně prokvašení informuje o obsahu všech látek (cukrů) ve sladince z kvasitelných pivovarskými kvasnicemi. Tento parametr je velmi důležitý z hlediska odlišení odrůd doporučené pro výrobu piva s CHZO „České pivo“ od ostatních, jak je dáno ve specifikaci CHZO „České pivo“, (Commission, 2008). Dosažitelný stupeň prokvašení byl proto zařazen do klasifikační funkce.

Diastatická mohutnost je hodnota, která udává enzymový potenciál sladu, převážně  $\beta$ -amylasy. Vlivem tohoto enzymového potenciálu dochází ke štěpení škrobu v procesu rmutování na nízkomolekulární sacharidy. Tento parametr nebyl použit, protože významně nezlepšuje výpovědní hodnotu klasifikační funkce.

Friabilita a obsah  $\beta$ -glukanů charakterizují degradaci buněčných stěn, úroveň cytolitického rozluštění. Oba tyto znaky jsou ze strany sladoven u nových odrůd pečlivě sledovány. Nové odrůdy nejsou v České republice registrovány jako sladovnické, pokud mají obsah  $\beta$ -glukanů ve sladince vyšší než  $250\text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  (Psota a Kosař, 2002). Běžně je ze strany pivovarů požadován obsah  $\beta$ -glukanů pod  $200\text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Jak pro „České pivo“, tak pro ostatní druhy piv zde platí, že optimální úroveň friability je více než 86 % a optimální úroveň obsahu  $\beta$ -glukanů ve sladince je méně než  $100\text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Vzhledem k tomu, že tyto znaky nenapomáhají třídění do kategorií, nebyly zařazeny do klasifikační funkce.

Závěrem lze konstatovat, že klasifikační funkce založená na diskriminační analýze poskytuje objektivní způsob hodnocení linií ječmene vhodných pro „České pivo“. Pro správné vyhodnocení nově vyšlechtěných linií stačí vedle základního vyhodnocení jako sladovnického ječmene sledovat obsah dusíkatých látek, relativní extrakt při  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  a dosažitelný stupeň prokvašení již při analýze v raných generacích, kde není dostatek materiálu pro rozsáhlé testování. Předpokládáme, že zavedení tohoto způsobu hodnocení do selekčního procesu šlechtění přinese jeho zrychlení a zvýšení kvality odrůd doporučených pro výrobu piva s chráněným zeměpisným označením „České pivo“.

## PODĚKOVÁNÍ

Výsledky uvedené v této práci byly získány v rámci řešení projektu Národní agentura pro zemědělský výzkum Ministerstva zemědělství ČR QJ1310091 – Sladovnický ječmen pro „České pivo“.

during the course of its growth, selection of site etc. (Sachambula et al., 2009). High values  $\geq 12.5\%$  or, on the contrary, low values  $\leq 9.5\%$  are considered as the limit values. Content of nitrogenous substances in the barley grain affects most other malting traits. With an increased content of nitrogenous substances the extract content and values of Kolbach Index decline; values of relative extract at  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  and diastatic power increase (Schildbach, 1974). Due to the importance of the nitrogenous substance content this parameter was included in the created classification function, it serves here for standardization of values of relative extract at  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  and apparent final attenuation.

Another basic malting quality indicator, extract content, shows the level of starch modification during malting. This important technical and economical trait demonstrates the significant impact of the breeding effort. The genetic gain in this trait was influenced by the reduced accumulation of nitrogenous substances in grain and increased activity of the hydrolytic enzymes in caryopsis during malting of modern varieties. The average year-on-year increase in extract in malt over fifty years was 0.0641 percentage points (Psota et al., 2009). Despite the importance of this trait, extract content was not included into the created classification functions as it does not help to find varieties suitable for production of „České pivo“.

Relative extract at  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  gives the activity of proteolytic enzymes and  $\alpha$ -amylase. The level of relative extract at  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  is influenced by the variety and by the course of weather in the given year. The average year-on-year growth in relative extract for the period studied was 0.645 percentage points (Psota et al., 2009). Given the fact that the varieties recommended for production of beer with the PGI „České pivo“ have differing values of this parameter and a relatively strong genetic determination of this parameter (in comparison to other malting quality parameters), relative extract at  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  was integrated in the classification function.

Proteolytic modification is expressed by the Kolbach Index. The average year-on-year increase in the Kolbach Index was 0.1456 percentage points over the long-term time frame (Psota et al., 2009). The Kolbach Index correlates to a certain extent to the value of relative extract at  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; for this reason this parameter was not included in the classification function – it did not improve significantly its prediction value.

The value of apparent final attenuation informs about the content of all substances (sugars) in sweet wort fermentable using brewer's yeast. This parameter is very important in terms of differentiating the varieties recommended for production of beer with the PGI „České pivo“ from the others, as stipulated in the PGI „České pivo“ specification (Commission, 2008). Therefore, apparent final attenuation was included in the classification function.

The value of diastatic power shows the enzymatic potential of malt, namely  $\beta$ -amylase, which, during the mashing process, degrade starch into low-molecular sugars. This parameter was not used as it did not significantly improve the predictive value of the classification model.

Friability and  $\beta$ -glucan content in wort characterize degradation of cell walls, a degree of cytolitic disintegration. Both these traits are carefully monitored in new varieties by malt houses. In the Czech Republic, new varieties are not registered as malting varieties if their  $\beta$ -glucan content in wort is higher than  $250\text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  (Psota and Kosař, 2002). Breweries commonly require  $\beta$ -glucan content below  $200\text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ . The optimal friability level in both „České pivo“ and other types of beer is more than 86% and the optimal level of  $\beta$ -glucan content in sweet wort is less than  $100\text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ . As these traits do not facilitate the classification of varieties, they were not included in the classification function.

We can summarize that the classification function based on discriminant analysis provides an unbiased method for the evaluation of new breeding lines suitable for „České pivo“. For the proper evaluation, in addition to a basic evaluation as malting barley, it is sufficient to monitor nitrogenous substance content, relative extract at  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  and apparent final attenuation when analyzing early generations where there is not sufficient material for extensive testing. We assume that the introduction of this assessment method to the selection breeding process will accelerate it and increase quality of varieties recommended for the production of beer designated with the protected geographical indication „České pivo“.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The results presented in this study were obtained within solution of the project of the National Agency for Agricultural Research of the Ministry of Agriculture CR QJ1310091 – Malting Barley for „České pivo“.

## LITERATURA / REFERENCES

- Baker, R. J., 1986: Selection Indices in Plant Breeding. Florida: CRC Press Boca Raton.
- Baker, R. J., Bendelow, V. M., Buchannon, K. W., 1968: Early Generation Inheritance of Malting Quality Characters in a Barley Cross. *Crop Sci*, 8: 446–448. DOI:10.2135/cropsci-1968.0011183X000800040015x
- Commission, 2008: Publication of an application pursuant to Article 6(2) of Council Regulation (EC) No 510/2006 on the protection of geographical indications and designations of origin for agricultural products and foodstuffs. *Official Journal of the European Union Commission* 16/14.
- Eagles, H. A., Bedgood, A. G., Panozzo, J. F., Martin, P. J., 1995: Cultivar and Environmental Effects on Malting Quality in Barley. *Aust J Agric Res*, 46: 831–844. DOI: 10.1071/AR9950831
- EBC Analysis committee, 2010: *Analytica EBC, Barley: 3.2 Moisture Content of Barley, 3.3.2 Total Nitrogen Content of Barley, Malt: 4.2 Moisture Content of Malt, 4.3.2 Total Nitrogen of Malt, 4.5.1 Extract of Malt, 4.9.1 Soluble Nitrogen of Malt, 4.12 Diastatic Power of Malt, 4.15 Friability, 4.16.2 High Molecular Weight Beta-glucan Content of Malt and Malt Wort*. Nürnberg: Fachverlag Hans Carl, 794 p. ISBN 978-3-418-00759-5.
- Fisher, R. A., 1936: The use of multiple measurements in taxonomic problems. *Ann. Eugen.*, 7, 179–188.
- Foster, A. E., Peterson, G. A., Banasik O. J., 1967: Heritability of Factors Affecting Malting Quality of Barley. *Crop Sci*, 7: 611–613. DOI:10.2135/cropsci1967.0011183X000700060016x
- Gianinetti, A., Toffoli, F., Cavallero, A., Deloghu, G., Stanca, A. M., 2005: Improving discrimination for malting quality in barley breeding programmes. *Field Crops Research*, 94: 189–200. DOI: 10.1016/j.fcr.2005.01.002
- Mahalanobis, P.C., 1936: On the Generalized Distance in Statistics. In: *Proceedings National Institute of Science, India*, Vol. 2, No. 1. (16 April 1936): 49–55.
- MEBAK, 2011: *Raw materials: Barley; Adjuncts; Malt; Hops and Hop Products. 1 Barley: 1.5.3 Micromalting; Malz: 3.1.4.11 Maischmethode nach Hartong-Kretschmer VZ 45 °C*. Collection of Brewing Analysis Methods of the Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission (MEBAK), Freising-Weihenstephan, Germany. 341 p.
- Molina-Cano, J. L., Francesch, M., Perez-Vendrell, A. M., Ramo, T., Voltas, J., Brufau, J., 1997: Genetic and environmental variation in malting and feed quality barley. *Journal of Cereal Science*, 25: 37–47. DOI: 10.1006/jcrs.1996.0067
- Psota, V., 2008: Historical and current varieties of spring barley, varieties suitable for „České pivo“. *Kvasny Prum.*, 54: 11–12.
- Psota, V., Kosař, K.: 2002 Malting Quality Index. *Kvasny Prum.*, 47: 142–148.
- Psota, V., Hartmann, J., Sejkorová, Š., Loučková, T., Vejražka, K., 2009: 50 years of progress in quality of malting barley grown in the Czech Republic. *J. Inst. Brew.* 116 (4): 80–86. DOI: 10.1002/j.2050-0416.2009.tb00382.x
- Rencher, A. C., Christensen, W. F. (2012): *Methods of Multivariate Analysis*, Third edition. Wiley, ISBN: 978-0-470-17896-6. DOI: 10.1002/9781118391686.
- Sachambula, L., Psota, V., Dvořáčková, O., 2009: Quality of barley grain from the testing sites of the Czech Republic, harvest 2008. *Kvasny Prum.*, 55 (11/12): 320–325.
- Schildbach, R., 1974: Rohproteingehalt der Gerste und Malzqualität. *Monatsschrift für Brauerei*, 74(10/11): 217–241.
- Swanston, J. S., Ellis, R. P., 2002: Genetics and Breeding of Malt Quality Attributes. In: Slafer G. A., Molina-Cano J. L., Savin R., Araus J. L., Romagosa I. (eds.) *Barley Science, Recent Advances from Molecular Biology to Agronomy of Yield and Quality*. Food Products Press: New York: 85–114.

*Do redakce došlo: 16. 5. 2015*  
Přijato k publikování: 27. 7. 2015