

Zemkopības Ministrija

Valsts Stendes graudaugu selekcijas institūts

**Lauksaimniecībā izmantojamais zinātnes
ideju projekts**

**MOLEKULĀRO MARĶIERU IZMANTOŠANA LOPBARĪBAS
UN PĀRTIKAS MIEŽU PERSPEKTĪVO LĪNIJU
IDENTIFICĒŠANĀ**

ATSKAITE

Projekta vadītāja:

Dr. biol. I. BELICKA – Valsts Stendes graudaugu selekcijas institūts

Izpildītāji:

LU Bioloģijas institūts (atbildīgā Dr. biol. T. Sjakste)

Valsts Stendes graudaugu selekcijas institūts (atbildīgā Dr. biol. I. Belicka)

Valsts Priekuļu laukaugu selekcijas institūts (atbildīgā Dr. agr. L. Legzdiņa)

Dizštende
2007 – 2008.

Saturs

Ievads.....	3
1. Projekta teorētiskais pamatojums.....	3
1.1. Cietes šķelšana.....	3
1.2. β -amilāzes gēns (<i>Bmy 1</i>).....	3
1.3. α -amilāzes gēns (<i>Amy 32b</i>).....	6
2. Projekta mērķis un uzdevumi.....	7
3. Materiāli un metodes.....	8
3.1. Lauku izmēģinājumu iekārtošana.....	8
3.2. Miežu šķirņu un līniju pārbaude izmantojot MITE transpozona konstruētu marķieri, kas atrodās beta-amilāzes gēna <i>Bmy1</i> 3. intronā un frekvences C^{698} alēles sastopamības novērtējums.....	9
3.3. <i>Amy32b</i> gēna divu lokusu (G^{XhoI}/A ; G^{XbaI}/A) genotipēšana ar amplificētā DNS fragmenta restrikcijas polimorfisma analīzes metodi (CAPS assay).....	23
4. Rezultāti.....	27
4.1. Vasaras miežu līniju saimnieciski-bioloģisko īpašību raksturojums.....	27
4.1.1. Priekuļu LSI selekcijas materiāla raksturojums.....	27
4.1.2. Stendes GSI selekcijas materiāla raksturojums.....	46
4.2. <i>Bmy1</i> gēna un divu <i>Amy32b</i> gēna lokusu genotipēšanas rezultātu analīze.....	53
4.2.1. <i>Bmy1</i> un <i>Amy32b</i> gēnu genotipēšanas dati Valsts Priekuļu LSI un Valsts Stendes GSI selekcijas materiālam.....	53
4.2.2. Alēļu frekvences un heterozigotitātes indekss.....	62
4.2.3. <i>Bmy1</i> un <i>Amy32b</i> haplotipu raksturojums.....	63
4.2.4. Ģenētiskās daudzveidības novērtēšana kailgraudu un plēkšņainajiem miežiem pēc proteīna satura graudos, pēc piemērotības alus un lopbarības ražošanai.....	65
4.2.5. Ieteikumi selekcijas materiālu atlasei perspektīvā.....	69
Secinājumi.....	70
Izmantotā literatūra.....	71

Ievads

Lai radītu jaunas šķirnes ar noteiktām raksturīgām īpašībām, noteiktam izmantošanas veidam, Latvijas graudaugu selekcionāri izlasei un krustošanai kā kritērijus izmanto augu morfoloģiskās pazīmes jeb t.s. **fenotipiski** vērtīgo pazīmju atlasī, bet graudu kvalitātes novērtēšanā - **ķīmiskās** metodes. **Latvijā līdz šim graudaugu selekcijā nav pielietoti ģenētiskie marķieri**, kaut gan pasaules praksē, ieejot 21. gadsimtā, izlase tiek bāzēta uz **ģenētiskiem kritērijiem**. Projekts paredz Valsts Stendes graudaugu selekcijas institūta un Valsts Priekuļu laukaugu selekcijas institūta miežu selekcijas grupu sadarbību ar LU Bioloģijas institūta Genomikas un bioinformātikas grupu, kurai ir liela pieredze DNS molekulāro marķieru izveidošanā un praktiskajā izmantošanā pētījumos (Sjakste et al., 2002; Sjakste et al., 2003; Li et al., 2003; Sjakste and Röder, 2004).

Pēdējās desmitgadēs bija noteikti miežu molekulārie marķieri, kas ir viennozīmīgi saistīti ar saimnieciski lietderīgām pazīmēm. Pazīmju identificēšanai miežu genomā par perspektīviem ir atzīti ogļhidrātu metabolisma enzīmu gēni, tādēļ projekta uzmanības lokā būs gēnu polimorfī lokusi, kuros ir iekodētas beta- un alfa-amilāzes, šiem fermentiem ir svarīga nozīme cietes hidrolīzes procesos.

1. Projekta teorētiskais pamatojums

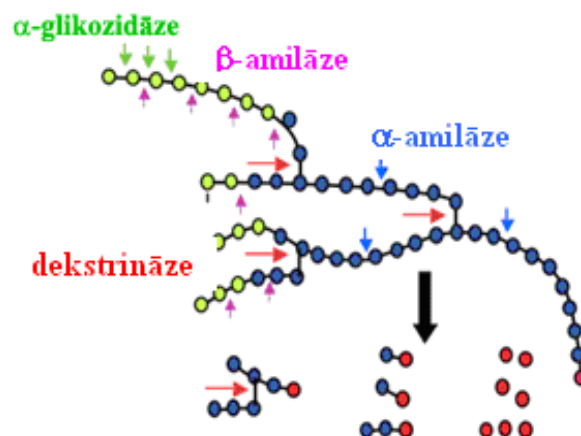
1.1. Cietes šķelšana

Grauda endospermā atrodas cietes uzkrājumi, kas ir nepieciešami auga attīstībai. Augam dīgstot ekspresējas enzīmi, kuri pārvērš cieti enerģijas ieguvei piemērotākā formā - maltozē un nelielos oligosaharīdos. Cieti hidrolizē enzīmi α -amilāze (EC.3.2.1.1.), β -amilāze (EC.3.2.1.2.), α -glikozidāze (EC.3.2.1.20.), dekstrināze (EC.3.2.1.41.) un izoamilāze (EC.3.2.1.68.). Cietes šķelšanas fermentu darbības pozīcijas ir redzamas 1.attēlā. Šo enzīmu darbības aktivitāte ir atkarīga no temperatūras un citiem apstākļiem, kā arī no enzīmus kodējošo gēnu polimorfisma. Dažādām miežu šķirnēm piemīt dažādas cieti hidrolizējošo fermentu īpatnības. Tādējādi, dažādiem mērķiem selekcionāri atlasa šķirnes, kuras atšķiras pēc šo fermentu aktivitātes. Piemēram, šķirnes ar augstu cietes hidrolīzes enzīmātisko aktivitāti lieto alus ražošanā iesala iegūšanai, bet ar zemu cietes hidrolīzes enzīmātisko aktivitāti un augstu proteīna saturu - lopbarības un pārtikas iegūšanai. LU Bioloģijas institūta Genomikas un bioinformātikas grupā veikti vairāki pētījumi par miežu beta-amilāzes un alfa -amilāzes gēnu polimorfismu. Tādējādi, šī projekta ietvaros izvēlējas miežu *Bmy1* un *Amy32b* gēnu molekulāro marķieru izpēti Latvijas miežu šķirnēs.

1.2. β -amilāzes gens (*Bmy1*)

β -amilāzes pilns ķīmiskais nosaukums ir 1,4- α -D-glikānmaltohidrolāze. Tas ir ferments, kas pieder hidrolāžu klases glikozidāzēm (EC3.2.1.2), un hidrolizē glikozīdiskās saites, sākot no polisaharīda (cietes) nereducētā gala. β -amilāze ir atrodama augstāko augu sadīgušos graudos, tā tiek sintezēta attīstoties graudam (Erkkilä and Ahokas, 2001 – cit. pēc Kreis et al., 1987).

β -amilāze ir vienīgais ferments, kas katalizē maltozes veidošanos no cietes un aktīvi darbojas līdz pat 55° temperatūrai. Tās aktivitāte strauji samazinās pie augstākas temperatūras (apkopoja Sjakste et al, 2004). Tomēr augstas temperatūras ir nepieciešamas alus darīšanas procesā, lai želatinizētu cieti, kas, savukārt, ir nepieciešams pilnīgai cietes degradācijai.

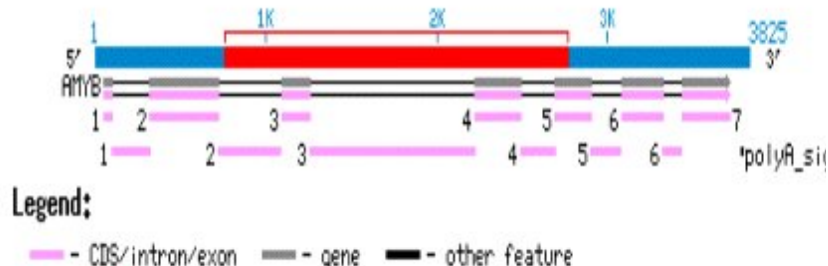


1. attēls. Cieti šķelošie fermenti

Tādējādi, viens no svarīgākajiem miežu graudu kvalitātes rādītājiem ir β -amilāzes termostabilitātes pakāpe (Paris et al., 2002).

Eksistē vismaz trīs β -amilāzi kodējošie gēni. Grauda endospermā atrastais β -amilāzes gēns (*Bmy1*) ir lokalizēts 4H hromosomas garajā plecā (Erkkilä and Ahokas, 2001 – cit. pēc Kreis et al., 1987) (2.attēls). Cits β -amilāzes gēns (*Bmy2*), kuru vēl sauc par “visuresošo”, ir lokalizēts 2H hromosomā un šī gēna produkts ir atrasts lapās un saknēs (Erkkilä and Ahokas, 2001 – cit. pēc Kreis et al. 1987). Par trešā gēna lokalizācijas vietu vēl nav informācijas.

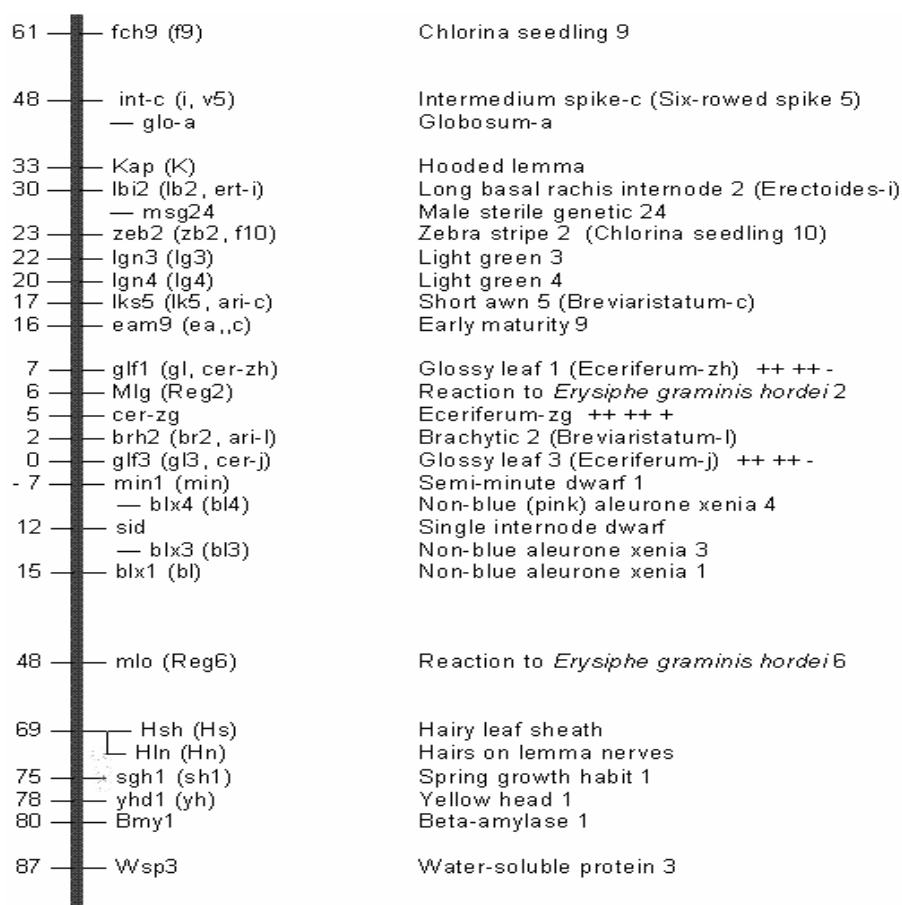
Bmy1 gēns ir 3825 bp garš, tas satur septiņus eksonus un sešus intronus (Erkkilä et al., 1998 – cit. pēc Yoshigi et al., 1995). Šī gēna struktūra ir redzama 3.attēlā.



2. attēls. Miežu *Bmy1* gēna struktūra (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

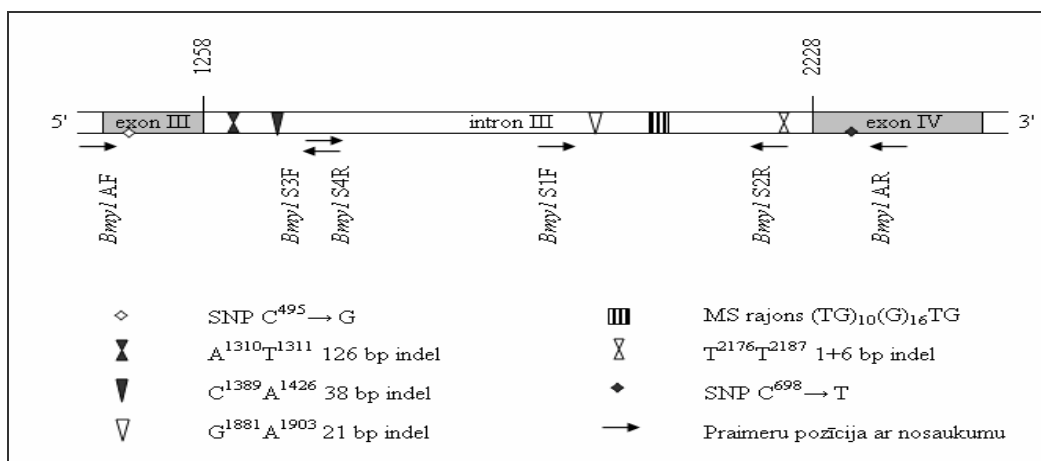
Dabā pastāv četras *Bmy1* gēna alēļu formas (Sd1, Sd2H, Sd2L, Sd3), kurām piemīt dažāda termostabilitātes un cietes hidrolīzes ātruma pakāpe (Sjakste et al, 2004). Šīs atšķirības nosaka iesala veidošanās kvalitāti. Ir veikti vairāki pētījumi par dažādu viena nukleotīda aizvietošanu (SNP) ietekmi uz *Bmy1* formu atšķirīgo termostabilitāti un kinētisko aktivitāti. Ir pierādīta polimorfismu C^{495}/G , C^{698}/T , 6+1 bp insercijas/delēcijas un MITE transpozona loma dažādu šķirņu beta-amilāzes atšķirīgajā termostabilitātē (Sjakste et al, 2004).

Šos *Bmy1* gēna molekulāros marķierus izmanto genotipēšanā. (Paris et al., 2002; Sjakste et al., 2004; Erkilä et al., 1998; Sjakste, Zhuk, 2006). Šie marķieri ir noderīgi gan augstas kvalitātes iesala



3. attēls. Miežu 4.hromosomas shēma

iegūšanai domātajām šķirnēm, gan pretēji, lopbarībai un pārtikai piemērotu līniju atlasei, ar zemu cietes hidrolīzes enzimatisko aktivitāti, bet augstu proteīna saturu. Tādējādi, šī projekta ietvaros bija paredzēts pētīt 3. introna MITE elementu un C⁶⁹⁸/T polimorfismu Latvijas miežu šķirnēs, proti, identificēt alus ražošanai perspektīvas šķirnes bez MITE elementa un ar C⁶⁹⁸ alēli, kurām piemīt augsta termostabilitātes pakāpe, un šķirnes bez MITE elementa un ar T⁶⁹⁸ alēli, kuras ir vidēji noderīgas alus ražošanai un lopbarībai. *Bmy1* gēna fragments ar tajā norādītiem polimorfismiem ir parādīts 4. attēlā.



4. attēls. *Bmy1* gēna trešā introna genotipēšanas eksperimenta shēma.

1.3. α -amilāzes gēns (*Amy32b*)

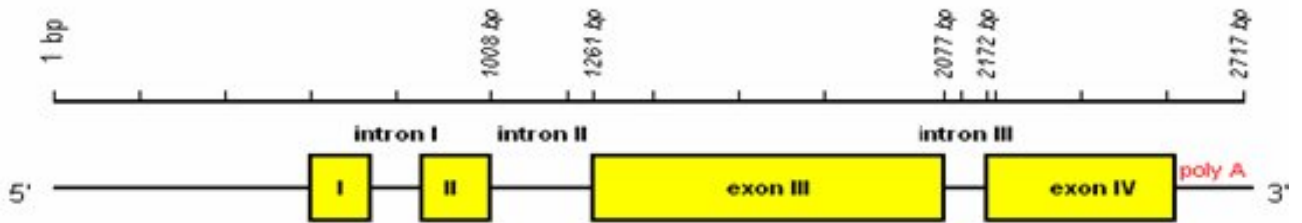
α -amilāzes pilnais nosaukums ir 1,4-D-glikan-glikānhidrolīze (EC 3.2.1.1). Šis ferments pieder hidrolāžu klases glikozidāzēm. α -amilāzes ir Ca^{2+} metālu enzīmi un endoenzīmi. α -amilāze sašķeļ cietes, amilozes un amilopektīna α -(1-4) glikozīdu saites, izņemot, zarošanās vietās un tuvu molekulas galiem. Rezultātā samazinās oriģinālās cietes molekulas garums un pazeminās cietes viskozitāte.

α -amilāze tiek sintezēta dīgšanas laikā un par to atbild augu fitohormons - gibberelīns. Graudos ir sastopamas divu grupu α -amilāzes, kuras atrodas dažādās auga daļās.

Viena no tām ir α -amilāze 1, kura atrodas augļapvalkā grauda agrīnas attīstības laikā. α -amilāze 2 tiek producēta no aleirona laikā, kad notiek agrā dēsta augšana. α -amilāze 2 atrodas cieti saturošā endospermā.

Viens no α -amilāzes kodējošiem gēniem ir *Amy32b* (*XO5166*) gēns (Whittier et al., 1987). *Amy32b* kodē izoenzīmu ar izoelektrisko punktu skābajā zonā un ekspresējas miežu aleirona šūnās. *Amy32b* ekspresiju kontrolē auga hormoni. *Amy32b* gēns ir viens no grupas locekļiem, kas lokalizēti 7H hromosomā un atrodas tuvu *nud* lokusam, kas atbild par kailgraudu fenotipu (Polakova et al. 2005). Kailgraudu miežiem piemīt vairākas pazīmes, kuras tos padara par īpaši ieteicamu veselīga uztura sastāvdaļu (augsts vitamīnu un minerālvielu saturs, labvēlīga olbaltumvielu un tauku attiecība).

Amy32b gēns satur četrus eksonus un trīs intronus (5.attēls).



5. attēls. *Amy32b* gēna struktūra.

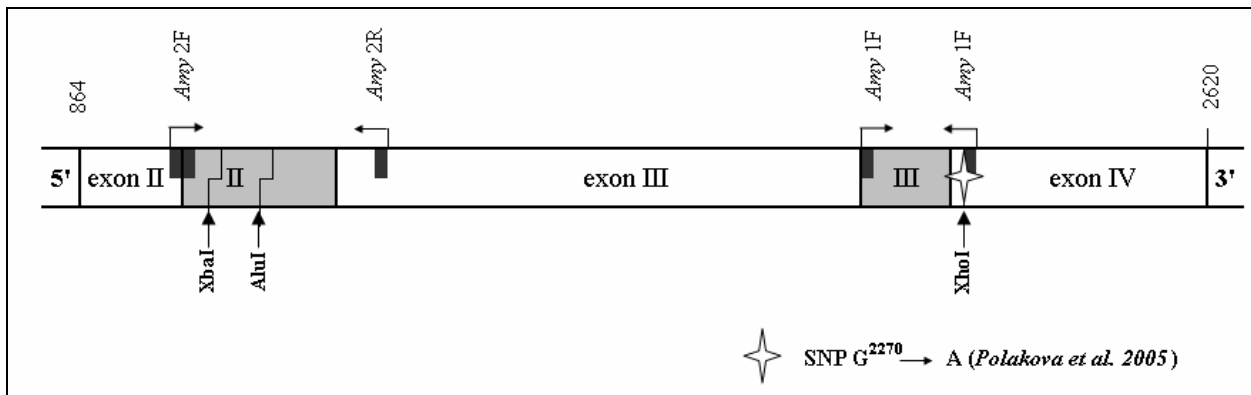
Ziņojumu par *Amy32b* gēna polimorfem lokusiem ir maz. Arī mūsu grupas pētījumi pierādīja, ka šis gēns ir augsti konservatīvs.

Ceturtajā eksonā zināms arī polimorfisms (G^{XhoI}/A), kas noved pie glutamīna aizvietošanas pret lizīnu ($E^{355} \rightarrow K^{355}$) un ietekmē fermenta piesaisti pie cietes (Robert et al., 2003). G alēle atrodama pārsvarā kailgraudu miežu šķirnēs (Polakova et al., 2005). Tas varētu būt izskaidrojams ar *Amy32b* gēna lokalizāciju hromosomā tuvu kailgraudu fenotipu noteicošam lokusam, kas liek domāt par iespējamu saistību starp šiem molekulārajiem marķieriem.

Iepriekšējā LU Bioloģijas institūta Genomikas un bioinformātikas grupas darbā, analizējot *Amy32b* gēnu ar restrikcijas enzīmiem, tika konstatēts rets polimorfisms otrajā intronā. Šis polimorfisms ir SNP ar $G \rightarrow A$ nukleotīdu nomainīgu un ir lokalizēts *XbaI* restrikcijas enzīma atpazīstamajā lokusā. Tāpēc tam tika dots apzīmējums G^{XbaI}/A un tas varētu būt interesants pilnīgākai polimorfisma izpētei.

Šī projekta ietvaros bija pieņemts lēmums noteikt kailgraudu miežu šķirnes, kurās G^{XhoI}/A alēle ir saistīta ar kailgrauda fenotipu, kuras būs noderīgas jaunu šķirņu selekcijai - veselīga uztura produktu ražošanai.

Amy32b gēna genotipēšanas shēma ir redzama 6.attēlā.



6.attēls. *Amy32b* gēna trešā ceturtā eksona genotipēšanas eksperimenta shēma

2. Projekta mērķis un uzdevumi

Projekta mērķis ir izstrādāt selekcijai perspektīvu miežu šķirņu atlasē stratēģiju, izmantojot ogļhidrātu metabolisma fermentu gēnu polimorfu lokusu izpēti. Likt pamatus molekulārai selekcijai Latvijā.

Uzdevumi:

1. Veikt pētījuma objekta izvēli no miežu selekcijas materiāla (Valsts Stendes GSI un Valsts Priekuļu LSI), atšķirīgām pēc dažādām fenotipiskām (plēkšņainie, kailgraudu), kvalitātes (cietes, proteīna saturs u.c.) un imunitāti noteicošām pazīmēm, pavairot un dot tiem saimnieciski-bioloģisko īpašību raksturojumu.
2. Izvērtēt izvēlēto miežu selekcijas materiāla fermentatīvās aktivitātes atkarībā no miežu fenotipiskajām un saimnieciski svarīgajām pazīmēm, grupas: kailgraudu/plēkšņainās graudu šķirnes, pēc proteīna saturs graudos, rezistences pret slimībām.
3. Veikt 200 (no katra institūta 100) miežu šķirņu un līniju pārbaudi, izmantojot MITE transpozona konstruētu marķieri, kas atrodas beta-amilāzes gēna *Bmy1* 3. intronā un ir saistīts ar graudu piemērotību alus ražošanai.
4. Novērtēt frekvences C⁶⁹⁸ alēles sastopamību, kas nosaka beta-amilāzes katalītisko spēju uzlabošanās, izraisot vienas aminoskābes nomaiņu proteīnā.
5. Novērtēt viena nukleotīda nomaiņu alēļu frekvenču alfa-amilāzes gēna *Amy32b* divos lokusos (G^{XhoI}/A; G^{XbaI}/A).
6. Veikt genotipēšanas rezultātu analīzi pēc sekojošiem kritērijiem:
 - Ģenētiskās daudzveidības novērtējums pēc izpētītiem polimorfiem lokusiem, alēļu frekvencēm, heterozigotātes indeksa, konstruētiem haplotīpiem.
 - Ģenētiskās daudzveidības novērtēšana kailgraudu un plēkšņainajiem miežiem pēc proteīna satura graudos, pēc piemērotības alus un lopbarības ražošanai, pēc rezistences pret slimībām, pēc divkanšu/daudzkanšu vārpa tipa.
7. Veikt apkopojosu datu un saistību analīzi
8. Informēt sabiedrību, noorganizējot semināru un sagatavojot publikāciju.

3. Materiāli un metodes

3.1. Lauku izmēģinājumu iekārtošana

Valsts Priekuļu laukaugu selekcijas institūts

Valsts Priekuļu laukaugu selekcijas institūtā veikta projekta tēmai atbilstoša selekcijas materiāla atlasīšana, kura izveidē izmantoti dažādiem izmantošanas veidiem piemēroti miežu genotipi. Izvēlētas 100 līnijas no dažādām selekcijas audzētavām un ar dažādu viendabības līmeni, sākot no F4 paaudzes līdz pat F11 paaudzei, 4 līnijas no tām ir dubultotie haploīdi. Molekulāro marķieru analīzes veiktas arī 2007. gadā valsts šķirņu pārbaudē nodotajai šķirnei 'Rubiola', kas piemērota bioloģiskajai lauksaimniecībai. 53 no izvēlētajām līnijām ir Priekuļos izveidoti kailgraudu mieži, kas varētu būt īpaši piemēroti lopbarības vai arī pārtikas vajadzībām. 24 līnijas ir radušās no krustojuma ar landrasi 'Latvijas vietējie', kam pēc iepriekšējiem pētījumiem ir reti sastopams selekcijas gaitā izzudis alus kvalitāti nodrošinošs beta-amilāzes termostabilitāti nosakošā gēna haplotips.

Veikta lauka izmēģinājumu iekārtošana un kopšana atbilstoši institūtā apstiprinātajai selekcijas metodikai. Pētāmās līnijas iesētas dažādās selekcijas audzētavās atkarībā no to paaudzes un pieejamā sēklas materiāla. Konkursa pārbaudes audzētava: 6 atkārtējumi, lauciņu lielums 23 m², Iepriekšējā šķirņu pārbaude: 4 atkārtējumi, 12.3 m² lauciņi, kontroles audzētava: 2 atkārtējumi, 6.4 m² lauciņi, selekcijas 2. audzētava: bez atkārtējumiem, 6.4 m² lauciņi, selekcijas 1. audzētava: 1-5 1 m garas rindiņas. Pamatmēslojumā dots N 81, P 40.5, K 67.5, nezāļu apkarošana veikta ar herbicīdiem Granstar Premia+Primus, pret laputīm lietots insekticīds Sumi-alfa. Sēja veikta 28. aprīlī. Cerošanas fāzē veikta augu paraugu noņemšana DNS izdalīšanai visām 100 izvēlētajām miežu līnijām. 42 līnijām 5 augi, no kuriem noņemti paraugi, tika atzīmēti un novākti individuāli; iespējamās līniju skaldīšanās gadījumā tālākam darbam būs iespējams atlasīt tikai augus ar vērtīgajiem kvalitāti nosakošajiem gēniem. Veģetācijas perioda laikā novērtēta inficēšanās ar slimībām, vārpošanas un pilngatavības iestāšanās datumi, veldrēšanās. Ražas novākšana veikta pēc gatavības fāzes iestāšanās. Veikta graudu kaltēšana, tīrīšana, boķēšana, ražas svēršana, noņemti paraugi kvalitātes analīžu veikšanai un nogādāti laboratorijās.

Valsts Stendes Graudaugu selekcijas institūts

Valsts Stendes graudaugu selekcijas institūtā veikta projekta tēmai atbilstoša selekcijas materiāla atlasīšana. Izvēlētas kopā 36 līnijas no dažādām selekcijas audzētavām un ar dažādu homogenitātes pakāpi, sākot no F4 paaudzes. Molekulāro marķieru analīzes veiktas arī Stendes jaunākajai miežu šķirnei 'Kristaps' un dubultoto haploīdu līnija 'G-131'. Pavisam analīzēm ievākti 290 augu paraugi (20 līnijām 10 augi, 16 līnijām 5 augi).

Veikta lauka izmēģinājumu iekārtošana un kopšana atbilstoši institūtā apstiprinātajai selekcijas metodikai. Pētāmās līnijas iesētas dažādās selekcijas audzētavās atkarībā no to paaudzes un pieejamā sēklas materiāla. Konkursa pārbaudes audzētava: 6 atkārtējumi, lauciņu lielums 10 m², Iepriekšējā šķirņu pārbaude: 4 atkārtējumi, 10 m² lauciņi, kontroles audzētava: 2 atkārtējumi, 10 m²; selekcijas 1. gada audzētava (F4): bez atkārtējumiem, 1 m gara rindiņa. Pamatmēslojumā dots N 85, P 43, K 43, nezāļu apkarošana veikta ar herbicīdiem Granstar Premia+Primus. Sēja veikta 19-23. aprīlim. Cerošanas fāzē veikta augu paraugu noņemšana DNS izdalīšanai visām izvēlētajām miežu līnijām.

Veģetācijas perioda laikā novērtēta inficēšanās ar slimībām, vārpošanas un pilngatavības iestāšanās datumi, veldrēšanās. Ražas novākšana veikta pēc gatavības fāzes iestāšanās. Veikta

graudu kaltēšana, tīrīšana, ražas svēršana. Augu morfoloģisko pazīmju novērtēšanai veikta paraugkūļu analīze. Noteikta graudu kvalitāte – 1000 graudu masa, tilpummasa, proteīna saturs, cietes saturs, β -glikāns, ekstraktvielas.

3.2. Miežu šķirņu un līniju pārbaude izmantojot MITE transpozona konstruētu marķieri, kas atrodās beta-amilāzes gēna *Bmy1* 3. intronā un frekvences C⁶⁹⁸ alēles sastopamības novērtējums

Latvijas Universitātes Bioloģijas institūts, Genomikas un bioinformātikas grupa

Izmantotā aparatūra:

Centrifūga 5415 D (Eppendorf, Vācija), centrifūga Capsule HF-120 (Tomy Seiko, Japāna), maisītājs Bio Vortex VI (Biosan, Latvija), PCR aparāts jeb amplifikators Eppendorf[®] Mastercycler[®] gradient (Eppendorf, Vācija), PCR aparāts jeb amplifikators GeneAmp PCR System 9600 (Perkin Elmer, ASV), pipetes ar tilpumu 10 μ l, 20 μ l, 200 μ l un 1000 μ l (Eppendorf, Vācija).

DNS paraugu ievākšana

DNS izdalīja no 200 miežu augu lapām no dažādām miežu šķirnēm un līnijām. Šos DNS paraugu krājuma šķīdumus uzglabā pie -20 °C Latvijas Universitātes Bioloģijas institūta Genomikas un bioinformātikas grupas laboratorijā.

DNS paraugu dokumentēšana un marķēšana

Katram DNS paraugam piešķir kodu. Ar burtiem apzīmējam vietu, no kuras bija ievākts paraugs, bet skaitlis apzīmē kārtas numuru. Piemēram, Pr12 (Priekuļu LSI), St3 (Stendes GSI). Tādā veidā apzīmēja ependorfus ar krājumu šķīdumiem un darba šķīdumiem. Krājuma šķīdumiem izmantoja dzeltenas uzlīmītes, bet darba šķīdumiem – baltas, un ar papildus uzrakstu „WC”, kas nozīmē „work concentration” jeb darba koncentrācija.

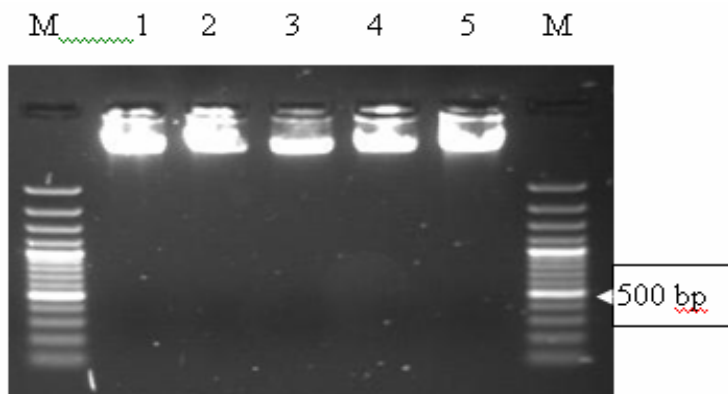
Dokumentācijā tabulas veidā apkopojām datus par paraugu: tā numuru, uzglabāto daudzumu, DNS darba šķīduma un krājuma šķīduma koncentrāciju. Atsevišķi apkopojām DNS krājuma un darba koncentrācijas šķīdumu gēla elektroforēzes attēlos ar aprakstiem.

DNS darba šķīduma izveidošana

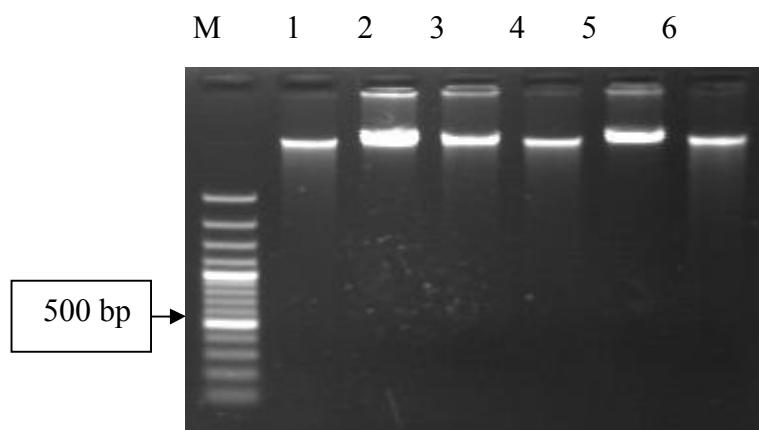
Darba šķīdumus pagatavoja, izmantojot konkrēta DNS parauga krājuma šķīduma elektroforēzes agarozes gēlā attēlu (skat. 7. attēlu), kurā tika salīdzināta paraugu fluorescences intensitāte ar marķiera svītras fluorescences intensitāti, kas atbilst 500 bp garam DNS un fluoriscē kā 16 ng, 32 ng vai 66 ng DNS, atkarībā no šķaidījuma.

Apskatot attēlu, novērtēja, cik reizes DNS parauga 2 μ l svītras fluorescences intensitāte atšķiras no marķiera svītras fluorescences intensitātes, kas atbilst 500 bp DNS. Atkarībā no šīs attiecības nelielu tilpumu (1 – 10 μ l) DNS no krājumu šķīdumiem atšķaidīja 25-500 reizes ar sterilo dejonizēto ūdeni (līdz 500 μ l tilpumam).

Pēc šķaidījuma izveidošanas agarozes gēlā tika veiktas atkārtotas elektroforēzes ar 2 μ l atšķaidītā DNS, lai noteiktu, vai nav vajadzīga papildus šķaidīšana (skat. 8.attēlu). DNS koncentrācija darba šķīdumā ir ap 10-50 ng/ μ l.



7. attēls. DNS krājuma koncentrācijas un kvalitātes noteikšana ar elektroforēzi agarozes gēlā. M - marķiera GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder Plus (Fermentas, Lietuva) šķaidījums, kurā 500 bp atbilstošā līnijas fluorescences atbilst 16 ng DNS; 1. – 5. DNS krājuma paraugi.



8. attēls. DNS darba koncentrācijas noteikšanas ar elektroforēzi agarozes gēlā. M - marķiera GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder Plus (Fermentas, Lietuva) šķaidījums, kura 500 bp atbilstošā līnija spīd ar intensitāti kā 16 ng DNS; 1. – 6. DNS krājuma paraugi.

Praimeru izstrādāšana, pasūtīšana

Praimeru izveidošanai izmantojām internetā pieejamo programmu Primer3 (http://fokker.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi), ar kuras palīdzību var izstrādāt piemērotākos oligonukleotīdus konkrētam DNS rajonam pēc vairākiem kritērijiem: temperatūras, PCR amplificēta fragmentu garuma, nukleotīdu GC sastāva.

Atkarībā no genotipēšanas veida, ir jāizstrādā praimeru pāris, kas dotu iespēju veikt DNS rajona amplifikāciju, vai specifiskus amplificētajā rajonā esošus praimerus, kurus var izmantot sekvencēšanai. Tiešajam praimerim, kas tiek izmantots DNS pavairošanai pirms fragmenta garuma noteikšanas ar ABI Prims® 3100 Genetic Analyzer (Lielbritānija), ir jābūt iezīmētam ar fluorescējošo iezīmi.

Polimerāzes ķēdes reakcijā (PCR; polymerase chain reaction) izmantojamo praimeru sekvencei ir jābūt unikālai, lai tie nepiesaistītos citiem DNS rajoniem, tādējādi, neveidotu nespecifiskus fragmentus. Praimeru sekvences unikalitāti noteicām, salīdzinot to ar miežu genoma sekvencēm, izmantojot NCBI Blast programmu (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>).

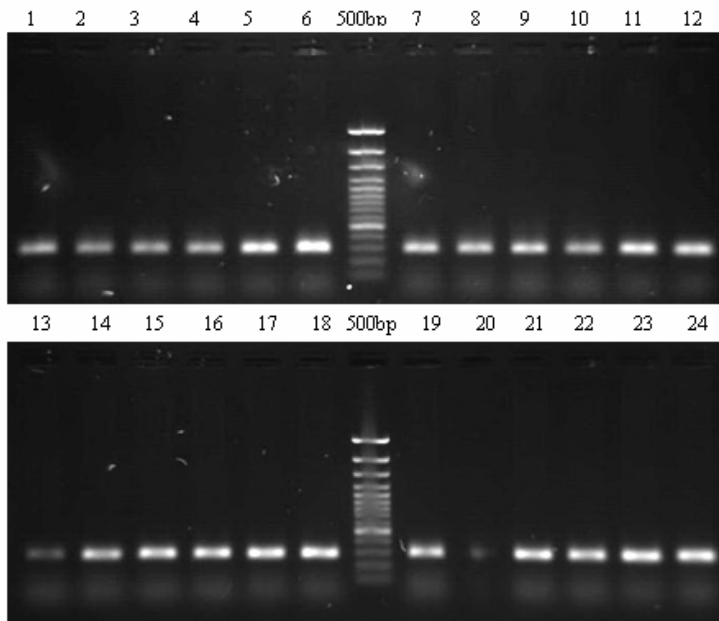
Pēc praimeru izstrādes un pārbaudes, tos pasūtījām firmā Metabion International AG (Lena-Christ-Strasse 44/I, D-82152, Vācija).

Praimeru optimizācija

Lai ar praimeriem varētu kvalitatīvi strādāt, ir jāpiemeklē katra konkrēta praimera pāra polimerāzes ķēdes reakcijas apstākļus. Šo procesu sauc par praimeru optimizāciju. Ir jāpiemeklē atbilstoša praimeru piesaistes jeb hibridizācijas temperatūra (T_a annealing temperature), variē no 54 °C līdz 65 °C), $MgCl_2$ koncentrācija (no 1.0 mM līdz 4 mM), PCR ciklu skaits. Reizēm ir nepieciešams regulēt arī tiešā un atgriezeniskā praimera koncentrācijas attiecību.

Optimizāciju ērti ir veikt specifiskā PCR aparātā, kurš vienlaicīgi spēj veikt amplifikāciju pie dažādām temperatūrām. Latvijas Universitātes Bioloģijas institūtā Genomikas un bioinformātikas laboratorijā šāda īpašība ir amplifikatoram Eppendorf® Mastercycler® gradient (Eppendorf, Vācija). (9. attēls)

Optimizācija pie $T_a=55 \pm 4$ °C un $MgCl_2$ ir 1,0 mM; 1,5 mM; 2,0 mM.



Secinājumi:

Nr.p.k	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
T_m , °C	52,3						53,2					
$MgCl_2$, mM	1,0		1,5		2,0		1,0		1,5		2,0	
Paraugs	C8M	CB4M	C8M	CB4M	C8M	CB4M	C8M	CB4M	C8M	CB4M	C8M	CB4M
~284 bp	+	+	+	+	++	++	+	+	+	+	++	++
Nr.p.k	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
T_m , °C	54,2						55,3					
$MgCl_2$, mM	1,0		1,5		2,0		1,0		1,5		2,0	
Paraugs	C8M	CB4M	C8M	CB4M	C8M	CB4M	C8M	CB4M	C8M	CB4M	C8M	CB4M
~284 bp	+	++	++	++	++	++	++	-	++	++	++	++

9. attēls. Elektroforēzes agarozes gēlā attēls pēc praimeru pāra PCR apstākļu optimizācijas pēc T_a un $MgCl_2$. Vidū - marķiera GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder Plus (Fermentas, Lietuva) šķaidījums, kura 500 bp a līnijas fluorescence atbilst 16 ng DNS; C8M un CB4M – DNS paraugi optimizācijai; „+” - notikusi amplifikācija; „++” - notikusi ļoti laba amplifikācija.

Pēc šāda PCR veikšanas ir jāizvēlas tie apstākļi (T_a , $MgCl_2$ koncentrācija), kas dod iespēju iegūt optimālu DNS fragmenta daudzumu, bet vienlaicīgi neveidojas nespecifiski produkti, nepaliek daudz neizlietotu reaģentu (redzami kā papildus līnija zem marķiera zemākās atzīmes). Kad šādi apstākļi ir atrasti, var veikt PCR analizējamajiem paraugiem.

DNS fragmenta pavairošana ar polimerāzes ķēdes reakciju (PCR)

Ar elektroforēzes agarozes gēlā palīdzību un parauga šķaidīšanu ieguvām DNS koncentrāciju, kas ir piemērota turpmākam molekulārās analīzes darbam. Lai veiktu molekulāro analīzi kādam DNS rajonam, ir jāveic šī lokusa pavairošana jeb amplifikācija, ko veic ar PCR

palīdzību.

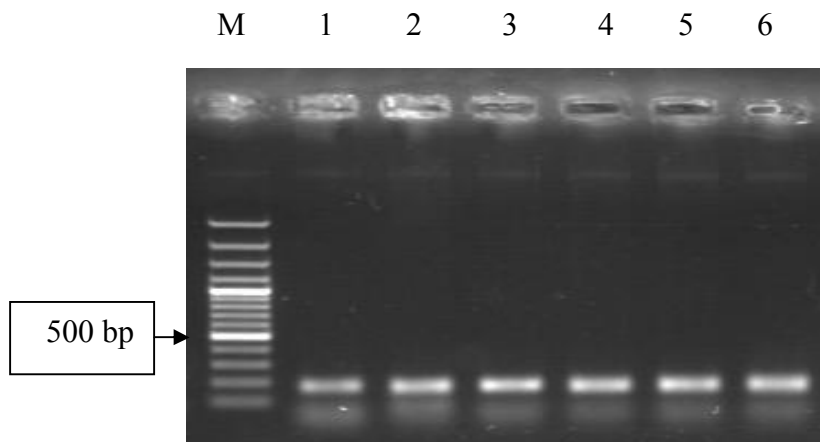
PCR sastāv no vairākiem posmiem, kuros genomiskā dubultspirāles DNS vispirms tiek attīta, iegūstot lineāru pavedienu (sākuma denaturācija pie 94 °C), ko pēc tam atdala atsevišķos pavedienos (denaturācija pie 94 °C). Pie atsevišķiem DNS pavedieniem piesaistās oligonukleotīdi jeb praimeru (hibridizācija pie no 54 °C līdz 65 °C), no kuriem ar enzīma polimerāzes palīdzību sintēzējas jauns DNS pavediens (sintēze pie 72 °C). Denaturācija, hibridizācija un sintēze atkārtojas 30 līdz 40 reizes, tādējādi iegūstot viena DNS rajona izteiktu pārsvaru PCR produkta maisījumā. Pēc pēdējas sintēzes notiek beigu pagarināšanās, kurā Taq polimerāze piesaista papildus A nukleotīdus pie iegūtā fragmentu 3' galiem.

Polimerāzes ķēdes reakcijā DNS pavairošanā izmantojām 10x PCR buferi (gala koncentrācija 1x) (Fermentas, Lietuva), 25 mM MgCl₂ šķīdumu (beigu koncentrācija 1 – 2.5 mM) (Fermentas, Lietuva), 5u/μl Taq DNA polimerāzi (Fermentas, Lietuva), 10 mM dNTP (gala koncentrācija 200 μM) (Fermentas, Lietuva) un amplifikācijas praimerus (10 pM) (Metabion International AG, Vācija). Kopīgais tilpums maisījumam, kurā notiek PCR process, ir no 20 līdz 30 μl.

PCR programma:

5 minūtes pie 94 °C; 35 cikli 30 sekundēs pie 94 °C, 30 sekundes pie 54 - 65 °C, 30 sekundes pie 72 °C; 10 minūtes pie 72 °C; 4 °C.

Polimerāzes ķēdes reakcijas rezultātā ieguvām noteikta garuma fragmentus, piemērs redzams 10. attēlā.



10. attēls. Elektroforēze agarozes gēlā polimerāzes ķēdes reakcijā sintezētajiem DNS fragmentiem. M - marķiera GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder Plus (Fermentas, Lietuva) šķaidījums, kura 500 bp līnijas fluorescence atbilst 16 ng DNS; 1. – 6. DNS fragmenti.

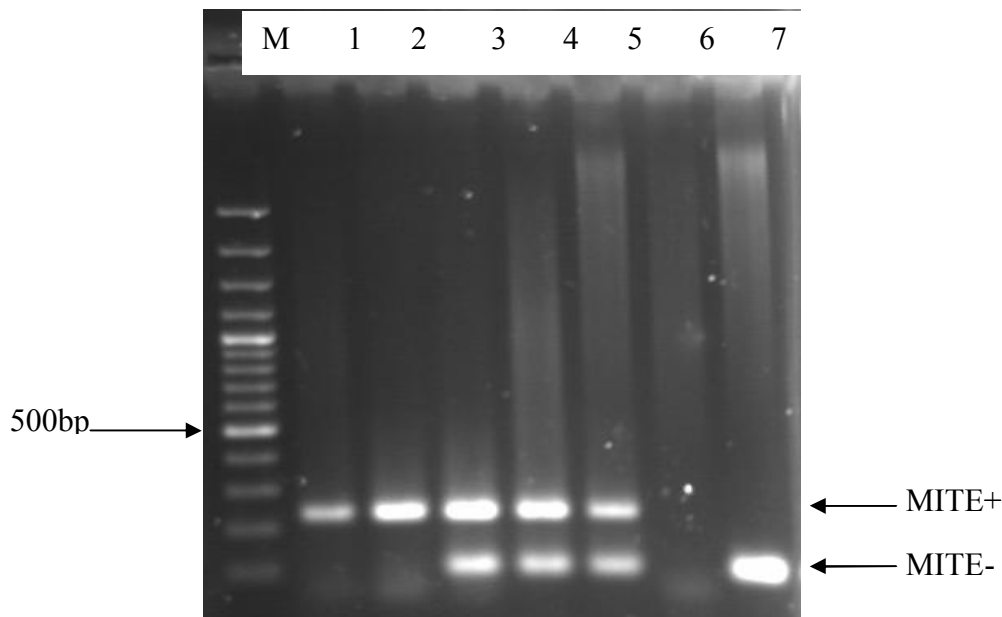
***Bmy1* gēna MITE elementa genotipēšana**

Amplificētā DNS fragmenta garuma noteikšana agarozes gēlā

Pēc PCR veikšanas ar iegūto DNS fragmentu var veikt vairākas manipulācijas. Tomēr vienmēr ir jāveic elektroforēze, lai noteiktu, vai amplifikācija ir notikusi veiksmīgi.

Ar elektroforēzi agarozes gēlā var noteikt ne tikai produkta esamību, bet arī iegūtā DNS fragmenta garumu. Lai pārbaudītu, vai dotās miežu šķirnes *Bmy1* gēns satur vai nesatur MITE elementu, iegūto PCR produktu garumus noteicām izmantojot 1,5% agarozes gēlu, jo šādā gēlā fragmenti atdalās viens no otra pietiekami izteikti (skat. 11. attēlu).

Tomēr agarozes gēlā ne vienmēr var droši noteikt fragmenta garumu, tāpēc ir jāizmanto precīzākas metodes.



Nr attēla	Paraugs	MITE element
1	St32.1	+
2	St33.3	+
3	St32.2	+/- heterogēns
4	St32.4	+/- heterogēns
5	St34.5	+/- heterogēns
6	Negatīvā kontrole (bez parauga)	
7	Kontrole ar MITE "-"	-

11. attēls. Elektroforēze 1,5 % agarozes gēlā polimerāzes ķēdes reakcijā sintezētajam *BmyI* gēna fragmentam, kas satur MITE elementu. M - marķiera GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder Plus (Fermentas, Lietuva); 1. – 7. DNS fragmenti.

Amplificētā DNS fragmenta garuma noteikšana ar ABI Prims® 3100 Genetic Analyzer

Lai noteiktu amplificētā fragmenta precīzu garumu, ir jāizmanto precīzāka metode – fragmenta garuma noteikšana ar ABI Prims® 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, ASV). Izmantojot šo metodi PCR ir jāveic ar praimeru pāri, kurā tiešais praimers ir iezīmēts ar fluorescējošu iezīmi (skat. 3.1.tabula).

3.1.tabula

Praimeri *BmyI* gēna MITE elementa genotipēšanai

Nosaukums	Modifikācija	Praimera sekvence	Sagaidāmais fragments, bp
Bamy126_38F	6-FAM	CGGAGAATTCATCGTGAGTG	229
Bamy126R	—	CATCACATATTCACATGTTGAGTTACA	

Ar šādu praimeru pāri iegūtais PCR produkts arī ir marķēts. Tādejādi, šādam fragmentam, analizējot ar lāzera spektrofotometru, var noteikt precīzu bāzu pāru skaitu.

Metodē tika izmantots reaģentu Tamra 500 HD (Applied Biosystems, ASV), HiDi (Applied Biosystems, ASV) maisījums ar gala tilpumu 20.3 µl, kam tiek pievienots atšķaidīts 1 µl PCR produkts. PCR produkts pirms pievienošanas maisījumam ir jāatšķaida, lai varētu veikt reakcijas analīzi. Vienā analīzē var veikt vairāku PCR produktu analīzi, vienīgi šiem fragmentiem ir jābūt marķētiem ar dažādām iezīmēm vai arī jābūt dažādu garumu, ja iezīmes ir vienādas.

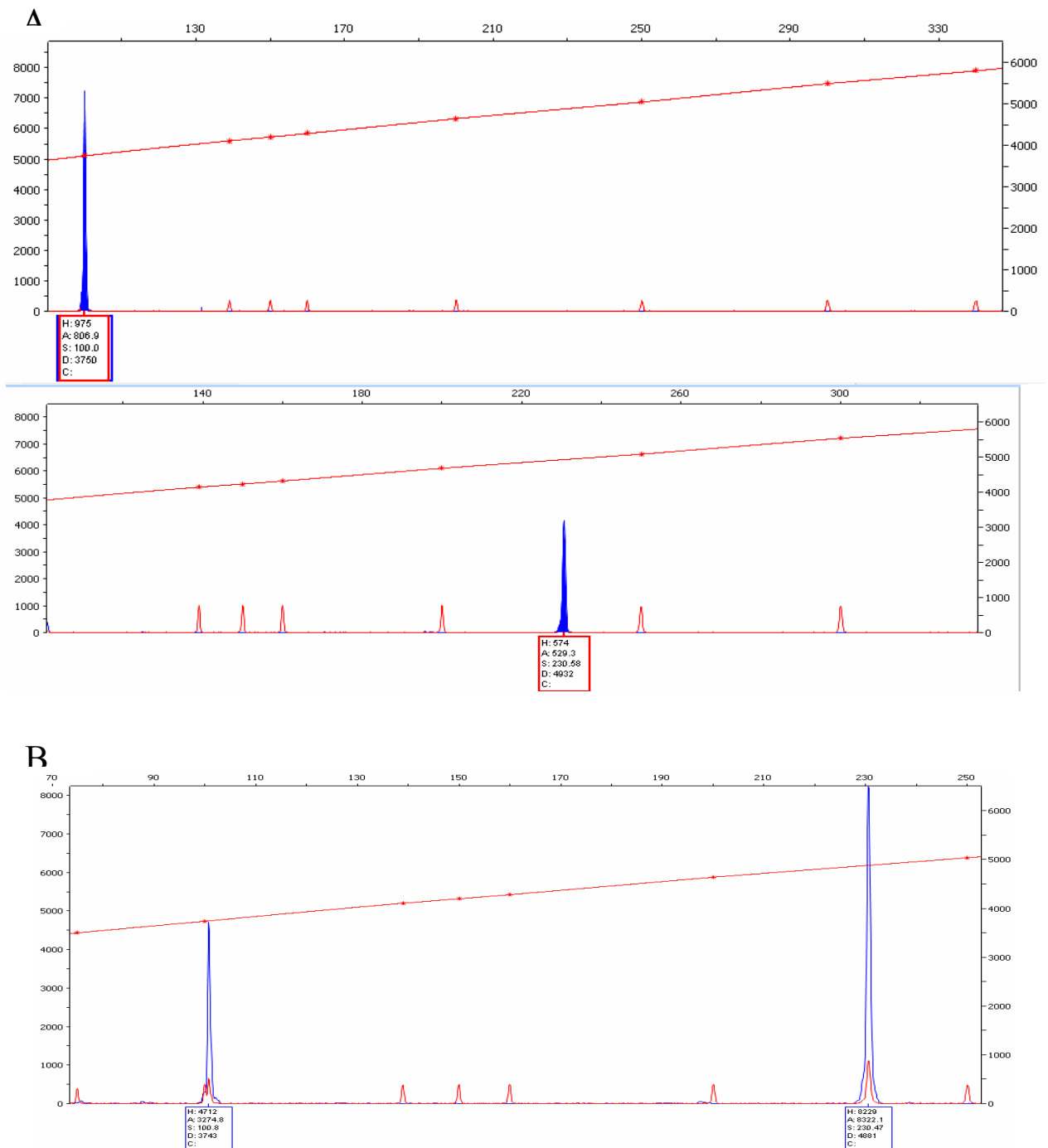
Fragmenta garuma noteikšanas programma:

Denaturē 5 minūtes pie 95 °C; 5 minūtes uz ledus; tad sekvencē, izmantojot ABI Prims® 3100 Genetic Analyzer, Lielbritānija.

Rezultātu apstrādā ar datorprogrammu ABI Prims® Genotyper™ Software Version 3.7 (Applied Biosystems, ASV) vai Peak Scanner Version 1.0 Software (Applied Biosystems, ASV) ar kuras palīdzību var noteikt amplificētā un nosekvencētā fragmenta garumu.

Datorprogrammas radītajā attēlā ir redzami „pīķi”, kuri ļauj noteikt alēļu garumu. Ja ir divi dažādu garuma maksimumi, tas nozīmē, ka pēc šī lokusa novērojama heterozigotāte, bet ja ir tikai viens izteikts „pīķis”, tad ir homozigota.

12. attēlā ir redzama datu analīze ar Peak Scanner Version 1.0 Software (Applied Biosystems, ASV) *bmy1* gēna MITE elementa lokusam.



12. attēls. PCR fragmenta garuma noteikšanas apstrādes rezultāts ar Peak Scanner Version 1.0 Software (Applied Biosystems, ASV). A – homozigots fragments ar un bez MITE elementa; B – heterozigots fragments.

***Bmy1* gēna SNP C⁶⁹⁸→T genotipēšana**

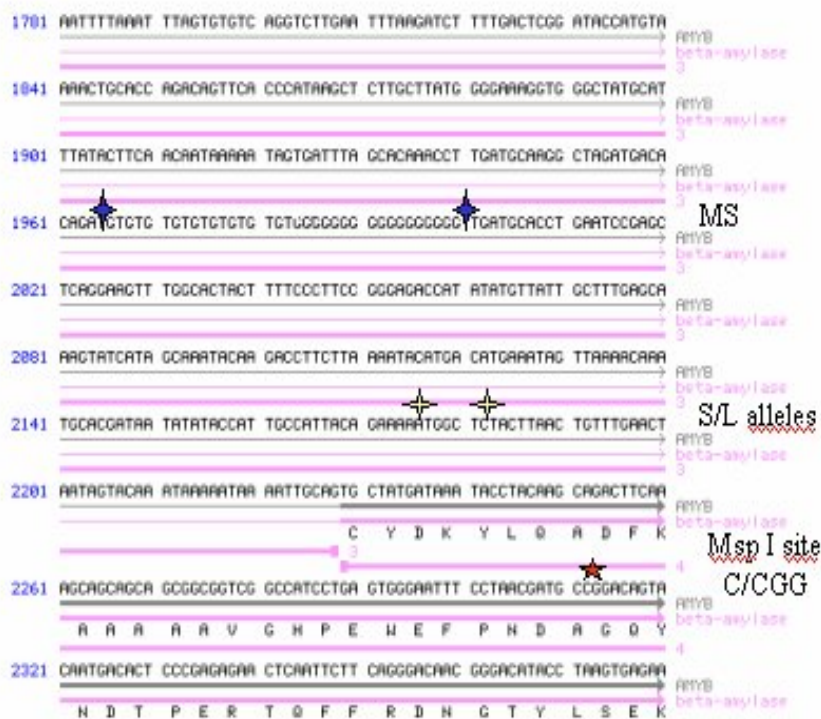
Amplificētā DNS fragmenta restrikcijas polimorfisma analīze (CAPS - cleaved amplified polymorphic sequences)

Bmy1 gēna 4.eksonā lokalizētā SNP C⁶⁹⁸→T alēļu noteikšanai var izmantot vairākas metodes: nosakot tieši paša SNP alēli vai arī nosakot 3.intronā lokalizētā lokusa 1+6 bp insercija/delēcija genotipu, jo šie divi polimorfismi ir saistīti (Sjakste and Röder, 2004). *Bmy1*

gēna izpētes polimorfismi attēloti 13. attēlā.

SNP C⁶⁹⁸→T noteikšanai izmantojam DNS fragmenta restrikcijas polimorfisma analīzi (CAPS metodi).

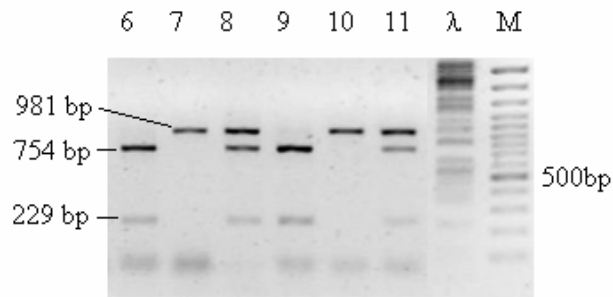
Region of 3'intron – 4 exon



13. attēls. *Bmy1* gēna trešā introna – ceturtā eksona fragmenta sekvenču shēma. MS - MITE elements, S/L alleles - 1+6 bp insercija/delēcija, MspI site C/CGG - restriktāzes MspI griezumvieta, kurā lokalizējas SNP C⁶⁹⁸→T.

Šīs metodes pamatā ir PCR produkta “griešana” ar restrikcijas enzīmu. Tātad vispirms tiek veikta PCR reakcija ar praimeru pāri, kas nav iezīmēts un kas nodrošina SNP rajona amplifikāciju. Pēc PCR pavairoto DNS fragmentu griež ar specifisku enzīmu, kas atpazīst DNS sekvenci, kurā atrodas interesējošais polimorfisms.

CAPS metodes pamatā ir princips, ka pie vienas SNP alēles DNS fragmenta šķelšana notiek, bet pie otras – nē, bet, ja pēc šī lokusa ir heterozigota, tad daļa PCR produkta tiek sašķelta, bet daļa – nē. Kā restrikcijas enzīma darbības kontroli vienmēr izmanto lambda fāga DNS vai cita fāga DNS, ko restriktāze šķeļ noteiktas reizes (14. attēls).



Secinājumi:

Nr.p.k.	6	7	8	9	10	11
981 bp	-	+	+	-	+	+
754 bp	+	-	+	+	-	+
229bp	+	-	+	+	-	+

14. attēls. Elektroforēze 1% agarozes gēlā PCR produktam pēc apstrādes ar restrikcijas enzīmu. M - marķiera GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder Plus (Fermentas, Lietuva); 6. – 11. DNS paraugi; λ - lambda fāga DNS; 6. un 9. paraugā ir homozigota pēc šķelošās alēles, 7. un 10. paraugā ir homozigota pēc nešķelošās alēles, bet 8. un 11. paraugā ir redzama heterozigoti paraugi.

CAPS metodē var izmantot dažādus reakcijas buferus, jo katram enzīmam ir noteikta enzīma aktivitāte dažādos buferos. Kā arī katram restrikcijas enzīmam ir noteikta temperatūra un darbības ilgums, kurā tā darbība ir optimāla, tas ir, DNS produkts tiek sašķelts pilnībā.

Reakcijai ar restrikcijas enzīmu izmantojām attiecīgo 10x reakcijas buferi, specifisku restriktāzi (MBI Fermentas, Lietuva). Kopīgais tilpums maisījumam, kurā notiek reakcija, ir no 20 līdz 30 μl.

Strādājot ar CAPS metodi, elektroforēzi agarozes gēlā veica divreiz: pēc restriķējamā produkta amplifikācijas, lai noteiktu amplificētā fragmenta koncentrāciju, un pēc fragmenta apstrādes ar restrikcijas enzīmu, lai noteiktu genotipu.

Pirmajā elektroforēzē izmantojot GeneRuler™ 100bp DNA Ladder Plus (Fermentas, Lietuva) marķieri, noteicām PCR produkta koncentrāciju, lai pēc tam veiktajā restrikcijā varētu izmantot optimālo produkta daudzumu, kas ir 1 vienība enzīma uz 1μg DNS amplificētā produkta.

Otra elektroforēze tika veikta, lai noteiktu DNS parauga genotipu jeb pēc PCR produkta apstrādāšanas ar restrikcijas enzīmu.

Bmy1 gēna 4.eksona SNP genotipēšanā var izmantot *MspI* restriktāzi (Fermentas, Lietuva), kas atpazīst sekvenci C↓CGG. SNP ir novērojams restrikcijas enzīma atpazīstamā lokusā, kur notiek citozīna (C) nomaiņa pret timīnu (T). *MspI* restriktāze 100% darbojas buferī Tango™ (sastāvs: 10 mM Tris-HCl (pH 7.9 pie 37°), 10 mM Mg(CH₃COO)₂, 100 mM K CH₃COO, 0,1 mg/ml BSA - liellopu seruma albumīns) (Fermentas, Lietuva).

Amplificētā DNS fragmenta garuma noteikšana ar ABI Prism® 3100 Genetic Analyzer

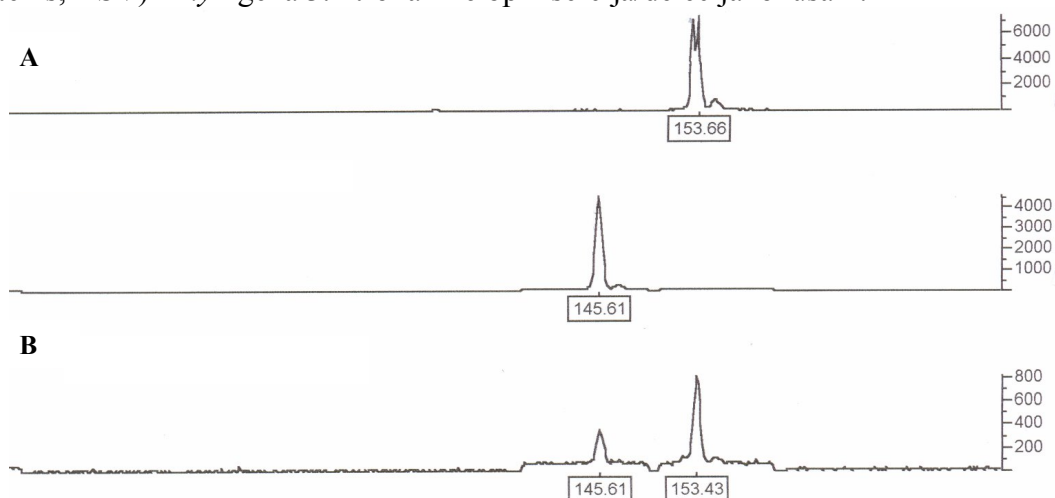
Tomēr *Bmy1* gēna 4.eksona SNP alēlēs ir vieglāk noteikt nosakot saistītā lokusa 1+6 bp insercija/delēcija variantu. Sakarā ar to, ka pie insercijas alēles DNS fragments ir par 7 bāzu pāriem lielāks, tad precīzi to var noteikt tikai izmantojot fragmenta garuma noteikšana ar ABI Prism® 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, ASV).

Metodes apraksts ir dots iepriekšējā sadaļā, vienīgā atšķirība ir PCR praimeros. Šajā gadījumā izmantotie praimeri ir parādīti 3.2. tabulā.

Praimeri *Bmy1* gēna 3. introna polimorfisma 1+6 bp insercija/delēcija genotipēšanai

Nosaukums	Modifikācija	Praimera sekvence	Sagaidāmais fragments, bp
Bamy1_6F	HEX	TGAAATAGTTAAAACAAATGCACGA	157
Bamy1_6R	—	GCTGCTGCTGCTTTGAAGTC	

15. attēlā ir redzama datu analīze ar Peak Scanner Version 1.0 Software (Applied Biosystems, ASV) *Bmy1* gēna 3.introna 1+6 bp insercija/delēcija lokusam.



15. attēls. DNS fragmenta ar vai bez 1+6 bp insercija/delēcija garuma noteikšanas apstrādes rezultāts ar Peak Scanner Version 1.0 Software (Applied Biosystems, ASV). A – 2 attēli ar dažādiem homozigotiskiem fragmentiem, t.i. abas DNS alēles ir vienādas – ir viens pīķis; B – heterozigots fragments, abas DNS alēles ir dažādas – ir divi pīķi.

***Amy32b* gēna divu lokusu (G^{XhoI}/A ; G^{XbaI}/A) genotipēšana ar CAPS metodi**

Lai analizētu *Amy32b* gēna viena nukleotīda polimorfismus jeb SNP, izvēlējamies CAPS metodi (aprakstu sk. augstāk), jo šo SNP rajonos ir sastopami restrikcijas enzīmu šķelšanas vietas. 3.3. tabulā apkopoti dati par izpētes DNS rajona amplifikācijas praimeriem.

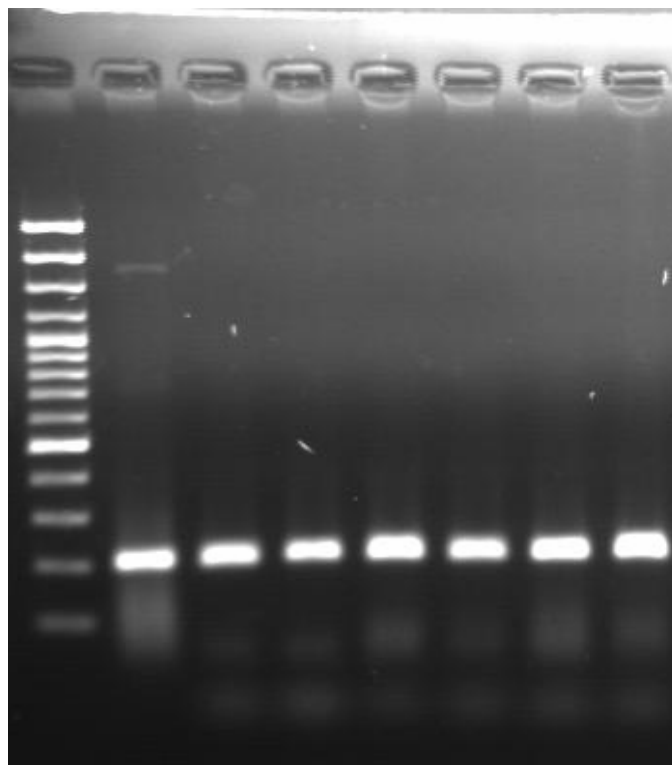
Praimeri *Amy32b* gēna genotipēšanai

Nosaukums	Sekvence	Sagaidāmais fragments bp
Amy1F	AGCTCAGCCTCGGTCTCAGT	205
Amy1R	CACGAAGGAGACGCCTACGT	

Iegūto DNS fragmentu apstrādājām ar restriktāzēm XhoI un XbaI.

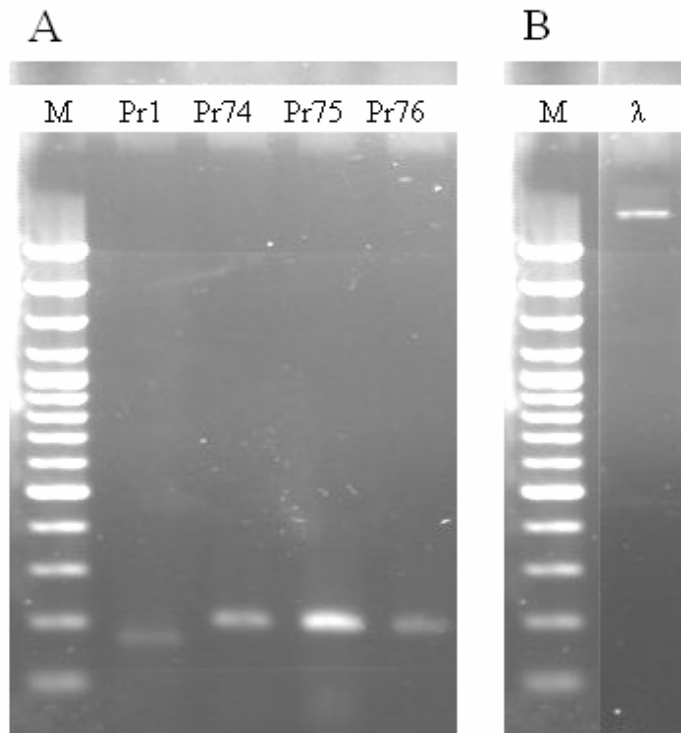
Lai pārbaudītu, vai ir notikusi amplifikācija, veica iegūtā DNS fragmenta elektroforēzi agarozes gēlā. (skat. 16.

M Pr74 Pr75 Pr76 Pr77 Pr78 Pr79 Pr80



16. attēls. Elektroforēze 1% agarozes gēlā PCR sintezētā DNS fragmentam pirms apstrādes ar restrikcijas enzīmu XhoI. M - marķiera GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder Plus (Fermentas, Lietuva).

Pēc apstrādes ar restriktāzēm veica otru elektroforēzi, lai noteiktu analizējamo lokusu alēles. Piemērs 17.attēlā.

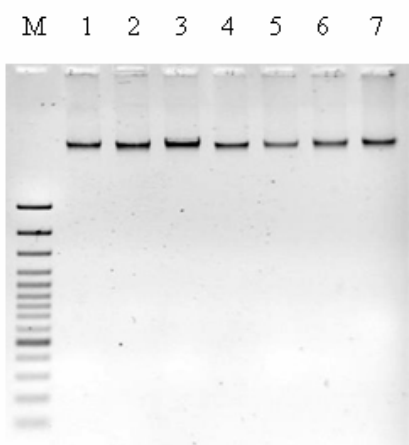


17. attēls. Elektroforēze 1% agarozes gēlā PCR sintezētā DNS fragmentam pēc apstrādes ar restrikcijas enzīmu XhoI. A – Priekuļu LSI miežu DNS paraugu apstrāde ar restrikciju enzīmu; B – lambda fāga DNS apstrāde ar restrikcijas enzīmu; M - marķiera GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder Plus (Fermentas, Lietuva); λ - lambda fāga DNS; Paraugā Pr1 ir redzama homozigota, kuru restriktāze ir sašķēlusi, bet pārējos paraugos ir homozigotas pēc nešķeļošās alēles.

Mūsu gadījumā *Amy32b* gēna SNP analīzei izmantojām XhoI un XbaI restriktāzes (Fermentas, Lietuva), kas atpazīst sekvenci C↓TCGAG un T↓CTAGA, attiecīgi. SNP ir novērojams restrikcijas enzīma atpazīstamā lokusa, kur notiek guanīna (G) nomainīšana pret adenīnu (A). XhoI un XbaI restriktāzes 100% darbojas buferī R (sastāvs: 10 mM Tris-HCl (pH 8.5 pie 37°), 10 mM MgCl₂, 100 mM KCl, 0,1 mg/ml BSA - liellopu seruma albumīns) un buferī Tango™ (sastāvs: 10 mM Tris-HCl (pH 7.9 pie 37°), 10 mM Mg(CH₃COO)₂, 100 mM KCH₃COO, 0,1 mg/ml BSA) (Fermentas, Lietuva), attiecīgi.

DNS darba koncentrāciju šķīdumu izveidošana

Pēc elektroforēzes veikšanas katram DNS paraugam, izveidoja DNS darba šķīdumus. Tādējādi, ieguvām paraugus ar aptuveno koncentrāciju ir 20ng/μl (18.att.).



18. attēls. Elektroforēze 1% agarozes gēlā paraugu DNS darba šķaidījumiem. M - marķiera GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder Plus (Fermentas, Lietuva); 1. – 7. DNS paraugi.

Gala šķaidījums – cik reizes ir jāatšķaida 1 μl DNS krājuma šķīdums.

PCR apstākļu optimizācija

Visiem praimeriem piemeklēja optimālus darbības apstākļus pēc hibridizācijas posma temperatūras un MgCl₂ koncentrācijas maisījumā, kurā notiek reakcija (3.4. tabula).

3.4. tabula

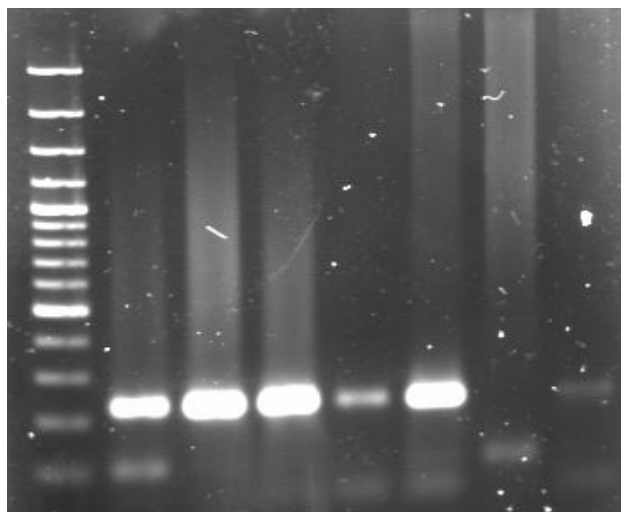
PCR apstākļi praimeru pāriem

Nosaukums	T _m , °C	MgCl ₂ koncentrācija, mM
Bamy126_38F	60	2,5
Bamy126R		
Bamy1_6F	62	2,5
Bamy1_6R		
Amy 1 F	60	2,5
Amy 1 R		

Bmy1 gēna MITE elementa genotipēšana

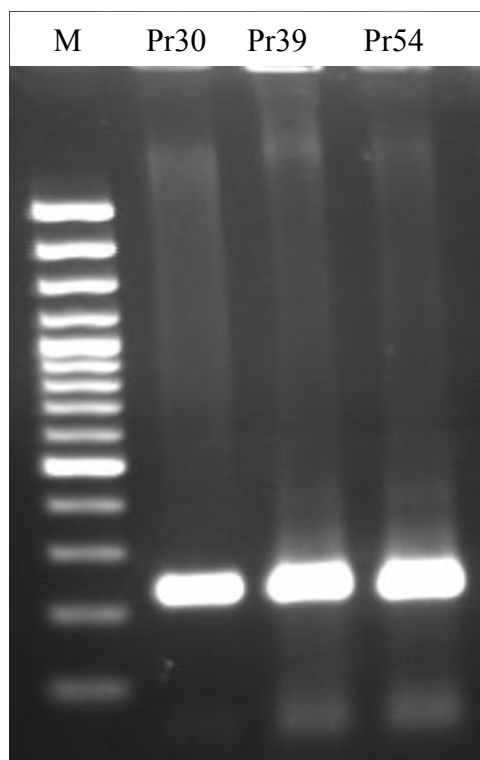
Projekta izpildes laikā 2007. gadā, mēs izanalizējam 200 paraugus, pa 100 no katras selekcijas stacijas. Visi paraugi bija izanalizēti ar divām metodēm - amplificētā produkta analīzi agarozes gēlā, un precīza garuma noteikšanu ar ABI Prism® 3100 Genetic Analyzer. 19. attēlā ir redzams piemērs ar Stendes GSI paraugu rezultātiem, bet 20. attēlā – piemērs ar Priekuļu LSI paraugu rezultātiem, analizējot produkta garumu ar elektroforēzi agarozes gēlā.

M St25.1 St25.3 St25.5 K+
 St25.2 St25.4 St26.1



Paraugs	MITE element
St25.1	+/- heterogēns
St25.2	+
St25.3	+
St25.4	+
St25.5	+
St26.1	-
K+	+

19. attēls. *Bmy1* gēna MITE elementa genotipēšanas rezultāti Stendes GSI paraugos: PCR produkta elektroforēzes agarozes gēlā attēls. M - marķiera GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder Plus (Fermentas, Lietuva); St – DNS paraugi no Stendes GSI; K+ - DNS paraugs kā kontrole ar MITE elementu.



20. attēls. *Bmy1* gēna MITE elementa genotipēšanas rezultāti Priekuļu LSI paraugos: PCR produkta elektroforēzes agarozes gēlā attēls. M - marķiera GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder Plus (Fermentas, Lietuva); Pr. – DNS paraugi no Priekuļu LSI ar MITE elementu.

3.3. *Amy32b* gēna divu lokusu (G^{XhoI}/A ; G^{XbaI}/A) genotipēšana ar amplificētā DNS fragmenta restrikcijas polimorfisma analīzes metodi (CAPS assay)

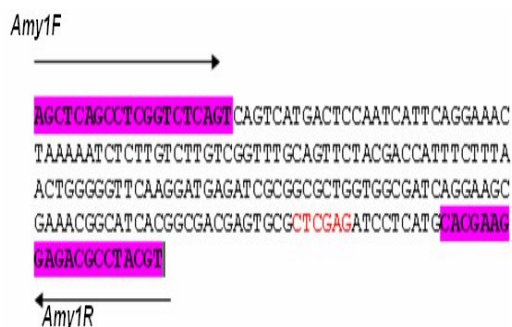
Lai analizētu *Amy32b* viena nukleotīda polimorfismus jeb SNP, izvēlējāmajos CAPS metodi, jo šo SNP rajonos ir restriktāžu atpazīšanas vietas.

Šīs metodes pamatā ir PCR laikā iegūtā produkta “griešana” ar restrikcijas enzīmu. Tātad vispirms tiek veikta PCR ar praimeru pāri, kas nav iezīmēts un kas nodrošina SNP rajona amplifikāciju (3.5. un 3.6. tabulas, 21. un 22. attēli) Pēc PCR pavairoto DNS fragmentu griež ar specifisku enzīmu, kas atpazīst DNS sekvenci, kurā atrodas interesējošais polimorfisms.

3.5. tabula

Praimeri *Amy32b* gēna trēšā introna-ceturta eksona amplifikācijai (G^{XhoI}/A genotipēšanai)

Nosaukums	Sekvence	Sagaidāmais fragments bp
Amy1F	5'-AGCTCAGCCTCGGTCTCAGT-3'	205
Amy1R	5'-CACGAAGGAGACGCCTACGT-3'	



21. attēls. Amplifikācijas praimeru saistīšanas vietas (iezīmēts ar lillā krāsu) un *XhoI* restriktāzes šķelšanas saits (iezīmēts ar sarkanu).

3.6. tabula

Praimeri *Amy32b* gēna trēšā introna-ceturta eksona amplifikācijai (*XbaI* genotipēšanai)

Nosaukums	Sekvence	Sagaidāmais fragments, bp
Amy2F	5'-ACTCCGTCTCCAACGAAGGTCC-3'	324
Amy2R	5'-CGCGTTGCCGTA CTTGGACGCGT-3'	



22. attēls. Amplifikācijas praimeru saistīšanas vietas (iezīmēts ar sarkanu krāsu) un *XbaI* restriktāzes šķelšanas saits (iezīmēts ar violetu).

Alēļu frekvences un heterozigotātes indeksa aprēķins

Alēļu frekvence aprēķinājām pēc formulas:

$$Fr_n = n / n + m$$

kur *n* un *m* ir katras alēles skaits populācijā

Sagaidāmo heterozigotātes indeksu izrēķinājām pēc formulas:

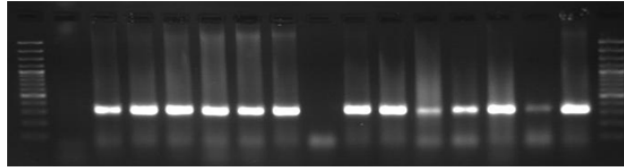
$$H_{exp} = 1 - \sum p_i^2$$

kur *p_i* ir katras alēles frekvence lokusā.

Amy32b gēna G^{*XhoI*}/A un G^{*XbaI*}/A lokusus saturošo rajonu amplifikācija

Pēc interesējošo DNS fragmentu PCR ieguvām noteikta garuma DNS fragmentus, kurus pierādījām agarozes gēla elektroforēzē. Piemērs G^{*XbaI*}/A saturošam fragmentam parādīts 23. attēlā.

M20ng 20, 21.1 21.2 21.2 21.3 21.4 23.2 H2O 24.4 25.2 25.2 25.3 25.3 25.4 25.5100b

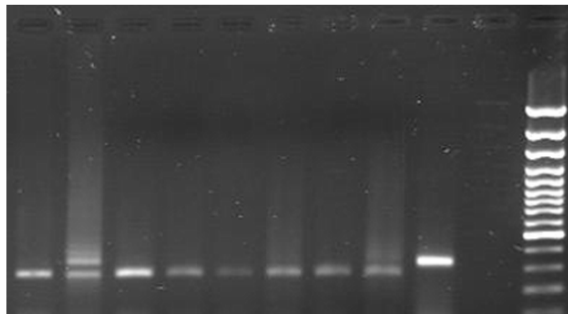


23. attēls. Elektroforēze 1% agarozes gēlā. PCR amplificētie DNS fragmenti pirms apstrādes ar restrikcijas enzīmu *Xba*I; M - marķiera GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder Plus (Fermentas, Lietuva).

Amplificēto DNS fragmentu apstrāde ar restriktāzēm.

Pēc amplificēto DNS fragmentu apstrādes ar restriktāzēm rezultātus analizējām agarozes gēla elektroforēzē, lai varētu noteikt analizējamo paraugu genotipu pēc G^{XhoI}/A un G^{XbaI}/A lokusiem. Piemērs G^{XbaI}/A lokusam redzams 24. attēlā.

St 1 St 2 St 3 St28,3 St28,4 St29,1St29,4St 30,3,-"restr" 100bp



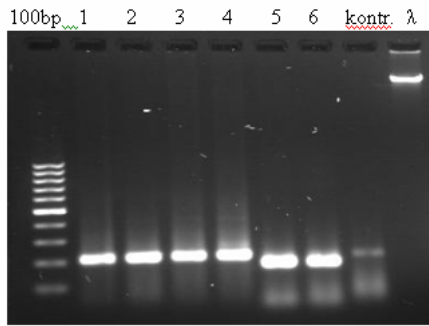
24. attēls. Elektroforēze 1% agarozes gēlā. PCR amplificētie DNS fragmenti pēc apstrādes ar restrikcijas enzīmu *Xba*I. Stendes LSI miežu DNS paraugi apstrādāti ar restrikciju enzīmu; „-”restr PCR amplificēts DNS fragments neapstrādāts ar restrikcijas enzīmu;

St1,St3,St28,3;St28,4;St29,1;St29,4;St30,3P ir redzami homozigotiski DNS fragmenti, kurus restriktāze ir sašķēlusi, bet St2 paraugs ir heterozigota. M - marķiera GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder Plus (Fermentas, Lietuva)

Gēna *Amy32b* lokusa G^{XhoI}/A rezultāta pārbaude paraugam Pr1.

Atsevišķi tika izpētīts Pr1 paraugs pēc gēna *Amy32b* lokusa G^{XhoI}/A genotipēšana. Sākotnējais rezultāts bija pretrunā ar literatūras datiem (plēkšņainu graudu fenotipam konstatēja ar kailgraudiem saistītu genotipu, bet papildus analīze deva pārliecinošu rezultātu un apstiprināja CAPS assay-metodes precizitāti).

Mēs atkārtoti izdalījām DNS no saņemtām un izdiedzētām sēklām, t.i.- no „vecāku” sēklām, veicām interesējošā sekvenču rajona amplifikāciju, (*Xho*I saistīšanās vietai), un restrikcijas analīzi ar *Xho*I enzīmu. Rezultāti apstiprināja, ka analizēto paraugu genotips G^{XhoI}/A lokusā ir A, novēroja homozigotas pēc nešķēlošās alēles (25. attēls).



1	2	3	4	5	6
Pr1	Sencis	P 3 645C	L2233	Pr1*	Pr1**
DNS no 2008 g. sēklu izdiedzētiem augiem				2007. g. standarta šķaidījums	2007. g. darba šķaidījums

25. attēls. Elektroforēze 1% agarozes gēlā. Amplificēti Priekules LSI miežu DNS fragmenti pēc apstrādes ar restrikcijas enzīmu *XhoI*. 100bp - marķieris GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder Plus (Fermentas, Lietuva); λ - lambda fāga DNS; Paraugi Pr1* un Pr1** ir homozigotas pēc šķelošās alēles (G), bet pārējie paraugi ir homozigotAS pēc nešķelošās alēles; „kontr” – amplificētas DNS paraugs neapstrādāts ar restrikciju enzīmu. Pr1* - amplifikācija ar 2007.gadā izdalītas DNS darba šķaidījumu; Pr1** - amplifikācija ar 2007.gadā izdalītas DNS standarta šķaidījumu;

4. Rezultāti

4.1. Vasaras miežu līniju saimnieciski-bioloģisko īpašību raksturojums

4.1.1. Priekuļu LSI selekcijas materiāla raksturojums

Pētījumā iekļauti 100 miežu selekcijas materiāla dažādu paaudžu (F 4-F14) paraugi, ko kuriem plēkšņainie mieži - 46 paraugi un ietver līnijas no dažādām selekcijas audzētavām. Paraugi no 1-9 – no konkursa šķirņu pārbaudes,

paraugi 10-18 no iepriekšējās šķirņu pārbaudes audzētavas,

paraugi 41-45 no kontroles audzētavas,

paraugi 77-100 no selekcijas 1. gada audzētavas, kuras iegūtas no krustojuma kombinācijas Latvijas vietējie/Inari. Latvijas vietējie mieži satur termostabilitātes gēnu *Bmy1*.

Pētījumā iekļauti 54 kailgraudu miežu paraugi un ietver līnijas no kuriem

paraugi no 19 - 40 atbilst iepriekšējās šķirņu pārbaudes audzētavai,

paraugi 46- 69 no kontroles audzētavas,

paraugi 70-76 no selekcijas 2. gada audzētavas.

Plēkšņaino līniju novērtējuma 2007. g. dati apkopoti 4.1.- 4.3. tabulās. Atlasītās līnijas bija atšķirīgas gan ražības, gan veģetācijas perioda garuma, gan izturības pret slimībām ziņā. Konkursa pārbaudē ar būtiski augstāku ražu, salīdzinot ar standartšķirni 'Ansis' izcēlās līnijas L-3005 un PR-3518. Graudu kvalitātes raksturošanai noteikts koproteīna, cietes un beta glikāna saturs. Plēkšņainām miežu līnijām koproteīna saturs atzīmēts no 8.9 - 10.0 % - 6 līnijām, no 10.1 – 11.5 % - 13 līnijām, >11.5 % - 5 līnijām. Pēc šī rādītāja vairums līniju (82,6 %) atbilst alus īpašību prasībām, cietes saturs atzīmēts robežās no 61.8 – 64.7 %. Arī pēc augu morfoloģiskiem rādītājiem atzīmējama liela dažādība. Inficēšanās ar miltrasu bija novērota no 0 līdz 3.7 ballēm, bet inficēšanās ar lapu brūnsvitrainību – 0-3 balles. Inficēšanās ar putošo melnplauku šajā gadā bija neliela. Veldrēšanās tika novērota ļoti nelielos apmēros.

Līnijas, iegūtas no Latvijas vietējie/Inari. krustojumiem, audzējot tos bioloģiskos audzēšanas, raksturojas ar atšķirīgām attīstības īpatnībām. (4.3. tabula). Tas ļauj veikt vēlamu formu izlasi.

Kailgraudu miežu līniju novērtējuma dati sniegti 4.5-4.6. tabulā. Iepriekšējās šķirņu pārbaudes audzētavā iekļauto kailgraudu miežu līniju raža bija 59.5- 83.4%, kontroles audzētavā no 47.1- 104%, selekcijas audzētavā no 68.6-88.7% no plēkšņaino miežu standartšķirnes 'Ansis' ražas. Tikai viena līnija PR 3671 uzrādīja augstāku par standartu 'Ansis' ražu. Kailgraudu līnijas koproteīna saturs atzīmēts robežās no 10.6-17.1%. No 54 pārbaudītajām kailgraudu līnijām ar proteīnu saturu lielāku par 11.5 % atzīmētas 37 (68.5%) līnijas. Cietes saturs variē plašās robežās - 60.2-66.9%. Beta glikāna saturs (4.4-5.8%) ir augstāks salīdzinājumā ar plēkšņainajiem miežiem (2.9-4.0%). Pēc morfoloģiskajiem rādītājiem kailgraudu līnijas raksturojas ar lielu daudzveidību.

2008. gadā veikta perspektīvo līniju pārbaude. Plēkšņaino miežu novērtējuma dati apkopoti 4.6 tabulā. Konkursa šķirņu pārbaudē iekļautās līnijas ražībā pārsēj standartšķirni 'Ansi', raksturojas ar alus ražošanai atbilstošām īpašībām pēc kvalitātes rādītājiem. Atzīmējama tomēr ražīgāko līniju ļoti spēcīga infekcija ar putošo melnplauku. Citās audzētavās ražas līmenis zemāks, kā pozitīva īpašība ir atzīmējama šo līniju izturība pret putošo melnplauku.

Līniju vispusīgs raksturojums no krustojumu kombinācijas Latvijas vietējie/Inari dots 4. 7 tabulā. Audzējot tos bioloģiskos apstākļos, līnijām iegūta 103-120% raža, salīdzinot ar standartšķirni 'Idumeja' (4.1 t ha⁻¹) un raža 87-102%, salīdzinot ar jauno šķirni 'Rubiola' (4.8 t ha⁻¹).

Kailgraudu līniju novērtējuma dati sniegti 4.8 tabulā. Kailgraudu līniju ražība sasniedz 51 – 111% ražības līmeni no standartšķirnes 'Ansis'. Ir iespēja atlasīt vērtīgākos genotipus gan no ražības, gan no graudu kvalitātes un slimību izturības viedokļa.

4.1. tabula

Plēkšņaino miežu līniju graudu raža un kvalitātes rādītāji (Priekuļu LSI, 2007)

Parauga nr.	Lauciņa # 2007	Šķirne, līnija	Izcelšanās	Paaudze	Graudu raža			Sēja-vārpošana, dienas	Veģetācijas periods, dienas	Augu garums, cm	Izturība pret veldri, 1-9	Kopproteīna saturs, %	Cietes saturs, %	Beta-glikāni, %	TG M, g	Tilpums, g l ⁻¹
					t ha ⁻¹	+/- Ansis	% no Anša									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Konkursa pārbaude																
1	8002	PR-3522	Sencis//P3 645 C/L-2233	F7	4.52	-0.58	89	56	100	50.2	9	11.2	62.5	3.9	54.7	693
2	8003	L-3134	Rūja/Baronesse// Baronesse/Ida	F9	4.79	-0.31	94	55	100	56.6	9	8.9	63.7	3.7	48.1	699
3	8004	PR-3269	Linus/Baronesse	F8	4.60	-0.50	90	53	99	53.2	9	10.1	63.4	4.0	49.6	707
4	8005	L-3005	Baronesse/L-2380 (Ww7291/Dina)	F11	5.41	0.31	106	55	102	52.4	9	10.0	63.7	3.8	48.6	714
5	8006	PR-3518	L-2905/L-2503 (Dina/Run, Gastiņec/Imula)	F7	5.39	0.29	106	57	104	55.5	9	9.9	64.3	3.8	49.5	716
6	8007	PR-3512	Linus/Anabell//L-2421 (Rūja/Bingo)	F7	5.21	0.11	102	57	103	50.9	9	9.4	64.7	3.7	47.8	711
7	8008	PR-3361	Bor 88377/Ivana	F7	5.02	-0.08	98	56	103	51.7	9	10.0	63.6	3.8	50.6	717
8	8009	PR-3245	97B741sex msg6/Thuringa//Gāte	F8	4.72	-0.38	93	55	104	54.4	9	10.4	63.5	3.8	47.1	706
9	8010	L-2797	Rūja/Run8/458	F14	4.77	-0.33	94	58	103	59.8	9	10.7	62.7	3.8	48.6	710
			RS _{0.05}		0.22											
Iepriekšējā šķirņu pārbaudes audzētava																
10	7007	PR-3606	Rūja/Prestige/3/L- 2233//Linus/Annabell	F6	4.60	-0.26	95	55	102	63.8	9	11.3	62.9	3.8	50.9	708
11	7009	K165	Merlin/Linga//Sencis	DH	4.55	-0.31	94	56	102	57.1	9	10.4	63.4	3.6	44.2	700
12	7012	PR-3331	Linus/Annabell//L-2421 (Rūja/Bingo)	F7	4.98	0.12	102	57	102	62.2	9	10.0	64.4	3.6	47.7	706
13	7022	PR-3274	L-2233//Linus/Annabell	F7	4.84	-0.02	100	53	101	52.2	9	10.9	63.2	2.9	52.8	700
14	7023	PR-3287	Tolar/Idumeja	F7	4.75	-0.11	98	53	105	70.1	9	11.0	63.7	3.9	49.3	712
15	7025	PR-3645	Prestige/Annabell	F6	4.53	-0.33	93	57	103	60.1	9	10.4	64.3	3.5	50.5	693

4.1. tabulas turpinājums

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>	<i>9</i>	<i>10</i>	<i>11</i>	<i>12</i>	<i>13</i>	<i>14</i>	<i>15</i>	<i>16</i>	<i>17</i>
16	7029	PR-3300	Tolar//Linga/#112	F7	4.57	-0.29	94	58	104	66.4	9	10.8	63.4	3.5	49.4	699
17	7030	PR-3515	Mette/Tolar	F7	4.73	-0.13	97	60	105	57.0	9	11.1	63.5	3.6	48.7	699
18	7032	PR-3514	Tolar/Kristaps	F7	4.15	-0.71	85	58	104	51.8	9	11.5	63.0	3.7	45.1	697
			Rs0.05			0.33										
Kontroles audzētava																
41	6033	PR-3385	Tolar/L-2421 (Rūja/Bingo)	F7	5.59	0.09	102	56	103	64	9	13.1	62.1	3.4	46.8	708
42	6034	PR-3609	Rūja/Prestige/3/L- 2233//Linus/Annabell	F6	4.99	-0.51	91	59	104	68	9	12.2	62.5	3.3	51.0	704
43	6045	PR-3615	Annabell/L-2544 (Nancy/Dina)	F6	4.75	-0.75	86	56	99	54	9	10.5	64.7	3.3	45.0	702
44	6047	PR-3616	Annabell/L-2544 (Nancy/Dina)	F6	5.39	-0.11	98	55	98	61	9	12.1	62.7	3.4	46.1	710
45	6068	PR-3611	Rūja/Prestige/3/L- 2233//Linus/Annabell	F6	4.34	-1.16	79	53	98	81	9	13.7	61.8	3.6	53.6	712

Plēkšņaino miežu līniju slimību izturība un morfoloģisko īpašību raksturojums (Priekuļu LSI)

Parauga nr.	Lauciņa # 2007	Šķirne, līnija	Izcelšanās	Paaudze	Slimības					Produktīvās cerošanas koeficients	Vidējais vārpagarums, cm	Vārpagaruma bļīvums	Vidējais graudu skaits vārpā	Vidējā graudu masa vārpā, g	Tukšo ziedu skaits galv. vārpā
					Melnplaukas, vārpas	Milttrasa, 0-4	Brūnsvītrainība, augļi lauc.	Tīklkumainība, 0-4	Rūsa						
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	8002	PR-3522	Sencis//P3 645 C/L-2233	F7	2.2	0.4	30	0.6	0.5	2.2	5.2	14.0	15.5	0.82	0.2
2	8003	L-3134	Rūja/Baronesse//Baronesse/Ida	F9	1.5	3	41	0.5	1	2.2	5.9	14.0	19.4	0.90	0.6
3	8004	PR-3269	Linus/Baronesse	F8	0.8	0.2	36	3	0.1	2.1	5.6	11.2	15.5	0.78	0.6
4	8005	L-3005	Baronesse/L-2380 (Ww7291/Dina)	F11	1.3	0.2	13	1.5		2.2	5.2	12.3	15.2	0.72	0.6
5	8006	PR-3518	L-2905/L-2503 (Dina/Run,Gastiņec/Imula)	F7	1.6	1.7	3	3	1.5	2.3	6.9	11.1	16.8	0.83	0.6
6	8007	PR-3512	Linus/Anabell//L-2421 (Rūja/Bingo)	F7	1	1.3	5	3	2	2.1	5.3	12.0	13.7	0.66	0.8
7	8008	PR-3361	Bor 88377/Ivana	F7	0.1	0.3	7	0.7	0.5	1.5	5.8	12.5	16.7	0.86	0.2
8	8009	PR-3245	97B741sex msg6/Thuringa//Gāte	F8	0.1	0.3	1	1.6	0.5	1.7	6.0	11.9	15.0	0.75	0.9
9	8010	L-2797	Rūja/Run8/458	F14	0	0.8	0	1.5	0.5	1.9	5.3	15.5	19.0	0.93	1.6
RS _{0.05}															
10	7007	PR-3606	Rūja/Prestige/3/L-2233//Linus/Annabell	F6	0	0.7	1	1		2.8	5.3	13.3	17.8	0.87	0.1
11	7009	K165	Merlin/Linga//Sencis	DH	1	0.5	7	1.3	0.5	3.0	7.0	12.0	20.1	0.94	0.6
12	7012	PR-3331	Linus/Annabell//L-2421 (Rūja/Bingo)	F7	1	1	0	1	0.5	2.7	7.1	12.0	19.4	1.04	0.8

4.2. tabulas turpinājums

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>	<i>9</i>	<i>10</i>	<i>11</i>	<i>12</i>	<i>13</i>	<i>14</i>	<i>15</i>	<i>16</i>
13	7022	PR-3274	L- 2233//Linus/Annab ell	F7	0	0.7	5	0.3		2.4	6.1	12.6	18.0	0.99	0.7
14	7023	PR-3287	Tolar/Idumeja	F7	1	0.7	13	0.7	0.5	2.3	7.1	12.5	20.3	1.04	1.3
15	7025	PR-3645	Prestige/Annabell	F6	0	0	10	1	0.5	2.5	6.4	12.4	18.7	0.94	0.5
16	7029	PR-3300	Tolar//Linga/#112	F7	2.5	0.7	24	0.5	x	3.0	6.8	12.0	20.1	1.00	0.1
17	7030	PR-3515	Mette/Tolar	F7	1.2	1.2	10	1.2	x	2.7	6.5	13.4	18.5	0.84	0.8
18	7032	PR-3514	Tolar/Kristaps	F7	0.7	1.8	30	0.7	x	2.5	5.1	15.4	18.5	0.83	0.1
41	6033	PR-3385	Tolar/L-2421 (Rūja/Bingo)	F7	2.5	0.7	1	0.2	x	x	x	x	x	x	x
42	6034	PR-3609	Rūja/Prestige/3/L- 2233//Linus/Annab ell	F6	0	0.2	2	3	x	x	x	x	x	x	x
43	6045	PR-3615	Annabell/L-2544 (Nancy/Dina)	F6	0	0.3	1	1	x	x	x	x	x	x	x
44	6047	PR-3616	Annabell/L-2544 (Nancy/Dina)	F6	0	0.3	0	1.2	x	x	x	x	x	x	x
45	6068	PR-3611	Rūja/Prestige/3/L- 2233//Linus/Annab ell	F6	0	0	4	3	0.1	x	x	x	x	x	x

**Selekcijas 1. gada audzētavas plēkšņainie mieži (bioloģiskās audzēšanas apstākļos)
no krustojumu kombinācijas Latvijas vietējie/Inari (Priekuļu LSI), 2007**

Parauga Nr.	Lauciņa Nr.	Krustojumu kombinācija	Paaudze	Miltrasa	Tīklplankumainība	Raksturojums
77	4820	Latvijas vietējie/Inari	F4	1.5	0	vid.vēla
78	4821	Latvijas vietējie/Inari	F4	2.5	0	vēla, lēni aug
79	4822	Latvijas vietējie/Inari	F4	2	0	ļoti vēla, lēni aug
80	4823	Latvijas vietējie/Inari	F4	0.5	0.5	vēla
81	4824	Latvijas vietējie/Inari	F4	0	0.5	vid.vēla
82	4825	Latvijas vietējie/Inari	F4	2	0	vid.vēla
83	4826	Latvijas vietējie/Inari	F4	2	1.5	agra
84	4827	Latvijas vietējie/Inari	F4	0	1	vid.vēla
85	4828	Latvijas vietējie/Inari	F4	0.1	0.5	vēla, lēni aug
86	4829	Latvijas vietējie/Inari	F4	0	0.5	vēla
87	4830	Latvijas vietējie/Inari	F4	0	0.5	vid.vēla
88	4831	Latvijas vietējie/Inari	F4	0	0.5	vid.vēla
89	4832	Latvijas vietējie/Inari	F4	0	1.5	vēla
90	4833	Latvijas vietējie/Inari	F4	0	0.5	vēla
91	4834	Latvijas vietējie/Inari	F4	0	0.5	agra
92	4835	Latvijas vietējie/Inari	F4	0	1	agra, strauji aug
93	4836	Latvijas vietējie/Inari	F4	0	1.5	vēla, lēni aug
94	4837	Latvijas vietējie/Inari	F4	1	1	vēla
95	4838	Latvijas vietējie/Inari	F4	0	1	vēla
96	4839	Latvijas vietējie/Inari	F4	0	0.5	vēla
97	4840	Latvijas vietējie/Inari	F4	0	0.1	vēla
98	4841	Latvijas vietējie/Inari	F4	0	0.5	vid.vēla
99	4842	Latvijas vietējie/Inari	F4	0	0.5	vid.vēla, strauji aug
100	4843	Latvijas vietējie/Inari	F4	0	0.5	vid.vēla, strauji aug

Kailgraudu miežu līniju graudu raža un kvalitātes rādītāji (Priekuļu LSI, 2007)

Parauga nr.	Lauciņa # 2007	Šķirne, līnija	Izcelšanās	Paaudze	Graudu raža			Veģetācijas periods, dienas	Augu garums, cm	Izturība pret veldri, 1-9	Kopro-teīna saturs, %	Cietes saturs, %	Beta-glikāni, %	Viskozitāte, vienības	1000 graudu masa, g	Tilpum-masa, g l ⁻¹
					t ha ⁻¹	+/- Ansis	% no Anša									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Iepriekšējā šķirņu pārbaude																
19	7034	L14	Merlin/Linga//Se ncis		3.21	-2.19	59.5	100	62	9	12.6	62.7	5.2	217	39.1	759
20	7035	PR-3528	Filippa/McGwire/ /Kristaps	F7	4.16	-1.24	77.1	102	75	9	11.4	65.3	5.2	270	44.3	812
21	7037	PR-3460	KM-2001/CDC McGwire	F7	3.85	-1.55	71.3	100	74	9	12.5	64.2	5.1	252	43.0	811
22	7038	PR-3464	Linus/Annabell//S encis/Dawn	F7	4.41	-0.99	81.8	99	75	7	11.5	64.3	5.1	321	41.8	786
23	7039	PR-3414	Filippa/McGwire	F7	4.03	-1.37	74.6	103	73	9	11.2	65.0	5.2	389	44.3	812
24	7040	L13	CDC MCGwire/Idumej a	D H	4.12	-1.28	76.3	100	70	9	11.2	64.9	5.0	330	51.1	800
25	7042	PR-3474	Abava/Sw1290//L -2421	F7	3.76	-1.64	69.6	103	62	9	12.4	64.0	5.0	164	44.3	797
26	7043	PR-3415	Filippa/McGwire	F7	4.38	-1.02	81.1	102	63	9	11.2	64.9	5.2	319	38.5	806

4.4. tabulas turpinājums

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
27	7044	PR-3419	Filippa/McGwire/ /Kristaps	F7	4.34	-1.06	80.4	104	51	9	11.0	65.1	5.1	324	41.2	794
28	7045	PR-3416	Filippa/McGwire	F7	4.23	-1.17	78.3	103	57	9	11.9	63.6	5.1	474	47.1	801
29	7047	PR-3440	Merlin/Linga wx	F7	3.92	-1.48	72.6	100	54	9	12.9	64.8	5.8	46	38.6	762
30	7048	PR-3473	Abava/SW 1290	F7	4.08	-1.32	75.5	102	72	9	11.5	64.2	5.0	260	45.9	789
31	7049	PR-3484	CDC Dawn/KM- 2093	F7	4.36	-1.04	80.7	103	79	9	11.8	64.4	5.1	455	45.0	802
32	7050	PR-3438	Merlin/Linga wx	F7	3.93	-1.47	72.8	100	62	9	12.5	66.1	5.7	162	40.5	785
33	7052	PR-3448	Merlin/Linga//Se ncis wx	F7	3.77	-1.63	69.7	99	63	8	12.0	65.0	5.3	119	42.1	769
34	7053	PR-3537	Merlin/Linga//Se ncis	F7	4.50	-0.90	83.3	100	46	9	12.2	64.2	5.5	80	39.7	778
35	7054	PR-3487	Rūja/KM 2001	F7	3.90	-1.50	72.2	101	64	9	13.0	63.1	5.2	156	44.4	778
35	7055	PR-3807	SW1291/3/Tolar// Linga/CIMMYT 112	F7	3.80	-1.60	70.3	103	64	9	12.4	63.3	4.8	308	43.5	804
37	7057	PR-3467	Linus/Annabell//S encis/Dawn	F7	3.81	-1.59	70.6	101	70	9	11.0	65.2	4.9	332	42.5	792
38	7058	PR-3462	KM-2001/CDC McGwire	F7	3.93	-1.47	72.8	102	63	9	11.6	64.9	5.0	285	38.8	772
39	7059	PR-3475	Abava/Sw1290//L -2421	F7	4.33	-1.07	80.1	104	67	9	10.8	65.4	4.9	246	43.8	765
40	7060	K170	Merlin/Linga//Se ncis	D H	4.50	-0.90	83.4	108	62	9	10.6	66.9	4.4	287	39.3	758
			Rs0.05		0.35											

4.4. tabulas turpinājums

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Kontroles audzētava																
46	6071	PR-3670	SW1291/3/Tolar//Linga/CIMMYT 112	F6	3.70	-1.71	68.3	98	61	9	15.3	61.6	5.1	190	43.8	764
47	6072	PR-3672	SW1291/3/Tolar//Linga/CIMMYT 112	F6	3.62	-1.79	66.9	98	82	9	16.6	60.2	5.0	332	48.6	773
48	6074	PR-3443	Merlin/Linga//Senicis wx	F7	3.58	-1.83	66.1	97	60	9	13.8	63.5	5.8	58	37.7	773
49	6077	PR-3680	Merlin/SW 1291 wx	F6	4.19	-1.22	77.4	98	69	9	13.6	64.7	5.5	63	42.6	774
50	6078	PR-3682	Merlin/SW 1291 wx	F6	4.04	-1.37	74.7	98	68	9	14.4	63.4	5.4	74	43.0	773
51	6085	PR-3781	Merlin/SW 1291//Danuta	F6	3.88	-1.53	71.8	98	68	9	13.7	62.4	5.1	74	43.3	733
52	6087	PR-3775	KM-2084/B-93//Lawina	F6	2.55	-2.86	47.1	97	63	9	16.6	60.5	4.8	251	42.4	760
53	6088	PR-3695	KM 2084/B-93	F6	3.49	-1.92	64.6	100	61	9	14.5	62.1	5.0	159	46.2	787
54	6089	PR-3779	Prestige/CIMMY T 55//KM-2084/Rasa	F6	4.00	-1.41	73.9	97	58	9	15.0	61.9	5.0	241	44.4	780
55	6090	PR-3808	SW1291/3/Tolar//Linga/CIMMYT 112	F7	3.98	-1.43	73.6	96	77	9	15.7	61.1	4.9	265	42.7	782
56	6091	PR-3809	Gainer/KM-2084	F6	3.80	-1.61	70.3	97	64	9	14.0	61.6	5.0	313	42.8	737
57	6092	PR-3810	Gainer/KM-2084	F6	3.84	-1.57	70.9	97	74	9	13.2	61.9	5.1	324	48.6	778
58	6101	PR-3768	Gainer/KM-2084	F5	3.77	-1.64	69.6	100	75	8	12.9	63.3	4.6	262	45.9	770

4.4. tabulas turpinājums

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
59	6103	PR-3770	Annabell/Cimmyt 53//SW-1291	F6	4.20	-1.21	77.5	98	54	9	13.0	64.0	4.7	150	45.5	773
60	6105	PR-3671	SW1291/3/Tolar// Linga/CIMMYT 112	F6	5.62	0.21	104	103	69	9	12.9	63.0	4.7	367	43.5	804
61	6106	PR-3700	KM 2084/B-93	F6	4.55	0.21	84	102	60	9	14.2	62.5	4.9	253	46.6	776
62	6107	PR-3693	KM 2084/B-93	F6	3.85	-0.86	71.2	98	76	9	16.7	60.4	5.3	386	51.8	756
63	6108	PR-3705	Rūja/KM 2001	F6	3.45	-1.56	63.7	100	71	9	14.6	61.8	4.8	168	40.1	786
64	6118	PR-3725	KM 2001/CDC McGwire//Klinta	F6	3.47	-1.96	64.1	101	75	9	11.8	64.7	4.7	362	42.3	782
65	6119	PR-3732	KM 2084/Rasa	F6	3.70	-1.94	68.4	100	74	9	17.1	63.8	4.9	217	44.6	779
66	6121	PR-3733	KM 2084/Rasa	F6	4.11	-1.71	76	100	54	9	12.2	63.8	4.8	447	43.5	798
67	6123	PR-3710	Annabell/CIMM YT 53	F6	4.38	-1.30	81	102	71	9	11.7	65.0	4.8	362	41.8	789
68	6125	PR-3767	Gainer/KM-2084	F6	4.25	-1.03	78.6	102	65	9	12.5	62.5	4.6	353	46.9	777
69	6127	PR-3782	Merlin/SW 1291//Danuta	F6	4.26	-1.16	78.7	100	67	9	12.0	64.6	4.7	345	47.6	780
			Rs0.05		0.99											
Selekcijas 2. gada audzētava																
70	5294	PR-3994	Washonubet/SW- 1291	F5	4.06	-0.52	88.7	100	90	7	13.0	65.2	5.1		38.4	782
71	5308	PR-4006	Lysimax/B- 93//Washonubet	F5	3.94	-0.64	86	102	86	8	12.0	66.2	5.1		42.9	780
72	5309	PR-4007	Lysimax/B- 93//Washonubet	F5	3.81	-0.77	83.2	101	79	7	12.9	65.7	4.8		37.6	773

4.4. tabulas turpinājums

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>	<i>9</i>	<i>10</i>	<i>11</i>	<i>12</i>	<i>13</i>	<i>14</i>	<i>15</i>	<i>16</i>	<i>17</i>
73	5324	PR-4020	KM- 2084/Kompact	F5	3.33	-1.25	72.7	104	56	9	12.9	64.4	4.7		44.2	706
75	5325	PR- 764021	KM- 2084/Kompact	F5	3.42	-1.16	74.7	102	69	9	12.4	64.9	4.7		46.1	740
76	5326	PR-4022	KM- 2084/Kompact	F5	3.14	-1.44	68.6	103	57	9	13.9	62.5	4.7		42.0	765

4.5. tabula

Kailgraudu miežu līniju slimību izturība un augu morfoloģiskie rādītāji (Priekuļu LSI, 2007)

Parauga nr.	Lauciņa # 2007	Šķirne, līnija	Izcelšanās	Paaudze	Slimības					Produktī vās cerošana s koeficients	Vidējais vārpagarums, cm	Vārpagaruma blīvums	Vidējais graudu skaits vārpā	Vidējā graudu masa vārpā, g	Vidējā graudu masa vārpā, g
					Melnplaukas, vārpagarums	Miltāsa, 0-4	Brūnsvītāinība, augi lauc.	Tīklumainība, 0-4	Rūsa						
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Iepriekšējā pārbaude															
19	7034	L14	Merlin/Linga//Sencis		0.7	0.7	2	2	0.1	3.5	61.7	6.2	13.8	18.3	0.79
20	7035	PR-3528	Filippa/McGwire//Kristaps	F7	0	0.5	5	1	0.7	2.6	75.3	7.4	14.1	24.1	1.12
	7037	PR-3460	KM-2001/CDC McGwire	F7	0.2	0	0	1	1	2.9	73.5	6.0	13.3	17.3	0.77
21	7038	PR-3464	Linus/Annabell//Sencis/Dawn	F7	0.2	0.7	0	0	0	2.3	74.5	6.2	12.3	18.4	0.82
22	7039	PR-3414	Filippa/McGwire	F7	2.2	1.5	18	1	0.2	2.3	72.9	6.5	13.5	20.8	0.91
23	7040	L13	CDC MCGwire/Idumeja	DH	1.5	3.2	5	0	1	3.1	70.0	6.2	12.8	19.3	1.03
24	7042	PR-3474	Abava/Sw1290//L-2421	F7	9.3	0.7	3	0	2	3.5	61.8	7.1	10.4	18.1	0.82
25	7043	PR-3415	Filippa/McGwire	F7	0.2	1.5	9	1	1.2	2.2	63.0	5.8	13.8	17.9	0.66
26	7044	PR-3419	Filippa/McGwire//Kristaps	F7	0	1	37	2	0.5	2.9	50.8	5.9	14.8	19.1	0.82
27	7045	PR-3416	Filippa/McGwire	F7	0.7	0.5	13	2	1.7	2.5	57.0	6.4	12.0	17.2	0.83
28	7047	PR-3440	Merlin/Linga wx	F7	0.5	2.5	0	1	0	2.4	54.3	5.5	13.5	15.1	0.66
29	7048	PR-3473	Abava/SW 1290	F7	0	1.5	13	1	0.3	3.1	71.7	6.3	11.0	16.3	0.84
30	7049	PR-3484	CDC Dawn/KM-2093	F7	2	1.2	3	1	0.5	3.1	78.9	6.3	12.9	18.5	0.83
31	7050	PR-3438	Merlin/Linga wx	F7	13	3.7	0	2	0	3.1	62.4	6.0	13.3	16.7	0.76
33	7052	PR-3448	Merlin/Linga//Sencis wx	F7	0	1.5	0	1	1.2	2.4	62.9	5.6	13.0	16.5	0.70
34	7053	PR-3537	Merlin/Linga//Sencis	F7	0	2.5	0	1	0	2.7	46.4	5.6	13.3	15.9	0.68

4.5. tabulas turpinājums

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
35	7054	PR-3487	Rūja/KM 2001	F7	0.5	2.2	6	1	1	3.5	63.5	6.3	12.8	17.6	0.79
36	7055	PR-3807	SW1291/3/Tolar/L inga/CIMM37YT 112	F7	0	1.7	0	2	0.05	3.1	64.0	6.5	12.1	19.0	0.84
37	7057	PR-3467	Lin38us/Annabell// Sencis/Dawn39	F7	0.5	0.2	100	0	1.5	1.9	70.1	7.4	12.1	20.8	0.94
38	7058	PR-3462	KM40-2001/CDC McGwire	F7	0	0.0 5	0	0	1.5	2.6	63.4	7.0	12.6	20.4	0.80
39	7059	PR-3475	Abava41/Sw1290// L-2421	F7	2.5	1.2	3	0	1.2	2.8	66.5	7.0	11.1	16.7	0.85
40	7060	K170	Merlin/Li42nga//Se ncis	DH	4	1.5	2	0	1	3.4	62.1	7.1	13.0	20.8	0.89
Kontroles audzētava															
46	6071	PR-3670	SW441291/3/Tolar //Linga/CIMMYT 112	F6	0	1.7	4		0.05	x	x	x	x	x	x
47	6072	PR-3672	SW1291/3/Tolar//L inga/CIMMYT 112	F6	0	0.5	2		0.3	x	x	x	x	x	x
48	6074	PR-3443	Merlin/Linga//Senc is wx	F7	0	1.5	0		0.05	x	x	x	x	x	x
49	6077	PR-3680	Merlin/SW 1291 wx	F6	0	3	0		0	x	x	x	x	x	x
50	6078	PR-3682	Merlin/SW 1291 wx	F6	0	3	0		0.2	x	x	x	x	x	x
51	6085	PR-3781	Merlin/SW 1291//Danuta	F6	0	0	2		0.1	x	x	x	x	x	x
52	6087	PR-3775	KM-2084/B- 93//Lawina	F6	0	1	0	2	1.5	x	x	x	x	x	x
53	6088	PR-3695	KM 2084/B-93	F6	0	0.2	1		1.2	x	x	x	x	x	x
54	6089	PR-3779	Prestige/CIMMYT 55//KM-2084/Rasa	F6	0	0	4		2	x	x	x	x	x	x
55	6090	PR-3808	SW1291/3/Tolar//L inga/CIMMYT 112	F7	1.5	1.7	3		0.3	x	x	x	x	x	x
56	6091	PR-3809	Gainer/KM-2084	F6	1	1.2	3		0.3	x	x	x	x	x	x
57	6092	PR-3810	Gainer/KM-2084	F6	0	1.2	3		0.7	x	x	x	x	x	x
58	6101	PR-3768	Gainer/KM-2084	F5	0	0.3	2		0.7	x	x	x	x	x	x

4.5. tabulas turpinājums

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
59	6103	PR-3770	Annabell/Cimmyt 53//SW-1291	F6	0	1.5	3		0.3	x	x	x	x	x	x
60	6105	PR-3671	SW1291/3/Tolar/L inga/CIMMYT 112	F6	2	2	2		0.3	x	x	x	x	x	x
61	6106	PR-3700	KM 2084/B-93	F6	0	2	2		1	x	x	x	x	x	x
62	6107	PR-3693	KM 2084/B-93	F6	0	2	5		1	x	x	x	x	x	x
63	6108	PR-3705	Rūja/KM 2001	F6	0	2	2		1.2	x	x	x	x	x	x
64	6118	PR-3725	KM 2001/CDC McGwire//Klinta	F6	0	1.7	0		1.5	x	x	x	x	x	x
65	6119	PR-3732	KM 2084/Rasa	F6	0	1.5	0		0.05	x	x	x	x	x	x
66	6121	PR-3733	KM 2084/Rasa	F6	7.5	0.0 5	5		1	x	x	x	x	x	x
67	6123	PR-3710	Annabell/CIMMY T 53	F6	2	1.7	3		1.7	x	x	x	x	x	x
68	6125	PR-3767	Gainer/KM-2084	F6	0	1	10		0.5	x	x	x	x	x	x
69	6127	PR-3782	Merlin/SW 1291//Danuta	F6	0	0	0		1	x	x	x	x	x	x
Selekcijas 2. gada audzētava															
70	5294	PR-3994	Washonubet/SW- 1291	F5	1	1.5	0	1	0.5	x	x	x	x	x	x
71	5297	PR-3996	Washonubet/SW- 1291	F5						x	x	x	x	x	x
72	5308	PR-4006	Lysimax/B- 93//Washonubet	F5	0	2	1	2	1.5	x	x	x	x	x	x
73	5309	PR-4007	Lysimax/B- 93//Washonubet	F5	0	1.5	1			x	x	x	x	x	x
74	5324	PR-4020	KM-2084/Kompact	F5	0	0.5	1		1.5	x	x	x	x	x	x
75	5325	PR-4021	KM-2084/Kompact	F5	0	2	1		0.5	x	x	x	x	x	x
76	5326	PR-4022	KM-2084/Kompact	F5	0	0.5	0	1	0.5	x	x	x	x	x	x

4.6 tabula

Plēkšņaino miežu selekcijas līniju pārbaudes rezultāti, Priekuļi 2008

Lauc. Nr. 2008	Šķirne, līnija	Izcelsme	Paaudze	Graudu raža				Sēja-vārpošana, dienas	Veģetācijas periods, dienas	Izturība pret veldri, 1-9	Kopproteīna saturs, %	Cietes saturs, %	Beta-glikāni, %	1000 graudu masa, g	Tilpums, g l ⁻¹	Slimības			
				t ha ⁻¹	Standartnovirze	+/- Ansis	% no Anša									P. melnplauka, vārpas lauc.	Miltresa, 0-4	Brūnsvītrainība, augi lauc.	Tīklkumainība, 0-4
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Konkursa pārbaude																			
8008	PR-3331	Linus/Annabell//L-2421	F8	3.39	0.27	-1.51	125	58	104	8.8	11.4	62.4	4.4	37.9	650	71	0.07	3	3.17
8009	L-3005	Baronesse/L-2380	F12	6.11	0.27	1.21	127	58	106	8.8	11.4	63.0	3.8	44.1	688	25	0.10	6	0.83
8010	PR-3518	L-2905/L-2503	F8	6.23	0.46	1.33	120	59	108	8.3	10.2	63.7	3.7	44.2	689	25	1.17	4	1.67
8011	PR-3512	Linus/Annabell//L-2421	F8	5.89	0.57	0.99	107	58	107	8.5	10.5	63.7	3.8	43.8	693	41	0.73	11	1.67
8012	PR-3361	Bor 88377/Ivana	F8	5.22	0.65	0.32	100	58	107	8.8	11.5	62.9	4.0	49.8	704	3	0.03	3	0.67
8013	L-2797	Rūja/Run8/458	F15	4.88	0.80	-0.02		58	108	8.8	11.6	61.9	4.3	49.2	673	0	0.83	3	1.17
		LSD 0.05		0.39															
Iepriekšējā pārbaude																			
7010	PR-3606	Rūja/Prestige/3/L-2233//Linus/Annabell	F7	4.29	0.83	-0.28	98	54	106	9	10.8	63.0	4	47.0	701	23	0.25	4	1.25
7020	PR-3616	Annabell/L-2544	F7	4.49	0.94	-0.08	99	55	108	9	11.0	62.7	3.9	41.4	689	42	0.25	1	0.55
7024	PR-3385	Tolar/L-2421	F8	4.51	0.84	-0.06	80	59	112	9	9.9	64.3	4.1	50.0	680	35	0.3	7	0.05
7025	PR-3274	L-2233//Linus/Annabell	F8	3.67	0.69	-0.90	103	56	107	9	12.0	61.8	4.1	44.4	620	2	0	6	0.55
7034	PR-3300	Tolar//Linga/#112	F8	4.73	0.46	0.16		56	107	9	10.3	62.7	4.3	48.4	683	35	0.25	18	0.35
		LSD 0.05		0.37															

4.6. tabulas turpinājums

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Kontroles audzētava																			
6026	PR-3615	Annabell/L-2544	F7	2.48	0.36	-2.47	50	59	102	9	14.9	61.1	5.1	41.2	619		0	0.5	1.5
		LSD 0.05		1.07															
Kolekcija																			
kol 120	PR-3522	Sencis//P3 645 C/L-2233	F8	6.88	x	x	x	60	106	9	12.7	61.1	4.7	50.8	695	2	1	1	0.5
kol 121	PR-3645	Prestige/Annabell	F7	4.32	x	x	x	57	104	9	12.3	61.6	4.3	36.5	632	6	0	9	0
kol 124	PR-3611	Rūja/Prestige/3/L- 2233//Linus/Anna bell	F7	4.96	x	x	x	54	108	8	14.6	60.6	4.4	51.7	701	4	0	22	2

4.7 tabula

Līniju no krustojuma kombinācijas Latvijas vietējie/Inari pārbaudes rezultāti, Priekuļi 2008 (bioloģiskos apstākļos)

Laučiņa Nr. 2008	Šķirne, līnija	Izcelsme	Paaudze	Graudu raža			Augsnes noēnojums, %	cera forma 1-9	lapu noliekšanās 1-9	Sēja-vārpošana, dienas	Veģetācijas periods, dienas	Augu garums, cm		Tīklplankumainība, 0-4	piezīmes
				t ha ⁻¹	% no Idumejas	% no Rubiolas						stiebrošanas fāzē	pirms novākšanas		
B130	PR-4828	Latvijas vietējie/Inari	F5	4.61	112	96	70	5	6	68	114	14	75	0	fizioloģiski plankumi
B131	PR-4829	Latvijas vietējie/Inari	F5	4.93	120	102	65	4	7	65	112	23	94	1.5	neizlīdzināts garums
B132	PR-4830	Latvijas vietējie/Inari	F5	4.58	112	95	60	7	5	64	112	10	70	1.5	labs vizuālais vērtējums
B133	PR-4831	Latvijas vietējie/Inari	F5	4.37	107	91	70	3	7	59	107	19	82	1	
B134	PR-4832	Latvijas vietējie/Inari	F5	4.82	118	100	65	5	8	66	108	16	73	0.2	labs vizuālais vērtējums
B135	PR-4833	Latvijas vietējie/Inari	F5	4.20	103	87	60	4	7	65	112	15	95	1	neizlīdzināts garums

Kailgraudu miežu selekcijas līniju pārbaudes rezultāti, Priekuļi 2008

Lauciņa nr. 2008	Šķirne, līnija	Izcelsme	Paaudze	Graudu raža				Sēja-vārpošana, dienas	Veģetācijas periods, dienas	Izturība pret veldri, 1-9	Kopproteīna saturs, %	Cietes saturs, %	Beta-glikāni, %	1000 graudu masa, g	Tilpummasa, g l ⁻¹	Slimības			
				t ha ⁻¹	Standartnovīze	+/- Ansis	% no Anša									P. melnplauka, vārpas lauc.	Miltāsa, 0-4	Brūnsvītāinība, augi lauc.	Tītkumainība, 0-4
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Konkursa pārbaude																			
8002	PR-3528	Filippa/McGwire//Kristaps	F8	4.76	0.46	-0.14	97	56	104	8.8	12.1	63.8	5.4	42.4	772	62	0.27	19	0.40
8003	PR-3414	Filippa/McGwire	F8	4.28	0.37	-0.62	87	56	105	8.8	12.0	63.2	5.1	42.3	754	78	0.67	29	0.57
8004	PR-3415	Filippa/McGwire	F8	4.30	0.34	-0.60	88	58	105	8.8	11.6	63.7	5.4	41.2	757	41	0.37	15	1.17
8005	PR-3419	Filippa/McGwire//Kristaps	F8	4.70	0.60	-0.20	96	57	106	9	12.3	63.8	5.3	40.6	785	25	0.67	43	0.50
8015	K170	Merlin/Linga//Sencis	DH	4.70	0.38	-0.20	96	61	111	8.7	10.8	66.0	4.8	40.3	756	18	1	18	0.73
	LSD 0.05			0.39															
Iepriekšējā pārbaude																			
7035	PR-3443	Merlin/Linga//Sencis wx	F8	3.44	0.56	-1.45	70	56	103	9	11.5	64.8	5.1	36.4	791	83	2	4	0.35
7038	PR-3779	Prestige/CIMMYT 55//KM-2084/Rasa	F7	3.13	0.70	-1.76	64	54	104	9	12.5	63.7	5.3	42.6	787	23	0	99	1
7039	PR-3464	Linus/Annabell//Sencis/Dawn	F8	4.37	0.80	-0.52	89	54	104	9	10.6	65.5	5.3	36.7	759	31	0.05	1	0.3
7040	PR-3770	Annabell/Cimmyt 53//SW-1291	F7	3.45	0.60	-1.44	71	56	104	9	10.5	66.2	4.9	37.2	725	3	0.55	17	0.5
7043	PR-3440	Merlin/Linga wx	F8	3.96	0.63	-0.93	81	57	106	9	10.8	67.4	5.8	35.4	770	100	2	1	0.3
7044	PR-3537	Merlin/Linga//Sencis	F8	3.60	0.65	-1.29	74	58	106	9	11.2	62.3	5.5	34.5	772	150	1	1	0.6
7045	PR-3733	KM 2084/Rasa	F7	3.42	0.67	-1.47	70	56	106	9	12.6	63.3	5.4	42.4	788	48		97	0.35

4.8. tabulas turpinājums

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
7047	PR-3700	KM 2084/B-93	F7	3.44	0.70	-1.45	70	57	106	9	12.3	64.1	5.2	42.0	782	71	0.75	60	0.75
7055	PR-3416	Filippa/McGwire	F8	3.88	0.73	-1.01	79	56	107	9	11.5	64.2	5.2	45.3	785	30	0.5	53	0.75
7057	PR-3767	Gainer/KM-2084	F7	4.24	0.88	-0.65	87	57	107	9	10.8	65.2	5	43.0	783	16	0.35	37	0.6
7059	PR-3484	CDC Dawn/KM-2093	F8	4.04	0.61	-0.85	83	58	107	9	11.3	64.3	5.2	45.2	782	25	0.75	7	0.55
7060	PR-3807	SW1291/3/Tolar/Linga/CIMMYT 112	F8	3.67	0.68	-1.22	75	54	105	9	11.6	64.0	5	42.2	782	71	0.75	85	0.5
7062	PR-3671	SW1291/3/Tolar/Linga/CIMMYT 112	F7	4.60	0.66	-0.29	94	59	109	9	11.1	65.2	5	43.2	793	14	0.5	18	0.3
7065	PR-3475	Abava/Sw1290//L-2421	F8	4.23	0.55	-0.66	86	62	110	8	9.6	67.4	5.3	45.5	787	9	0.55	10	0.55
	LSD 0.05			0.47															
Kontroles audzētava																			
6106	PR-3693	KM 2084/B-93	F7	4.11	0.26	-0.69	86	52	100	9	14.9	61.1	5.1	48.4	738	6	1.5	2	0.5
6120	PR-3782	Merlin/SW 1291//Danuta	F7	3.11	0.04	-1.69	65	57	101	9	11.8	63.5	4.9	44.2	697	16.5		0	0.75
6147	PR-4006	Lysimax/B-93//Washonubet	F6	5.31	0.13	0.51	111	57	105	9	11.2	66.6	5.7	41.8	801	3.5	0.6	4.5	0.25
	LSD 0.05			0.87															
Selekcijas audzētava																			
5520	PR-4022	KM-2084/Kompact	F6	5.31		0.03	101	53	101	9	15.1	62.0	5.1	40.9	791	5		6	0.5
Kolekciju izmēģinājums																			
kol 60	PR-3460	KM-2001/CDC McGwire	F8	4.43		-0.76	85	52	100	9	15.1	62.3	5.2	40.2	785	0	0		1
kol 61	PR-3680	Merlin/SW 1291 wx	F7	4.17		-1.02	80	51	100	9	14.5	63.7	5.5	39.2	791	0	2.5		0
kol 62	PR-3808	SW1291/3/Tolar/Linga/CIMMYT 112	F8	5.15		-0.04	99	53	103	9	16.5	61.1	4.9	42.1	804	0	1	2	0
VPP 40	L14	Merlin/Linga//Sencis	DH	3.06	1.33	-2.91	51	51	100	9	13.9	63.0	5.7	37.9	756	0	0.83	1.0	0.07
VPP 43	PR-3474	Abava/Sw1290//L-2421	F8	3.77	1.06	-2.20	63	59	102	9	12.3	65.1	5.4	42.1	776	2.6	0.33	1.3	1.33

4.8. tabulas turpinājums

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>	<i>9</i>	<i>10</i>	<i>11</i>	<i>12</i>	<i>13</i>	<i>14</i>	<i>15</i>	<i>16</i>	<i>17</i>	<i>18</i>	<i>19</i>	<i>20</i>
VPP 45	L13	CDC MCGwire/Idumeja	DH	3.87	1.00	-2.10	65	55	102	9	11.5	64.4	5.4	41.3	718	1	1.33	2.0	0.17
VPP 49	PR-3473	Abava/SW 1290	F8	4.10	0.38	-1.87	69	57	107	8	11.9	64.4	5.1	44.7	786	0.3	1.07	1.0	0.67
VPP 50	PR-3438	Merlin/Linga wx	F8	3.66	0.26	-2.31	61	53	103	9	13.3	65.5	5.7	37.0	767	3.3	1.67	0.0	0.17
VPP 51	PR-3448	Merlin/Linga//Senci s wx	F8	3.76	0.60	-2.21	63	59	104	8.6	12.9	64.8	5.8	38.1	792	2.3	0.53	1.3	0.23
VPP 52	PR-3487	Rūja/KM 2001	F8	3.67	0.43	-2.30	62	60	105	9	12.7	64.2	5.3	42.8	778	2	0.83	1.3	0.83
VPP 55	PR-3467	Linus/Annabell//Se ncis/Dawn	F8	3.40	0.48	-2.57	57	60	106	8.3	11.5	65.4	4.8	43.2	762	0	0.57	5.3	0.40

4.1.2. Stendes GSI selekcijas materiāla raksturojums

Pētījumā iekļautas 11 līnijas no konkursa (paraugu nr.1-11), viena līnija (paraugs nr. 12) no iepriekšējās šķirņu pārbaudes un 8 līnijas (parauga nr. 13-20) no kontroles audzētavas.

Šo plēkšņaino līniju saimniecisko pazīmju novērtējums apkopots 4.9 tabulā. Līniju ražība variēja no 4,24 līdz 6,32 t ha⁻¹. Kopproteīna saturs atzīmēts robežās no 11.7-13.9%, kas neatbilst alus miežu prasībām (<11.5%), cietes saturs no 60.3-62.2%, beta glikāna saturs no 2.9-3.8%. Līnijas ir atšķirīgas izturībā pret tīklplankumainību un miltrasu. Miežu līnijām 1000 graudu masa variēja no 49,6 līdz 59,7 g, tilpummasa no 649 līdz 715 g l⁻¹. Noderību alus ražošanai raksturo arī ekstraktvielu saturs miežu graudos, jo vairāk, jo labāk. Pārbaudītajiem paraugiem ekstraktvielu iznākums bija 72.8-79.7%. Tikai 4 līnijām tas bija augstāks par 78%, atbilst alus miežu prasībām.

Selekcijas 1. gada audzētava bija iesētas 16 līnijass, kas iegūtas no krustojumiem starp plēkšņainajiem un kailgraudu miežiem. No izvēlētām kombinācijām ietvertas gan plēkšņainās, gan kailgraudu līnijas. No šīm līnijām ģenētiskai analīzei izvēlējās 5 augus. Līniju augu morfoloģiskais raksturojums un iegūto graudu kvalitāte parādīta 4.10 tabulā. Auga garums variēja no 40.0 līdz 64.8 cm, vārpa garums no 5.6 līdz 9.7 cm, graudu skaits vārpā bija no 13.2 līdz 21,7 graudiem, 1000 graudu masa – no 41,6 līdz 62.6 g. Kailgraudu līnijām proteīna saturs graudos bija 12.8- 16.2%, plēkšņainajām -11.6-14.3%. Kailgraudu līnijām bija augstāks beta glikāna saturs (4.2-4.6%) nekā plēkšņainajām līnijām (3.1-3.6%).

2008. gadā katru ģenētiski ar marķieri novērtēto augu izsēja atsevišķi. Novāktas 83 līnijas, kuras neuzrādīja MITE elementa klātbūtni. Līnijām novērtēti augu morfoloģiskie rādītāji, veiktas graudu kvalitātes analīzes, nosakot cieti, kopproteīna un beta glikāna saturu. Dati apkopoti 4.11. tabulā. Izlasītie un ģenētiski novērtētie augi no konkursa, iepriekšējās pārbaudes un kontroles audzētavas līnijām (paraugi nr. 4 -20), izsējot tos individuāli, daļa no paraugiem parādīja heterogenitāti attiecībā uz gan uz morfoloģiskām pazīmēm, gan graudu kvalitāti – īpaši uz kopproteīna saturu (piem. paraugi 6, 9, 10 u.c.), citi bija homogēni (paraugs 7, 8, 12, 14). Izsējot individuāli augus no krustojuma kombinācijām starp plēkšņainajiem un kailgraudu miežiem (paraugu nr.no 21-36), iegūtās jaunās līnijas raksturojas ar paaugstinātu kopproteīna saturu. Paraugiem 29 un 30 kopprpteīna saturs bija no 13- 13.9%, paraugam 31 no 12.8-14.8%, paraugam 33 no 15.3-15,9%, paraugam 28 no 14.7-16.7%, paraugam 21 no 15.8-18.7%. Šie paraugi raksturojas ar dažādību arī pēc augu un vārpu garuma, graudu skaita un masas no vārpa. Turpmāk ir nepieciešams veikt rūpīgu ģenētisko analīzi, lai veiktu perspektīvāko līniju izlasi.

4.9. tabula

Vasaras plēkšņaino miežu līniju graudu raža un kvalitātes rādītāji, Stendes GSI, 2007

Parauga nr.	Līnija	Miežu parauga izcelsme	Paudze	Raža, t ha ⁻¹	Sēja- vārpošana, dienas	Slimības		1000 graudu masa, g	Tilpum- masa, g l ⁻¹	Ekstraktvi- elas, %	Kop- proteīns , %	Ciete, %	β- glikāns, %
						Tīklplank umainība	Miltrasa						
1	12714	2000-28 Courtine/Vintor	F7	4,00	58	1-2	1	58,5	686,5	77,3	13,9	61,4	2,9
2	12715	„	F7	4,42	61	3	0	56,9	679,5	77,8	13,2	61,0	3,4
3	12717	2000-29 Candice/MNR 120	F7	4,24	61	3	1-2	49,6	707,0	75,5	13,8	60,5	3,3
4	12718	„	F7	5,12	62	2	1-2	50,6	649,5	76,3	11,4	61,8	2,9
5	12720	2000-30 Beate/9186	F7	5,12	57	3	1	50,7	703,5	76,3	12,4	62,0	3,2
6	12723	2000-33 Magda/Thuringia	F7	5,88	57	3	2-3	53,3	703,0	76,2	11,9	62,0	3,3
7	12725	2000-36 Sv86107/Manič 459	F7	4,84	62	1-2	2-3	53,9	675,0	72,8	13,0	60,6	3,5
8	12736	2000-51 Eunova/11556	F7	4,28	63	2-3	1	59,7	715,0	77,5	13,0	61,6	3,2
9	12700	99-30 F 1 98-31/Candice	F8	4,26	62	3	2	51,0	693,5	75,3	12,7	61,2	3,1
10	12702	99-48 Ca 714102/Margit	F8	4,52	58	1-2	2-3	51,5	712,0	75,4	13,1	60,3	3,8
11	12710	2000-26 SB 90201/Bor 94149	F7	5,08	62	2	1	52,8	677,5	77,6	12,7	61,6	3,5
12	12735	2000-50 Margit/9089	F7	4,86	64	2	1	52,6	681,0	77,3	11,8	61,7	3,2
13	12744	F01 - Lipeņ/P3681//Verner	F6	5,15	60	2	2	54,3	720,0	76,4	12,2	61,6	3,4
14	12753	F 01-18 Rodos/Zadornij//Ohara	F6	4,48	60	2	1	53,9	708,5	77,7	13,9	60,6	3,7
15	12754	„	F6	6,00	61	1	2-3	53,2	707,0	77,6	12,7	61,2	3,4
16	12757	F 01-19 Saloon/Grisante//Saloon	F6	5,52	59	2-3	2	56,7	690,0	78,1	12,4	61,6	3,5
17	12758	„	F6	5,48	60	2	2	51,6	708,0	79,7	11,8	62,2	3,7
18	12761	F 01-20 Viskosa/Harington//Viskosa	F6	4,32	65	3-4	0	54,2	681,0	77,2	12,2	61,9	3,4
19	G 131	Ansis/WW8208	DH	6,32	63	2	0	58,0	689,0	79,2	13,1	60,7	3,5
20	Kristaps	CF 79502/Stende 9023		5,80	64	1-2	1	51,7	684,0	79,6	11,7	61,4	3,3

F4 paaudzes līniju augu morfoloģisko pazīmju novērtējums, Stende, 2007

Parauga nr.	Līnijas Nr	Kombinācija, izcelsme	Auga garums, cm	Stiebru skaits	Vārpas garums, cm	Graudu skaits vārpā	Graudu masa vārpā, g	1000 graudu masa, g	Koppr oteīns, %	Ciete, %	Beta glikāns, %	1000 graudu masa, g
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
21	564k*	K 04-9 Justina/ L-302	64.4	2.8	5.96	14.35	0.86	60.0	-	-	-	60.0
22	568p* *	K 04-9 Justina/ L-302	57.0	3.6	7.16	18.7	1.12	59.7	11.6	61.9	3.1	59.7
23	F3- 578p	K 04-10 Simba/ Wanubet	64.2	3.6	8.04	18.4	1.16	62.5	13.9	60.5	3.5	62.5
24	F3- 589k	K 04-10 Simba/ Wanubet										
25	F3- 614k	K 04-18 Wanubet/McGwire	58.2	3.4	8.16	19.8	0.95	47.8	15.7	61.3	4.4	47.8
26	F3- 622k	K 04-20 Simba/ Wanubet	45.8	3.2	5.96	13.2	0.59	44.3	15.9	62.3	4.6	44.3
27	F3- 627k	K 04 -20 Simba/ Wanubet	40.0	2.0	7.26	17.6	0.86	48.8				48.8
28	F3- 647k	K 04-21 F1 03- 24(G131/Danuta/ Freedom	64.8	3.0	8.0	19.3	1.04	53.5	16.1	61.7	4.5	53.5
29	F3- 672p	K 04-21 F1 03- 24(G131/Danuta/ Freedom	63.2	2.6	9.7	21.7	1.25	57.4	14.3	60.4	3.6	57.4

4.10. tabulas turpinājums

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>	<i>9</i>	<i>10</i>	<i>11</i>	<i>12</i>	<i>13</i>
30	F3-689p	K 04-22 F1 03-24(G131/Danuta)/ KM 2045	58.6	3.8	8.04	19.2	1.08	56.3	14.1	61.0	3.4	56.3
31	F3-699k	K 04-22 F1 03-24(G131/Danuta)/ KM 2045	54.6	2.6	7.94	19.8	0.98	49.5	13.3	61.5	4.2	49.5
32	F3-720k	K 04-27 F1 03-13 (Linga/Kristaps)/ SW1291	54.6	3.0	7.28	18.9	0.94	49.6	16.2	60.6	4.3	49.6
33	F3-723p	K 04-27 F1 03-13 (Linga/Kristaps)/ SW1291	51.6	2.8	5.6	17.5	0.92	52.8	14.4	59.9	3.5	52.8
34	F3-772p	K 04-38 Wanubet/Kristaps	63.0	2.0	7.4	21.1	1.11	52.1	12.5	61.4	3.4	52.1
35	F3-786k	K 04-38 Wanubet/Kristaps	62.0	3.6	7.5	21.6	0.91	41.6	13.4	63.2	4.5	41.6
36	F3-849k	K 04-42 Gāte/ SW1291	50.2	3.0	7.42	19.9	0.94	47.0	12.8	63.5	4.4	47.0

*kails

**plēkšņains

Vasaras miežu līniju morfoloģiskie un graudu kvalitātes rādītāji, Stendes GSI, 2008

4.11. tabula

Parauga nr.	Līnija	Miežu parauga izcelsme	Paaudze	Auga garums, cm	Vārpas garums, cm	Graudu skaits vārpā	Graudu masa no vārpas	1000 graudu masa, g	Kopproteīns, %	Ciete, %	β-glikāns, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
4-3	12718	2000-29 Candice/MNR 120	F8	76.3	9.0	15.5	0.83	50.39	—	—	—
4-4				83.2	8.3	18.3	0.87	47.73	12.1	61.6	3.8
4-8				81	8.8	20.8	0.90	42.90	14.9	60.3	3.4
4-10				76.4	8.7	20.7	1.01	48.41	13.4	60.8	3.6
6-1	12723	2000-33 Magda/Thuringia	F8	65.8	5.7	15.5	0.76	48.30	12.2	61.9	3.7
6-2				62.2	5.3	14.6	0.65	43.96	12.6	61.2	3.7
6-4				68.4	6.8	17.1	0.91	52.22	13.2	61.2	3.5
6-5				63.6	8.2	20.1	1.09	54.33	15.7	60.2	3.6
6-7				62	6.4	16.7	0.87	51.89	13.5	61.2	3.6
7-1	12725	2000-36 Sv86107/Manič 459	F8	70.8	7.0	17.6	0.73	41.45	15	59.8	3.6
7-2				78.6	7.8	20.0	0.95	47.34	14.3	60.6	3.8
7-3				76.8	9.1	21.5	1.02	47.34	14.9	60.1	3.8
7-4				74.4	7.9	20.0	1.03	51.20	14	61.1	4
7-6				75.6	9.0	21.0	1.09	51.54	15.3	60	3.8
7-8				80.4	8.3	23.8	1.29	54.06	15.8	60.1	3.8
8-2	12736	2000-51 Eunova/11556	F8	75.6	7.8	21.0	1.14	54.05	14.7	61.3	3.8
8-3				79.6	8.3	22.5	1.21	52.41	14.4	61.2	3.7
8-4				78.8	6.9	18.7	0.97	51.08	12.8	62.2	3.9
8-8				77	7.8	21.4	1.22	56.52	14.7	61.5	4
8-10				76.8	8.1	20.5	1.22	59.29	12.9	62.3	3.5
9-4	12700	99-30 F 1 98-31/Candice	F9	76.8	8.1	21.9	1.25	56.75	13.6	61.5	3.8
9-5				77.8	7.5	21.5	1.02	46.64	12.8	61.4	3.9
9-6				78.4	7.6	21.0	1.02	48.18	11.3	62	3.7
9-8				74.4	7.4	18.1	0.82	45.34	13.6	60.9	3.7
9-9				80.6	8.7	21.9	1.11	50.81	14.5	60.8	3.7
9-10				77.4	7.8	20.2	1.03	49.99	13.9	60.5	4.1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
10-1	12702	99-48 Ca 714102/Margit	F9	71	5.5	15.7	0.66	42.49	13.2	60.3	3.6
10-3				66.6	5.2	14.1	0.61	43.09	14	60.6	3.5
10-4				71.2	6.7	17.5	0.80	46.05	14.2	60.6	3.6
10-6				75	6.3	17.0	0.77	45.03	11.3	61.9	3.4
10-10				70	6.9	17.6	0.87	48.39	13.8	60.7	4
12-3	12735	2000-50 Margit/9089	F8	71.4	6.7	21.8	1.18	53.59	11.8	61.7	3.3
12-4				72.4	6.4	20.1	1.09	52.98	11.7	61.8	3.9
12-6				74.2	7.3	21.8	1.07	48.79	12.7	61.5	3.7
14-1	12753	F 01-18 Rodas/Zadornij//Ohara	F7	80	8.0	18.5	0.90	48.45	13.3	61.2	4
14-4				74	7.2	16.4	0.78	47.46	14	60.9	3.8
14-5				92	8.2	16.4	0.74	45.41	–	–	–
14-8				83.8	8.9	18.9	0.89	46.62	13.7	61.1	4.1
14-10				85.4	8.4	20.4	1.08	52.95	13	61.6	3.9
15-5	12754	F 01-18 Rodas/Zadornij//Ohara	F7	76.8	6.2	19.7	0.96	48.52	12.7	61.2	3.7
15-6				79.8	6.2	20.7	1.10	53.03	12.2	61.7	3.8
15-10				84.8	6.9	20.9	1.06	50.54	13.1	60.9	3.8
16-2	12757	F 01-19 Saloon/Grisante//Saloon	F7	62.2	9.1	20.3	1.09	53.88	13.3	62.4	3.8
16-6				76.25	8.3	20.2	1.12	54.90	13.5	61.2	4
16-8				75.6	9.8	24.0	1.55	64.33	14.6	60.3	3.8
17-3	12758	F 01-19 Saloon/Grisante//Saloon	F7	71	7.9	17.9	0.79	43.79	12.2	61.2	3.9
17-9				65	8.1	17.8	0.92	50.18	–	–	–
17-10				75.2	9.0	20.5	1.12	54.79	12.9	61.2	3.9
20-1	Kristaps	CF 79502/Stende 9023	X	68.6	6.7	21.6	1.07	48.81	14.1	60.8	3.7
20-2				72.6	7.0	21.4	1.03	47.23	13.9	60.6	3.7
20-3				70	6.7	21.4	0.99	46.37	13.1	61	3.6
20-6				74.4	6.4	20.6	0.89	42.38	12	60.9	3.8
20-7				73.2	6.7	19.9	0.87	43.52	13	61.4	3.6
21-1	564k*	K 04-9 Justina/ L-302	F5	74.8	5.7	14.6	0.77	53.03	–	–	–
21-2				62.4	5.8	16.5	0.97	58.66	18.7	60.7	4.8
21-4				72.6	5.5	16.9	0.92	54.59	15.8	61.6	4.7

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
22-3	568p**	K 04-9 Justina/ L-302	F5	69	9.6	21.3	1.10	51.65	15.5	59.6	3.5
22-4				64.8	7.8	17.3	0.95	54.27	14.2	60.7	3.8
22-5				66.4	7.1	17.3	0.92	53.23	13.1	61	3.6
26-2	F3-622k	K 04-20 Simba/ Wanubet	F5	65	6.8	16.6	0.79	47.47	15.4	62.8	5.3
26-3				59.4	5.8	15.0	0.65	43.20	14	63.4	4.7
26-4				64	6.4	15.2	0.66	42.70	14.8	64.2	5.4
26-5				59.2	5.4	13.6	0.55	39.78	11.8	64.6	4.9
28-1	F3-647k	K 04-21 F1 03-24(G131/Danuta/ Freedom	F5	75.2	7.2	19.1	0.95	49.70	14.7	62.3	5
28-2				72.4	6.7	15.8	0.78	48.31	–	–	–
28-3				72.4	6.6	16.4	0.84	51.26	16.7	60.8	5
28-4				84.4	8.0	17.6	0.89	49.91	16.1	61.6	4.9
28-5				69.6	6.1	14.2	0.69	48.59	16.4	60.8	4.9
29-1	F3-672p	K 04-21 F1 03-24(G131/Danuta/ Freedom	F5	77.8	8.2	22.2	1.05	47.39	13.3	60.6	3.7
29-2				76.8	7.7	19.1	0.88	45.88	13	60.7	3.7
29-3				87	9.6	21.8	1.01	46.06	13.9	60.4	3.9
29-5				81.6	9.4	27.7	1.51	52.64	13.9	61	4
30-3	F3-689p	K 04-22 F1 03-24(G131/Danuta)/ KM 2045	F5	66.6	7.0	18.6	0.93	48.95	13.9	61.9	3.6
30-4				66	7.3	18.0	0.95	51.80	13.4	61.5	3.6
30-5				68.75	6.4	17.9	0.88	48.96	11.3	61.9	3.5
31-1	F3-699k	K 04-22 F1 03-24(G131/Danuta)/KM 2045	F5	82	7.8	18.0	0.78	43.06	14.6	61.8	4.9
31-2				80.6	7.4	18.5	0.83	44.05	12.8	62.9	4.8
31-3				86.6	8.6	18.2	0.91	50.17	14.8	61.2	4.8
33-3	F3-723p	K 04-27 F1 03-13 (Linga/Kristaps)/ SW1291	F5	79.4	7.5	21.9	1.04	47.35	15.3	59.9	3.8
33-4				73	6.5	17.0	0.84	48.50	15.9	60	3.9
33-5				74.4	6.8	19.8	1.06	53.24	15.3	59.8	3.8
36-4	F3-849k	K 04-42 Gāte/ SW1291	F5	71.2	8.7	21.9	1.02	46.64	16.8	60.4	4.4
36-5				61.2	7.6	16.5	0.73	43.78	–	–	–

* kails ** plēkšņains

4.2. *Bmy1* gēna un divu *Amy32b* gēna lokusu genotipēšanas rezultātu analīze

2007.-2008. gados divi miežu gēni tika genotipēti selekcijas materiālā no divām Latvijas selekcijas iestādēm. *Bmy1* (kodē endospermam specifisku beta-amilāzi) un *Amy32b* (kodē skāba pI alfa amilāzi) tika genotipēti ar nolūku raksturot šo gēnu ģenētisko daudzveidību selekcijas materiālā, ieskaitot alēļu un haplotipu sadali un biežumus. Tika ieteikts izmantot turpmākajā darbā genotipēšanas datus, lai identificētu selekcijas līnijas perspektīvas atlasei pēc noderības alus ražošanai vai lopbarībai. Kopumā *Bmy1* gēnam tika genotipēti trīs lokusi, ieskaitot:

1. MITE elementa esamība/trūkums (126 bp indel) 3. intronā;
2. (1+6) bp indel 3. intronā esamība/trūkums;
3. cSNP C⁶⁹⁸→T 4. eksonā (gēna kodējošās daļas SNP).

Amy32b gēnam tika genotipēti divi lokusi.

4.2.1. *Bmy1* un *Amy32b* gēnu genotipēšanas dati Valsts Priekuļu LSI un Valsts Stendes GSI selekcijas materiālam

Apkopotie genotipēšanas dati Valsts Priekuļu LSI un Valsts Stendes GSI miežu selekcijas līnijām sniegti 4.12. un 4.13. tabulā.

4.12. tabula

Bmy1 un *Amy32b* gēnu genotipēšanas dati Valsts Priekuļu LSI miežu selekcijas līnijām

Parauga Nr.	Lauciņa Nr.	Līnija	Izcelsme	Paaudze	Plēkšņainis (p)/kails (k)	MITE 126 bp indel	(1 + 6) bp indel	<i>MspI</i> saita cSNP C ⁶⁹⁸ →T	<i>XhoI</i> saita SNP G ²²⁷⁰ →A	<i>XbaI</i> saits
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	8002	PR-3522	Sencis//P3 645 C/L-2233	F7	p	ir	ir	TT	nav (AA)	ir
2	8003	L-3134	Rūja/Baronesse//Baronesse/Ida	F9	p	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
3	8004	PR-3269	Linus/Baronesse	F8	p	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
4	8005	L-3005	Baronesse/L-2380 (Ww7291/Dina)	F11	p	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
5	8006	PR-3518	L-2905/L-2503 (Dina/Run,Gastiņec/I mula)	F7	p	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
6	8007	PR-3512	Linus/Anabell//L-2421 (Rūja/Bingo)	F7	p	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
7	8008	PR-3361	Bor 88377/Ivana	F7	p	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
8	8009	PR-3245	97B741sexmsg6/Thuringa//Gāte	F8	p	ir	ir	TT	nav (AA)	ir
9	8010	Rubiola (L-2797)	Rūja/Run8/458	F14	p	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
10	7007	PR-3606	Rūja/Prestige/3/L-2233//Linus/Annabell	F6	p	ir (50%) / nav (50%)	ir (50%) / nav (50%)	CT	nav (AA)	ir
11	7009	K165	Merlin/Linga//Sencis	DH	p	ir (50%) / nav (50%)	ir (20%) / nav (80%)	CT	nav (AA)	ir

4.12 tabulas turpinājums

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
12	7012	PR-3331	Linus/Annabell//L-2421 (Rūja/Bingo)	F7	p	ir (50%) / nav (50%)	ir	TT	nav (AA)	
13	7022	PR-3274	L-2233//Linus/Annabell	F7	p	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
14	7023	PR-3287	Tolar/Idumeja	F7	p	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
15	7025	PR-3645	Prestige/Annabell	F6	p	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
16	7029	PR-3300	Tolar//Linga/#112	F7	p	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
17	7030	PR-3515	Mette/Tolar	F7	p	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
18	7032	PR-3514	Tolar/Kristaps	F7	p	nav (95%)	ir	TT	nav (AA)	ir
19	7034	L14	Merlin/Linga//Sencis	DH	k	nav (95%)	nau (95%)	CC	nav (AA)	ir
20	7035	PR-3528	Filippa/McGwire//Kristaps	F7	k	ir (50%) / nav (50%)	ir (50%) / nav (50%)	CT	nav (AA)	ir
21	7037	PR-3460	KM-2001/CDC McGwire	F7	k	ir (50%) / nav (50%)	ir	TT	nav (AA)	ir
22	7038	PR-3464	Linus/Annabell//Sencis/Dawn	F7	k	ir (97%)	ir	TT	nav (AA)	ir
23	7039	PR-3414	Filippa/McGwire	F7	k	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
24	7040	L13	CDC MCGwire/Idumeja	F7	k	ir (50%) / nav (50%)	ir	TT	nav (AA)	ir
25	7042	PR-3474	Abava/Sw1290//L-2421	F7	k	ir (50%) / nav (50%)	ir	TT	nav (AA)	ir
26	7043	PR-3415	Filippa/McGwire	F7	k	ir (50%) / nav (50%)	ir	TT	nav (AA)	ir
27	7044	PR-3419	Filippa/McGwire//Kristaps	F7	k	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
28	7045	PR-3416	Filippa/McGwire	F7	k	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
29	7047	PR-3440	Merlin/Linga	F7	k	nav	nav	CC	nav (AA)	ir
30	7048	PR-3473	Abava/SW 1290	F7	k	ir	ir	TT	ir (GG)	ir
31	7049	PR-3484	CDC Dawn/KM-2093	F7	k	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
32	7050	PR-3438	Merlin/Linga	F7	k	nav	ir	TT	ir (GG)	ir
33	7052	PR-3448	Merlin/Linga//Sencis	F7	k	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
34	7053	PR-3537	Merlin/Linga//Sencis	F7	k	ir (60%) / nav (40%)	ir	TT	nav (AA)	ir

4.12. tabulas turpinājums

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
35	7054	PR-3487	Rūja/KM 2001	F7	k	ir (30%) / nav (70%)	ir	TT	nav (AA)	ir
36	7055	PR-3807	SW1291/3/Tolar//Linga/CIMMYT 112	F7	k	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
37	7057	PR-3467	Linus/Annabell//Sencis/Dawn	F7	k	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
38	7058	PR-3462	KM-2001/CDC McGwire	F7	k	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
39	7059	PR-3475	Abava/Sw1290//L-2421	F7	k	ir (98%)	ir	TT	ir (GG)	ir
40	7060	K170	Merlin/Linga//Sencis	DH	k	ir	ir	TT	ir (GG)	ir
41	6033	PR-3385	Tolar/L-2421 (Rūja/Bingo)	F7	p	ir (50%) / nav (50%)	ir	TT	nav (AA)	ir
42	6034	PR-3609	Rūja/Prestige/3/L-2233//Linus/Annabell	F6	p	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
43	6045	PR-3615	Annabell/L-2544 (Nancy/Dina)	F6	p	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
44	6047	PR-3616	Annabell/L-2544 (Nancy/Dina)	F6	p	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
45	6068	PR-3611	Rūja/Prestige/3/L-2233//Linus/Annabell	F6	p	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
46	6071	PR-3670	SW1291/3/Tolar//Linga/CIMMYT 112	F6	k	ir (50%) / nav (50%)	ir	TT	nav (AA)	ir
47	6072	PR-3672	SW1291/3/Tolar//Linga/CIMMYT 112	F6	k	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
48	6074	PR-3443	Merlin/Linga//Sencis	F7	k	nav	ir	TT	ir (GG)	ir
49	6077	PR-3680	Merlin/SW 1291	F6	k	nav	ir	TT	ir (GG)	ir
50	6078	PR-3682	Merlin/SW 1291	F6	k	nav	ir	TT	ir (GG)	ir
51	6085	PR-3781	Merlin/SW 1291//Danuta	F6	k	ir (99%)	ir	TT	ir (GG)	ir
52	6087	PR-3775	KM-2084/B-93//Lawina k	F6	k	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
53	6088	PR-3695	KM 2084/B-93	F6	k	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
54	6089	PR-3779	Prestige/CIMMYT 55//KM-2084/Rasa	F6	k	ir (99%)	ir	TT	nav (AA)	ir
55	6090	PR-3808	SW1291/3/Tolar//Linga/CIMMYT 112	F7	k	ir	ir	TT	nav (AA)	ir
56	6091	PR-3809	Gainer/KM-2084	F6	k	nav	nau	CC	nav (AA)	ir
57	6092	PR-3810	Gainer/KM-2084	F6	k	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
58	6101	PR-3768	Gainer/KM- 2084	F6	k	nav	nau	CC	nav (AA)	ir
59	6103	PR-3770	Annabell/Cimmyt 53//SW-1291	F6	k	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
60	6105	PR-3671	SW1291/3/Tolar//Linga/CIMMYT 112	F6	k	nav	ir	TT	nav (AA)	ir

4.12. tabulas turpinājums

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
61	6106	PR-3700	KM 2084/B-93	F6	k	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
62	6107	PR-3693	KM 2084/B-93	F6	k	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
63	6108	PR-3705	Rūja/KM 2001	F6	k	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
64	6118	PR-3725	KM 2001/CDC McGwire//Klinta	F6	k	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
65	6119	PR-3732	KM 2084/Rasa	F6	k	ir (70%)	ir	TT	nav (AA)	ir
66	6121	PR-3733	KM 2084/Rasa	F6	k	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
67	6123	PR-3710	Annabell/CIMMYT 53	F6	k	ir	ir	TT	nav (AA)	ir
68	6125	PR-3767	Gainer/KM- 2084	F6	k	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
69	6127	PR-3782	Merlin/SW 1291//Danuta	F6	k	nav	ir	TT	ir (GG)	ir
70	5294	PR-3994	Washonubet/SW- 1291	F5	k	ir (50%) / nav (50%)	ir	TT	nav (AA)	ir
71	5295	PR-3995	Washonubet/SW- 1291	F5	k	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
72	5308	PR-4006	Lysimax/B- 93//Washonubet	F5	k	nav	ir	TT	ir/nav (AG)	ir
73	5309	PR-4007	Lysimax/B- 93//Washonubet	F5	k	nav	ir	TT	ir (GG)	ir
74	5324	PR-4020	KM-2084/Kompact	F5	k	ir	ir	TT	nav (AA)	ir
75	5325	PR-4021	KM-2084/Kompact	F5	k	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
76	x5326	PR-4022	KM-2084/Kompact	F5	k	ir (30%) / nav (70%)	ir	TT	nav (AA)	ir
77	4820	Bioloģis kajā laukā	Latvijas vietējie/Inari	F4	p	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
78	4821		Latvijas vietējie/Inari	F4	p	nav	nau	CC	nav (AA)	ir
79	4822		Latvijas vietējie/Inari	F4	p	ir	ir	TT	nav (AA)	ir
80	4823		Latvijas vietējie/Inari	F4	p	ir (50%) / nav (50%)	ir (50%) / nav (50%)	CT	nav (AA)	ir
81	4824		Latvijas vietējie/Inari	F4	p	ir (50%) / nav (50%)	ir	TT	nav (AA)	ir
82	4825		Latvijas vietējie/Inari	F4	p	nav	nau	CC	nav (AA)	ir
83	4826		Latvijas vietējie/Inari	F4	p	ir	ir	TT	nav (AA)	ir
84	4827		Latvijas vietējie/Inari	F4	p	ir	ir	TT	nav (AA)	ir
85	4828		Latvijas vietējie/Inari	F4	p	nav	nau		nav (AA)	ir

4.12. tabulas turpinājums

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
86	4829	Bioloģis kajā laukā	Latvijas vietējie/Inari	F4	p	ir (30%) / nav (70%)	ir (30%) / nav (70%)	CT	nav (AA)	ir
87	4830		Latvijas vietējie/Inari	F4	p	ir	ir (90%)	TT	nav (AA)	ir
88	4831		Latvijas vietējie/Inari	F4	p	ir (50%) / nav (50%)	ir	TT	nav (AA)	ir
89	4832		Latvijas vietējie/Inari	F4	p	ir (70%) / nav (30%)	ir	TT	nav (AA)	ir
90	4833		Latvijas vietējie/Inari	F4	p	ir (50%) / nav (50%)	ir (50%) / nav (50%)	CT	nav (AA)	ir
91	4834		Latvijas vietējie/Inari	F4	p	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
92	4835		Latvijas vietējie/Inari	F4	p	nav	nau	CC	nav (AA)	ir
93	4836		Latvijas vietējie/Inari	F4	p	nav	nau	CC	nav (AA)	ir
94	4837		Latvijas vietējie/Inari	F4	p	nav	nau	CC	nav (AA)	ir
95	4838		Latvijas vietējie/Inari	F4	p	ir	ir	TT	nav (AA)	ir
96	4839		Latvijas vietējie/Inari	F4	p	nav	nau	CC	nav (AA)	ir
97	4840		Latvijas vietējie/Inari	F4	p	nav	ir (50%) / nav (50%)	CT	nav (AA)	ir
98	4841		Latvijas vietējie/Inari	F4	p	ir (70%) / nav (30%)	nau	CC	nav (AA)	ir
99	4842		Latvijas vietējie/Inari	F4	p	ir (50%) / nav (50%)	nau	CC	nav (AA)	ir
100	4843		Latvijas vietējie/Inari	F4	p	ir (50%) / nav (50%)	ir (50%) / nav (50%)	CT	nav (AA)	ir

No 100 Valsts Priekuļi LSI miežu selekcijas genotipētām līnijām 28 līnijas ir heterogēnas attiecībā uz MITE elementu, 10 – attiecībā uz *Bmy1* gēna (1+ 6) indel, 1 – attiecībā uz *XhoI* saitu un visas – attiecībā uz *XbaI* saitu *Amy32b* gēnā. 8 gadījumos kopā ar MITE elementa heterogenitāti novērojām (1+ 6) indel heterogenitāti (4.12. tabula). Labvēlīgā *Bmy1* gēna 4. eksona C⁶⁹⁸ alēle tika atrasta gan homozigotiskā, gan heterozigotiskā stāvoklī, kopumā var secināt, ka šī alēle ir daudz biežāk sastopama Valsts Priekuļu LSI selekcijas materiālā, salīdzinot ar Valsts Stendes GSI līnijām.

***Bmy1* un *Amy32b* gēnu genotipēšanas dati Valsts Stendes GSI miežu selekcijas līnijām**

LUB I Nr.	Līnijas Nr.	Izcelsme	MITE 126 bp indel	(1 + 6) bp indel	<i>MspI</i> saita cSNP C ⁶⁹⁸ →T	<i>XhoI</i> saita SNP G ²²⁷⁰ →A	<i>XbaI</i> saits
1	2	3	4	5	6	7	8
Konkursa pārbaude							
1	12714	2000-28 Courtine/Vintor	ir	ir	TT	nav (AA)	ir
2	12715	2000-28 Courtine/Vintor	ir (99%)	ir	TT	nav (AA)	ir/nav
3	12717	2000-29 Candice/MNR 120	ir (99%)	ir	TT	nav (AA)	ir
4	12718	2000-29 Candice/MNR 120	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
5	12720	2000-30 Beate/9186	nav (99%)	ir	TT	nav (AA)	ir
6	12723	2000-33 Magda/Thuringia	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
7	12725	2000-36 Sv86107/Manič 459	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
8	12736	2000-51 Eunova/11556	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
9	12700	99-30 F 1 98-31/Candice	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
10	12702	99-48 Ca 714102/Margit	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
11	12710	2000-26 SB 90201/Bor 94149	nav (99%)	ir	TT	nav (AA)	ir
Iepriekšējā pārbaude							
12	12735	2000-50 Margit/9089	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
Kontroles audzētava							
13	12744	F01 - Lipen/P3681// Verner	ir (60%) / nav (40%)	ir	TT	nav (AA)	ir
14	12753	F 01-18 Rodos/Zadornij// Ohara	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
15	12754		nav	ir	TT	nav (AA)	ir
16	12757	F 01-19 Saloon/Grisante// Saloon	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
17	12758		ir (30%) / nav (70%)	ir	TT	nav (AA)	ir

4. 13. tabulas turpinājums

1	2	3	4	5	6	7	8
18	12761	F 01-20 Viskosa/Harington//Vi skosa	ir (60%) / nav (40%)	ir	TT	nav (AA)	ir
19	G 131	Ansis/WW8208	nav (90%)	ir	TT	nav (AA)	ir
20	Kristaps	CF 79502/Stende 9023	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
Selekcijas audzētava							
21/1	564	K 04-9 Justina/ L-302	nav	ir	TT	ir (GG)	ir
2			nav	ir	TT	ir (GG)	ir
3			nav	ir	TT	ir/nav (AG)	ir
4			nav	ir	TT	ir (GG)	ir
5			nav	ir	TT	ir (GG)	ir
22/1	568	K 04-9	nav (99%)	ir	TT	nav (AA)	ir
2			nav	ir	TT	nav (AA)	ir
3			nav	ir (50%) / nav (50%)	CT	nav (AA)	ir
4			nav	ir	TT	nav (AA)	ir
5			nav	ir	TT	nav (AA)	ir
23/1	578	K 04-10 Simba/ Wanubet	ir	ir	TT	ir/nav (AG)	ir
2			ir (99%)	ir	TT	nav (AA)	ir
3			ir	ir	TT	ir/nav (AG)	ir
4			ir	ir	TT	nav (AA)	ir
5			ir	ir	TT	ir/nav (AG)	ir
24/1	589	K 04-10	ir	ir	TT	Ir (GG)	ir
2			ir	ir	TT	ir (GG)	ir
3			ir	ir	TT	ir (GG)	ir
4			ir	ir	TT	ir (GG)	ir
5			ir (70%) / nav (30%)	ir	TT	ir (GG)	ir
25/1	614	K 04-18 Wanubet/McGwire	ir (50%) / nav (50%)	ir	TT	ir (GG)	ir
2			ir	ir	TT	ir (GG)	ir
3			ir	ir	TT	ir (GG)	ir
4			ir (98%)	ir	TT	ir/nav (AG)	ir
5			ir (99%)	ir	TT	ir/nav (AG)	ir
26/1	622	K 04-20 Merlin/KM 2045	nav	ir	TT	Ir (GG)	ir
2			nav	ir	TT	Ir (GG)	ir
3			nav	ir	TT	Ir (GG)	ir
4			nav	ir	TT	Ir (GG)	ir
5			nav	ir	TT	Ir (GG)	ir

4.13. tabulas turpinājums

1	2	3	4	5	6	7	8
27/1	627	K 04 -20 Merlin/KM 2045	ir (90%)	ir	TT	nav (AA)	ir
2			ir (90%)	ir	TT	nav (AA)	ir
3			ir (90%)	ir	TT	ir (GG)	ir
4			ir (90%)	ir	TT	nav (AA)	ir
5			ir (80%) / nav (20%)	ir	TT	Ir (GG)	ir
28/1	647	K04-21 F1 03- 24{G131/Danuta/Free dom	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
2			nav	ir	TT	nav (AA)	ir
3			nav	ir	TT	nav (AA)	ir
4			nav	ir	TT	nav (AA)	ir
5			nav	ir	TT	nav (AA)	ir
29/1	672	K 04-21 F1 03- 24{G131/Danuta/Free dom	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
2			nav	ir	TT	nav (AA)	ir
3			nav	ir	TT	nav (AA)	ir
4			nav	ir	TT	nav (AA)	ir
5			nav	ir	TT	nav (AA)	ir
30/1	689	K 04-22 F1 03- 24(G131/Danuta)/KM 2045	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
2			nav	ir	TT	nav (AA)	ir
3			nav	ir	TT	nav (AA)	ir
4			nav	ir	TT	nav (AA)	ir
5			nav	ir	TT	nav (AA)	ir/nav
31/1	699	K 04-22 F1 03- 24(G131/Danuta)/KM 2045	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
2			nav	ir	TT	nav (AA)	ir
3			nav	nav (99%)	CC	nav (AA)	ir
4			nav	ir(50%) / nav(50%)	CT	nav (AA)	ir
5			nav	nav	CC	nav (AA)	ir
32/1	720	K 04-27 F1 03-13 (Linga/Kristaps)/SW1 291		ir	TT	nav (AA)	ir
2			ir (30%) / nav (70%)	ir	TT	nav (AA)	ir
3			ir	ir	TT	nav (AA)	ir
4			ir (30%) / nav (70%)	ir	TT	nav (AA)	ir
5			ir (30%) / nav (70%)	ir	TT	nav (AA)	ir
33/1	723	K 04-27 F1 03-13 (Linga/Kristaps)/SW1 291	ir (30%) / nav (70%)	ir	TT	nav (AA)	ir
2			nav	ir	TT	nav (AA)	ir
3			nav	ir	TT	nav (AA)	ir
4			nav	ir	TT	nav (AA)	ir
5			nav	ir	TT	nav (AA)	ir

4. 13. tabulas turpinājums

1	2	3	4	5	6	7	8
34/1	772	K 04-38 Wanubet/ Kristaps	ir	ir	TT	nav (AA)	ir
2			ir	ir	TT	nav (AA)	ir
3			ir	ir	TT	nav (AA)	ir
4			ir	ir	TT	ir (GG)	ir
5			ir	ir	TT	nav (AA)	ir
35/1	784	K 04-38 Wanubet/Kristaps	ir(50%) / nav (50%)	ir	TT	ir (GG)	ir
2			ir(50%) / nav (50%)	ir	TT	ir (GG)	ir
3			ir(50%) / nav (50%)	ir	TT	ir (GG)	ir
4			ir	ir	TT	ir (GG)	ir
5			ir	ir	TT	ir (GG)	ir
36/1	849	K 04-42 Gāte/ SW1291	nav	ir	TT	nav (AA)	ir
2			nav	ir	TT	nav (AA)	ir
3			nav	ir	TT	nav (AA)	ir
4			nav	ir	TT	nav (AA)	ir
5			nav	ir	TT	nav (AA)	ir

No 36 Valsts Stendes GSI miežu selekcijas genotipētām līnijām 17 līnijas ir heterogēnas attiecībā uz MITE elementu, 3 – attiecībā uz *Bmy1* gēna (1+ 6) indel, 3 – attiecībā uz *XhoI* saitu un 2 – attiecībā uz *XbaI* saitu *Amy32b* gēnā. Heterogenitātes līmenis ir atšķirīgs dažādās līnijās. Dažos gadījumos heterogenitāte ir ļoti zema, piemēram, līnijas 12715, 12717 var uzskatīt lielā mērā par homogēnām. Tomēr selekcionāriem jāņem vērā varbūtējo heterogenitāti, īpaši ja heterogēni ir vairāki lokusi. Piemēram, līnija 12715 ir nedaudz heterogēna attiecībā uz MITE elementu, bet tā ir heterogēna arī pēc *XbaI* lokusa.

Īpaši gribētos apspriest K 04-9 un K-04-22 līnijas. Abas līnijas ir heterogēnas attiecībā uz (1 +6) bp indel, tas nosaka heterogenitāti attiecībā uz cSNP C⁶⁹⁸→T.

Labvēlīga alēle C⁶⁹⁸ ir saistīta ar vidēju vai labu alus ražošanas kvalitāti. Labvēlīga alēle C⁶⁹⁸ tika noteikta vienā no K 04-9 līnijas augiem (heterozigotā), un trijos K-04-22 līnijas augos (divas homozigotas, viena heterozigota). Kopumā, abas līnijas K 04-9 un K-04-22, protams, ir heterogēnas, bet tām ir labvēlīga alēle, kas jāuztur selekcija procesa gaitā, ja atlase notiks pēc noderības alus ražošanai.

4.2.2. Alēļu frekvences un heterozigotitātes indekss

Alēļu esamības un biežums selekcijas līnijās, kā arī aprēķinātais heterozigotitātes indekss izpētītiem gēniem ir apkopots 4.14. tabulā.

4.14. tabula

***Bmy1* un *Amy32b* gēnu polimorfu lokusu alēļu frekvences un heterozigotitātes indeksi Valsts Stendes GSI un Valsts Priekuļu LSI miežu selekcijas līnijās**

Selekcijas iestāde	Fenotips	Paaudze	Individuālo augu skaits	<i>Bmy1</i> markieri				<i>Amy32b</i> markieri			
				Indel 126 bp (MITE)		Indel (1+6) bp		SNP G^{XhoI}/A		SNP <i>XbaI</i> lokuss	
				(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
Valsts Stendes GSI	Plēkšņains	F6 ÷ F8	19	0.33	0.67	1	0	0	1	0.98	0.02
		DH	1	0.1	0.9	1	0	0	1	1	0
		F4	6 x 5 = 30	0.28	0.72	0.98	0.02	0.1	0.9	0.98	0.02
	Kailgraudu	F4	10 x 5 = 50	0.39	0.61	0.95	0.05	0.51	0.49	1	0
Vidēja alēļu frekvence				0.28	0.72	0.98	0.02	0.15	0.85	0.99	0.01
Heterozigotitātes indekss				0.4		0.03		0.23		0.02	
Valsts Priekuļu LSI	Plēkšņains	F4 ÷ F14	46	0.32	0.68	0.72	0.27	0	1	1	0
		DH	1	0.5	0.5	0.2	0.8	0	1	1	0
	Kailgraudu	F5 - F7	51	0.28	0.72	0.95	0.05	0.21	0.79	1	0
		DH	2	0.05	0.95	0.52	0.48	0.5	0.5	1	0
	Vidēja alēļu frekvence				0.29	0.71	0.60	0.4	0.18	0.82	1
Heterozigotitātes indekss				0.4		0.48		0.7		0	

No 4.14 tabulā sniegtajiem datiem var secināt, ka abās selekcijas iestādēs novēro līdzīgu *Bmy1* gēna MITE elementa (H_{exp} līdzinās 0.4 abām iestādēm) un *Amy32b* gēna *XhoI* lokusa (H_{exp} līdzinās 0.02 un 0 attiecīgi Valsts Stendes GSI un Valsts Priekuļu LSI) ģenētisko daudzveidību. Pretēji tam, (1+6) bp indel un *XhoI* lokusa daudzveidība ir daudz lielāka Valsts Priekuļu LSI selekcijas materiālā (0,48 un 0,03; 0,7 un 0,23 diviem lokusiem Valsts Priekuļu LSI un Valsts Stendes GSI attiecīgi).

Var secināt, ka miežu kailgraudu fenotips tiešām ir saistīts ar G^{XhoI}/A lokusa G^{2270} alēli, tomēr Latvijas miežu šķirnēs kailgraudu miežiem sastopamas arī G/A heterozigotas pēc šī lokusa, un homozigotas pēc A^{2270} alēles. Plēkšņainiem miežiem G alēle nav sastopama, pārsvarā šim fenotipam novēro AA genotipu pēc G^{XhoI}/A lokusa. Mūsu dati ir saskaņā ar agrāk publicētiem datiem Polakova et al. (2005).

Alēli G^{2270} var izmantot kā noderīgu marķieri selekcijas procesa kontrolei, kad kailgraudu vecākiem ir G^{2270} alēle.

G^{XbaI}/A lokuss Latvijas miežu šķirnēs nav polimorfs, izpētītajos paraugos (ar divu heterozigotisku paraugu izņēmumu) novēro restrikciju *XbaI* saitā, tādēļ šis polimorfisms Latvijas miežu šķirnēs nav saistīts ar fenotipiskām pazīmēm.

4.2.3. *Bmy1* un *Amy32b* haplotipu raksturojums

Ģenētikā un genomikā terminu „haplotips” definē kā daudzu alēļu kombināciju, kas tiek pārmantota vienā saistītajā blokā paudzēs.

Dati par *Bmy1* haplotipu Valsts Stendes GSI un Valsts Priekuļu LSI miežu selekcijas līnijās ir apkopoti 4.15. un 4.16. tabulās.

4.15. tabula

Bmy1 haplotipu prezentācijas Valsts Priekuļu LSI miežu selekcijas līnijās

Marķieris Esamība/trūkums +/-			Haplotips	Skaitis			Iespējamā kvalitāte alus ražošanai
				F4 (24 lines) LV x Inari plēkšņains	F6 ÷ F9 (76 lines)		
					plēkšņains	kailgraudu	
126 bp	-	a	ab	8	nav	3	Augsta
1 +6 bp	-	b					
126 bp	-	a	aB	2	17	31	Vidēja/zema
1 +6 bp	+	B					
126 bp	+	A	AB	3	2	7	Zema
1 +6 bp	+	B					
126 bp	+	Aa	Visi iespējami e haplotipi: AB; aB; ab	11	4	12	Heterogēns materiāls
1 +6 bp	+	Bb					
126 bp	+	A	Haplotips nav atrasts				
1 +6 bp	-	b					

4.16. tabula

Bmy1 haplotipu prezentācijas Valsts Stendes GSI miežu selekcijas līnijās

Marķieris Esamība/trūkums +/-			Haplotips	Skaitis			Kvalitāte alus ražošanai
				F6 ÷ F8 20 lines plēkšņains	F4 16 lines		
					plēkšņains	kailgraudu	
126 bp	-	a	ab	nav	nav	1 (K 04-22, augi 31.3. un 31.5.)	Augsta
1 +6 bp	-	b					
126 bp	-	a	aB	13	4	4	Vidēja/zema
1 +6 bp	+	B					
126 bp	+	A	AB	3	2	2	Zema
1 +6 bp	+	B					
126 bp	+/-	Aa	Visi iespējamie haplotipi: AB; aB; ab	4	nav	4	Heterogēns materiāls
1 +6 bp	+/-	Bb					
126 bp	+	A	Haplotips nav atrasts				
1 +6 bp	-	b					

4.15. un 4.16. tabulas skaidri parāda, ka *Bmy1* haplotipi, kas ir saistīti ar vidēju/zemu vai zemu kvalitāti alus ražošanai (attiecīgi aB un AB haplotipi) ir visbiežāk sastopami abu selekcijas iestāžu materiālā. Tikai, kad *Latvijas vietējos* ņem krustošanai (LV x Inari pēcteči), labvēlīgais haplotips ab ir biežāk sastopams.

4.17. tabula

***Amy32b* haplotipu raksturojums Valsts Priekuļu LSI miežu selekcijas līnijās**

Marķieris SNP: restrikcijas esamība/trūkums +/-			Haplotips	Skaitis			Secinājums
				F4 (24 lines) LV x Inari	F6 ÷ F9 (76 lines)		
				plēkšņains	plēkšņaini ns	Kail- graudu	
<i>XhoI</i>	-	c	nav	nav	nav	nav	Nav atrasts
<i>XbaI</i>	-	d					
<i>XhoI</i>	-	c	cD	24	23	42	Dominējošais haplotips
<i>XbaI</i>	+	D					
<i>XhoI</i>	+	C	CD	nav	nav	10	Saistīts tikai ar kailgraudu fenotipu
<i>XbaI</i>	+	D					
<i>XhoI</i>	-	c	cD; cd	nav	nav	nav	Reti sastopams „cd” haplotips ir iespējams
<i>XbaI</i>	+/-	Dd					
<i>XhoI</i>	+/-	Cc	CD; cD	nav	nav	1	Iespējama selekcijas materiāla heterogenitāte
<i>XbaI</i>	+	D					

4.18. tabula

***Amy32b* haplotipu raksturojums Valsts Stendes GSI miežu selekcijas līnijās**

Marķieris SNP: restrikcijas esamība/trūkums +/-			Haplotips	Skaitis			Secinājums
				F6 ÷ F8 20 lines	F4 16 lines		
				plēkšņaini ns	plēkšņaini ns	Kail- graudu	
<i>XhoI</i>	-	c	nav	nav	nav	nav	Nav atrasts
<i>XbaI</i>	-	d					
<i>XhoI</i>	-	c	cD	19	3	4	Dominējošais haplotips
<i>XbaI</i>	+	D					
<i>XhoI</i>	+	C	CD	nav	nav	3	Saistīts tikai ar kailgraudu fenotipu
<i>XbaI</i>	+	D					
<i>XhoI</i>	-	c	cD; cd	1	2	nav	Reti sastopams „cd” haplotips ir iespējams
<i>XbaI</i>	+/-	Dd					
<i>XhoI</i>	+/-	Cc	CD; cD	nav	1	3	Iespējama selekcijas materiāla heterogenitāte
<i>XbaI</i>	+	D					

Kā redzams no 4.17. un 4.18. tabulas cD haplotips (*XhoI* trūkums un *XbaI* esamība) dominē plēkšņainu un kailgraudu selekcijas materiālu abās selekcijas iestādēs. CD haplotips (*XhoI* esamība un *XbaI* trūkums) ir saistīts tikai ar kailgraudu fenotipu (4.17. un 4.18. tabula).

4.2.4. Ģenētiskās daudzveidības novērtēšana kailgraudu un plēkšņainajiem miežiem pēc proteīna satura graudos, pēc piemērotības alus un lopbarības ražošanai

Ģenētiskās daudzveidības novērtēšana kailgraudu un plēkšņainajiem miežiem sniegta uz Valsts Priekuļu LSI piemēra 4.19. tabulā. Plēkšņainās miežu līnijas ar aB haplotipu dominē Priekuļu LIS miežu selekcijas materiālā. Salīdzinot kailgraudu miežu haplotipus, redzam, ka līnijas pēc vidējiem dažādu parametru rādītājiem ir atšķirīgas. Ar augstāka ražību raksturojas AB (4.1 t ha^{-1}) un aB (3.89 t ha^{-1}) haplotipi, turpretī līnijas ar ab haplotipu ir mazražīgākas. (3.59 t ha^{-1}). Tām ir zemāka arī 1000 graudu masa un tilpummasa. Ir atšķirības graudu kvalitātes rādītājos.

***Bmy1* gēna ģenētiskās daudzveidības novērtēšana pēc Valsts Priekuļu LSI kailgraudu un plēkšņaino miežu selekcijas līniju fenotipiskām pazīmēm 2007.g.**

Fenotips	Insercijas (+) esamība vai trūkums		Līnija	Krustojums	Paaudze	Raža, t ha ⁻¹	Kopproteīns, %	Ciete, %	Beta-glikāns, %	1000 graudu masa, g	Tilpums, g l ⁻¹
	MITE	(1 + 6)									
Plēkšņainie	+	+	PR-3522	Sencis//P3 645 C/L-2233	F7	4.62	10.80	63.00	3.85	50.88	699.78
	AB haplotips		PR-3245	97B741sex msg6/Thuringa//Gāte	F8						
	-	+	PR-3269	Linus/Baronesse	F8	4.86	10.82	63.40	3.59	49.42	706.30
	aB haplotips		L-3005	Baronesse/L-2380 (Ww7291/Dina)	F11						
			L-3134	Rūja/Baronesse// Baronesse/Ida	F9						
			PR-3518	L-2905/L-2503 (Dina/Run,Gastiņec/Imula)	F7						
			PR-3361	Bor 88377/Ivan	F7						
			Rubiola (L-2797)	Rūja/Run8/458	F14						
			PR-3274	L-2233//Linus/Annabell	F7						
			PR-3287	Tolar/Idumeja	F7						
			PR-3300	Tolar//Linga/#112	F7						
			PR-3515	Mette/Tolar	F7						
			PR-3645	Prestige/Annabell	F6						
			PR-3609	Rūja/Prestige/3/L-2233//Linus/Annabell	F6						
			PR-3615	Annabell/L-2544 (Nancy/Dina)	F6						
			PR-3616	Annabell/L-2544 (Nancy/Dina)	F6						
			PR-3611	Rūja/Prestige/3/L-2233//Linus/Annabell	F6						
<i>1</i>			<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>	<i>9</i>	<i>10</i>

4. 19. tabulas turpinājums

1	2		3	4	5	6	7	8	9	10	11								
Kailgraudu	+	+	PR-3464	Linus/Annabell//Sencis/Dawn	F7	4.10	12.74	63.93	4.86	42.66	760.80								
	AB haplotips		PR-3475	Abava/Sw 1290//L-2421	F7														
			K170	Merlin/Linga//Sencis	DH														
			PR-3781	Merlin/SW 1291//Danuta	F6														
			PR-3779	Prestige/CIMMYT 55//KM-2084/Rasa	F6														
			PR-3808	SW1291/3/Tolar//Linga/CIMMYT 112	F7														
			PR-3710	Annabell/CIMMYT 53	F6														
			PR-4020	KM-2084/Kompact	F5														
	-	+	PR-3672	SW1291/3/Tolar//Linga/CIMMYT 112	F6	3.89	13.77	63.10	4.98	44.22	775.72								
	aB haplotips		PR-3443	Merlin/Linga//Sencis	F7														
			PR-3680	Merlin/SW 1291	F6														
			PR-3682	Merlin/SW 1291	F6														
			PR-3775	KM-2084/B-93//Lawina k	F6														
			PR-3695	KM 2084/B-93	F6														
			PR-3810	Gainer/KM-2084	F6														
			PR-3770	Annabell/Cimmyt 53//SW-1291	F6														
			PR-3671	SW1291/3/Tolar//Linga/CIMMYT 112	F6														
			PR-3700	KM 2084/B-93	F6														
			PR-3693	KM 2084/B-93	F6														
			PR-3705	Rūja/KM 2001	F6														
			PR-3725	KM 2001/CDC McGwire//Klinta	F6														
			PR-3733	KM 2084/Rasa	F6														
			PR-3767	Gainer/KM- 2084	F6														
			PR-4006	Lysimax/B-93//Washonubet	F5														
			PR-4007	Lysimax/B-93//Washonubet	F5														
			PR-4021	KM-2084/Kompact	F5														
			-	-	L14							Merlin/Linga//Sencis	DH	3.59	13.17	62.53	4.93	42.59	755.23
			ab haplotips		PR-3809							Gainer/KM-2084	F6						
PR-3768	Gainer/KM- 2084	F6																	

Ģenētiskās daudzveidības novērtēšana plēkšņainajiem miežiem pēc proteīna satura graudos un citām pazīmēm sniegta uz homozigotisko Valsts Stendes GSI miežu selekcijas līniju parauga. Dati ir apkopoti 4.20. tabulā.

4.20. tabula

***Bmy1* gēna ģenētiskās daudzveidības novērtēšana pēc Valsts Stendes GSI miežu selekcijas līniju fenotipiskām pazīmēm, 2007.g.**

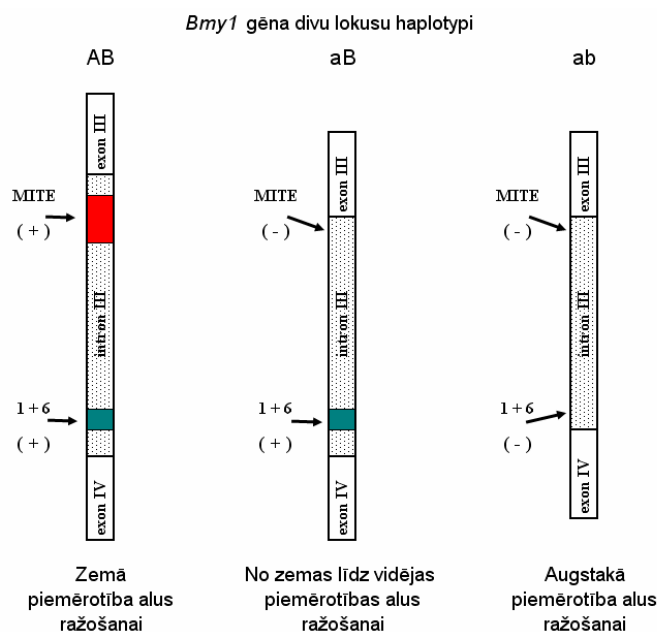
Grupas pēc MITE un (1+6) indel esamības	Līnija	Miežu parauga izcelsme	1000 graudu masa, g vidējais	Tilpum-masa, g l ⁻¹ vidējais	Kop-Proteīns, % vidējais	Ciete, % vidējais	β-glikāns % vidējais
MITE + (1+6) + AB haplotips	12714	2000-28 Courtine/Vintor	55	691.0	13.6	60.9	3.2
	12715	2000-28 Courtine/Vintor					
	12717	2000-29 Candice/MNR 120					
MITE - (1+6) + aB haplotips	12718	2000-29 Candice/MNR 120	53.5	692.0	12.6	61.3	3.3
	12720	2000-30 Beate/9186					
	12723	2000-33 Magda/Thuringia					
	12725	2000-36 Sv86107/Manič 459					
	12736	2000-51 Eunova/11556					
	12700	99-30 F 1 98-31/Candice					
	12702	99-48 Ca 714102/Margit					
	12710	2000-26 SB 90201/Bor 94149					
	12735	2000-50 Margit/9089					
	12753	F 01-18 Rodos/Zadornij//Ohara					
	12754	F 01-18 Rodos/Zadornij//Ohara					
	12757	F 01-19 Saloon/Grisante//Saloon					
	G 131	Ansis/WW8208					
	Kristaps	CF 79502/Stende 9023					

Maza paraugu skaita dēļ nav iespējams stingri secināt par haplotipu un fenotipisko pazīmju asociāciju. Tomēr novēro tendenci uz AB haplotipa saistību ar augstāku 1000 graudu masu un kopēju proteīnu, salīdzinot ar aB haplotipu. Un otrādi, aB haplotipam ir augstāks β-glikāna saturs, salīdzinot ar AB haplotipu. Lai veiktu precīzus secinājumus būs vajadzīgi precīzi asociācijas pētījumi.

4.2.5. Ieteikumi selekcijas materiālu atlasei perspektīvā

Ieteikumi selekcijas materiālu atlasei ar *Bmy1* gēna trešā introna molekulāriem marķieriem.

Bmy1 gēna 3. introna molekulāro marķieru izmantošanas shēma miežu selekcijai parādīta 26. attēlā. AB haplotipam ir spēcīga asociācija ar zemu kvalitāti alus ražošanai (*Adorra*, *Bmy1 Adorra*-līdzīgas Latvijas miežu šķirnes), aB haplotips ir asociēts ar zemu vai vidēju kvalitāti alus ražošanai. Kvalitātes parametri no zemas līdz vidējai acīmredzot ir saistīti ar citu polimorfismu kvantitatīvām un kvalitatīvām pazīmēm, kuras nosaka citi 3. introna polimorfismi: MITE elements un (1+6) indel lokuss (Sjakste, nepublicēts). Tādējādi aB haplotips apvieno šķirnes ar ļoti atšķirīgām alus ražošanas kvalitātēm (*Bmy1 Abava*-līdzīgas Latvijas miežu šķirnes). Haplotips ab ir saistīts ar augstu kvalitāti alus ražošanai (*Haruna Nijo*, *Latvijas Vietejie*, *Monte Cristo*). Acīmredzami sākotnēja atlase uz *Bmy1* marķieru pamata ir nepieciešama, kad selekcionāri pieņem lēmumu par nākamās šķirnes izmantošanu.



26. attēls. *Bmy1* gēna 3. introna molekulāro marķieru izmantošanas shēma miežu selekcijai

Ieteikumi selekcijas materiālu atlasei ar *Amy 32b* gēna molekulāriem marķieriem.

Alēle G^{2270} var būt noderīgs marķieris selekcijas procesā gadījumos, kad kailgraudu genotipu vecākaugiem ir G^{2270} alēle.

Secinājumi

1. Izstrādāta metodoloģija *Bmy1* gēna polimorfismu MITE elementa un SNP C⁶⁹⁸/T, un *Amy 32b* gēna polimorfismu G^{XhoI}/A; G^{XbaI}/A genotipēšanai:
 - *Bmy1* gēna MITE elementu un SNP C⁶⁹⁸/T genotipēšanai fragmentu garuma noteikšanas metode ar elektroforēzi agarozes gēlā un ar ABI Prism[®] 3100 Genetic Analyzer.
 - *Amy 32b* gēna SNP G^{XhoI}/A; G^{XbaI}/A genotipēšanai piemērota CAPS metode (amplificētā DNS fragmenta restrikcijas polimorfisma analīze).
2. Genotipējot 200 miežu šķirņu un līnijas ar MITE transpozona konstruētu marķieri, kas atrodas beta-amilāzes gēna *Bmy1* 3 intronā konstatēts, ka miežu selekcijas materiāls ir daudzveidīgs pēc *Bmy 1* gēna MITE elementa klātbūtnes. Daļa miežu selekcijas līniju uzrāda heterogenitāti pēc *Bmy 1* gēna MITE elementa klātbūtnes.
3. 57% līniju no Valsts Stendes GSI selekcijas materiāla un 60% līniju no Valsts Priekuļu LSI selekcijas materiāla ir homogēnas un nesatur MITE elementu, norādot par to iespējamo izmantošanu izlasei augstvērtīgu alus miežu šķirņu ieguvei.
4. Genotipēšanas rezultāti parāda, ka gēna *Bmy1* haplotipi, kas saistīti ar vidēju/zemu vai zemu kvalitāti alus ražošanai, ir visbiežāk sastopami Priekuļu LSI un Stendes GSI selekcijas materiālā
5. Dažādiem izmantošanas virzieniem piemērotu miežu šķirņu atlasei var izmantot ogļhidrātu metabolisma fermentu gēnu polimorfos lokusus.
6. Likti pamati molekulāro marķieru izmantošanai praktiskajā selekcijā.

Izmantotā literatūra

1. Erkkilä MJ, Ahokas H. Special barley beta-amylase allele in a Finnish landrace line HA52 with high grain enzyme activity. 2001. *Hereditas*. 134(1):91-95.
2. Erkkilä MJ, Leah R, Ahokas H, Cameron-Mills V. Allele-dependent barley grain beta-amylase activity. 1998. *Plant Physiol*. 117(2):679-685.
3. Kreis M, Williamson M, Buxton B, Pywell J, Hejgaard J, Svendsen I. Primary structure and differential expression of beta-amylase in normal and mutant barleys. 1987. *Eur J Biochem*. 15;169(3):517-525.
4. Paris M., Jones G.K.M., Eglinton K.J.. Genotyping Single Nucleotide Polymorphisms for Selection of Barley beta-amylase Alleles. 2002. *Plant Mol. Biol*. 20:149-159.
5. Polakova KM, Kucera L, Laurie DA, Vaculova K, Ovesna J. Coding region single nucleotide polymorphism in the barley low-pI, alpha-amylase gene Amy32b. 2005. *Theor Appl Genet.*;110(8):1499-1504.
6. Robert X., Haser R., Gottschalk T.E., Ratajczak F., Dridues H., Svensson B., Aghajari N., The structure of barley alfa-amylase isosymel reveals a novel role of domain C in substrate recognition and binding: a pair of sugar tongs. 2003. *Structure* 11: 973-984.
7. Sjakste T, Röder M. Distribution and inheritance of beta-amylase alleles in north European barley varieties. 2004. *Hereditas*;141(1):39-45.
8. Sjakste T. G., Zhuk A. F. Novel haplotype description and structural background of the eventual functional significance of the barley beta-amylase gene intron III rearrangements. 2006. *Theor. Appl. Genet*. 113: 1063-1079.
9. Whittier R.F., Dean A.D. Rogers J.C. Nucleotide sequence analysis of alfa-amylase and thiol protease genes that are hormonally regulated in barley aleurone cells. 1987. *Nucleic Acids res*. 15 : 2514-2535.
10. Yoshigi N., Okada Y., Sahara H., Tamaki T., A structural gene encoding beta-amylase of barley. 1995. *Biosci Biotechnol. Biochem*. 10: 1991-1993.