


Содержание желтых пигментов в зерне твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.): биосинтез, генетический контроль, маркерная селекция

П.Н. Мальчиков , М.Г. Мясникова


Самарский федеральный исследовательский центр Российской академии наук, Самарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. Н.М. Тулайкова, пгт Безенчук, Самарская область, Россия
 e-mail: sagrs-mal@mail.ru

Аннотация. Зерно с высоким содержанием каротиноидных пигментов ценится за ярко-желтый цвет пасты, производимой из него, и провитаминную (витамин А) и антиоксидантную активность пигментов. Цель настоящего обзора – обобщение современных знаний о биосинтезе и генетическом контроле накопления пигментов в зерне твердой пшеницы и оценка основных результатов исследований и селекции за последние двадцать лет за рубежом и в России. Признак «концентрация каротиноидных пигментов в зерне» (Ypc) относится к разряду количественных. Тем не менее превалирование сильных аддитивных эффектов генов и высокая наследуемость способствовали значительному прогрессу в селекции по этому признаку. Методами молекулярного маркирования локусов количественных признаков (QTL), контролирующих синтез каротиноидных пигментов и значения индекса желтизны (YI), установлено их распределение по всем хромосомам генома твердой пшеницы. Основные генетические локусы, определяющие более 60 % варьирования признака, были картированы в хромосомах 7AL и 7BL. Вклад этих локусов связан с аллельными вариациями, влияющими на активность фермента фитоеинсинтетазы (PSY). В других хромосомах были локализованы минорные генетические факторы, из которых наиболее значимы QTL, расположенные в хромосомах 3AS (ассоциирован с геном LCYE-ликопин-ε-циклаза) и 4BS (аллель Lpx-B1.1c). При этом показано, что аллель Lpx-B1.1c вносит вклад в снижение активности липоксигеназы, окисляющей каротиноиды в процессе изготовления конечных продуктов. Рассмотрены и обсуждены проблемы использования молекулярных маркеров в селекционных программах, нацеленных на увеличение концентрации пигментов в зерне и улучшение цветовых характеристик пасты. Ключевые слова: твердая пшеница; каротиноиды; концентрация пигментов; индекс желтизны; маркерная селекция.

Для цитирования: Мальчиков П.Н., Мясникова М.Г. Содержание желтых пигментов в зерне твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.): биосинтез, генетический контроль, маркерная селекция. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2020;24(5):501-511. DOI 10.18699/VJ20.642

The content of yellow pigments in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) grains: biosynthesis, genetic control, marker selection

P.N. Malchikov , M.G. Myasnikova

Samara Federal Research Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Samara Scientific Research Agriculture Institute named after N.M. Tulaikov, Bezenchuk, Samara region, Russia
 e-mail: sagrs-mal@mail.ru

Abstract. Grain with high contents of yellow pigments will add the natural bright-yellow colour to the paste, which unlike a paste with a high level of whiteness, are preferred by consumers. The provitamin activity (vitamin A) and antioxidant activity of the carotenoid pigment increase the biological and nutritional value of the grain with high contents of these pigments. The purpose of this review is to summarize modern knowledge about the biosynthesis and genetic control of pigment accumulation in durum wheat and to assess the main results of research and selection over the past 20 years abroad and in Russia. The trait "concentration carotenoid pigment in grain" (Ypc) is quantitative. However, the prevalence of strong additive gene effects and high heritability have contributed to significant progress in breeding for this trait. Molecular labeling of quantitative trait loci (QTL) that control the synthesis of the carotenoid pigment and the yellowness index (YI) found that they are distributed across all chromosomes of the durum wheat genome. The main QTLs, which determine 60 % of the variation of the trait, were mapped to 7AL and 7BL chromosome. The contribution of these QTLs is associated with allelic variations that control the activity of phytoene synthase (PSY). QTLs with minor effects found on the remaining chromosomes are also reliably mapped using molecular markers. As confirmed in a number of experiments, most of them are QTLs located on 3AS (linked to the LCYE (lycopene ε-cyclase) allele and on 4BS (the LpxB1.1c gene). It has been shown that the LpxB1.1c allele

contributes to a decrease in the activity of lipoxygenase, which oxidases carotenoids during the production of end products. This review considered and discusses the problems of molecular markers in breeding programs to increase the concentration of pigments in the grain and improve the color characteristics of the paste.

Key words: durum wheat; carotenoids; concentration pigment; yellow index; marker-assisted selection.

For citation: Malchikov P.N., Myasnikova M.G. The content of yellow pigments in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) grains: biosynthesis, genetic control, marker selection. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020;24(5):501-511. DOI 10.18699/VJ20.642 (in Russian)

Введение

Твердая пшеница (*Triticum durum* Desf.) ежегодно выращивается во всем мире на площади около 17.0 млн га. Производство зерна колеблется по годам от 32 до 42 млн тонн. Продукты из твердой пшеницы используются почти во всех странах, но основными регионами потребления являются страны Средиземноморского бассейна, где зерно твердой пшеницы применяется в качестве сырья для различных продуктов, в основном пасты и круп кус-кус и булгур (Kabbaj et al., 2017). Содержание и структура белка (качество клейковины), а также цвет изделий (макарон, крупа) – наиболее ценные для пищевой, технологической промышленности и на рынке конечных продуктов в этих регионах (Sisson, 2008; Mazzeo et al., 2017). Желтый цвет определяется накоплением каротиноидов в эндосперме, обладающих провитаминами и антиоксидантными свойствами. В процессе размола зерна, замеса теста и изготовления макарон происходит окисление кислородом воздуха полиненасыщенных жирных кислот, каротиноидов, фенолов, что приводит к накоплению бурого (коричневого) пигмента. Окисление катализируется ферментами: липоксигеназой, полифенолоксидазой, пероксидазой, альдегидоксидазой (N'Diaye et al., 2017). Наличие спексов (темных вкраплений) также может снижать уровень желтизны семолины и макаронных изделий (Васильчук и др., 2009).

Результаты изучения наследования всего комплекса желтых пигментов в зерне твердой пшеницы показали, что оно носит количественный характер с высокими значениями коэффициента наследуемости и преобладанием аддитивных эффектов генов (Clarke et al., 1998; Borelli et al., 1999; Digesù et al., 2009; Blanco et al., 2011; Roncallo et al., 2012; Schulthess et al., 2013). В связи с этим правомерно предположение о том, что этот признак удобен для молекулярного маркирования соответствующих QTL и их картирования на хромосомах.

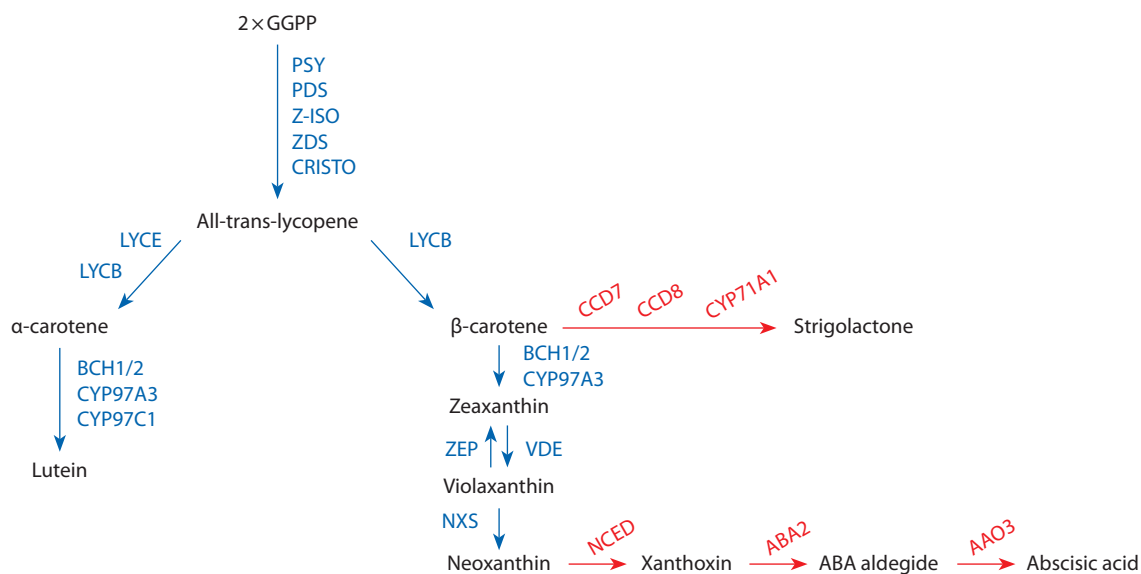
Биосинтез, содержание и распределение каротиноидов в зерновке твердой пшеницы

Средняя концентрация каротиноидов в зерне твердой пшеницы составляет 6.2 ± 0.13 мг/кг в сухом весе (Brandolini et al., 2015) с варьированием, в зависимости от сорта и условий среды (год, пункт), от 2.8 до 12.3 мг/кг (Colasuonno et al., 2017a). По мнению Н.С. Васильчука с коллегами (2009), в Поволжье при низкой активности окислительных ферментов достаточно иметь зерно с концентрацией 4.5 мг/кг для получения макарон золотисто-желтого цвета. Каротиноиды – не единственные желтые пигменты в зерне пшеницы и других злаков. Сравнивая общую концентрацию каротиноидов, определенную методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

(ВЭЖХ), с общим содержанием пигментов, А.М. Digesù с коллегами (2009) показали, что доля каротиноидов у культивируемых и диких тетраплоидных видов пшеницы составила 33.2 % от общего количества желтых пигментов. По результатам своих исследований А. Blanco с коллегами (2011) также сообщили о доле каротиноидов, составившей 37 % в общем объеме желтых пигментов, что означает наличие в экстрактах твердой пшеницы неизвестных желтых пигментов, поглощающих свет при 435 нм. По данным (Fu et al., 2017), полученным при изучении канадских сортов твердой пшеницы Navigator и Strongfield, фенольные соединения могут вносить существенный вклад в степень желтизны при экстракции пигментов. Brandolini с коллегами (2008) пришли к выводу, что, хотя каротиноиды являются наиболее важными пигментами при определении желтого цвета пшеничной муки и макарон, их точное измерение может быть достигнуто только с помощью ВЭЖХ анализа. Тем не менее среди желтых пигментов именно по каротиноидам имеется более подробная научная информация.

К каротиноидам относятся пигменты – каротины и кантофиллы. Химически они представляют собой изопреноидные углеводороды, содержащие 40 углеродных атомов (Кретович, 1986). Биосинтез каротиноидов тщательно исследован на различных растениях – арабидопсисе, рисе, кукурузе, перце, томатах, апельсине и других культурах (Colasuonno et al., 2017a; Rodrigues-Concepcion et al., 2018; Sun et al., 2018).

В зерне твердой пшеницы представлен широкий набор каротиноидных пигментов: лютеин, β -каротин, зеаксантин, β -криптоксантин, β -апокаротенал, антраксантин, тараксантин (лютеин-5,6-эпоксид), авоксантин и трити-коксантин. Каротины α и β в основном находятся в зародыше, превалирующий в зерне среди каротиноидов лютеин (86–94 %) одинаково распределен по слоям и частям зерновки (Digesù et al., 2009). Его доля в семолине при размоле зерна твердой пшеницы составляет 83 %, во фракциях отрубей – 75 % (Fu et al., 2017). Установлено, что характер распределения желтых пигментов по фракциям, выделяемым в процессе размола, варьирует, в зависимости от генотипа. Концентрация лютеина в эндосперме сорта Navigator была выше, чем в отрубях, в то же время у сорта Strongfield наблюдалась обратная закономерность (Fu et al., 2017). В процессе помола и получения крупки (семолины) концентрация большинства каротиноидных пигментов уменьшается, что связано с увеличением контакта измельченных частиц зерна с кислородом воздуха и активностью ферментов. Лютеин и зеаксантин имеют более высокую стабильность при помоле и изготовлении конечных продуктов, по сравнению с другими каротиноидами (Kean et al., 2011).



Biochemical reactions of the carotenoid pathway (Colasuonno et al., 2019).

The main components of the biosynthetic pathway are shown in black; all enzymes involved in carotenoid synthesis, in blue; enzymes of the dioxygenase group involved in carotenoid metabolism in growing plants under stress and accumulating hormone-like ingredients – abscisic acid and strigolactones – in red.

Накопление каротинов в зерне, особенно β -каротина, обуславливает изменение интенсивности окраски семолины от желто-оранжевого до красноватого оттенка. Ксантофиллы обеспечивают желто-оранжевую окраску крупки и макарон. Схема биосинтеза каротиноидов показана на рисунке. Исходным веществом для биохимического синтеза каротинов служит 5-углеродный (C-5) изопреноид – изопентилпирофосфат. Конденсация этого изопреноида представляет собой основу для образования геранилгеранилпирофосфата (C-20). В результате соединения двух молекул геранилгеранилпирофосфата при участии фермента фитоенсинтетазы образуется фитоен (C-40) – первое промежуточное вещество в биосинтезе каротинов. Этот этап является ключевым – скорость биосинтеза и накопления фитоена влияет на весь пул каротиноидов (Cazonelli, Pogson, 2010; Ke et al., 2019). Фитоен в результате десатурации под действием ферментов фитоендесатуразы (PDS), z-каротиндесатуразы (ZDS), каротинизомеразы (CRTISO) и последовательного удаления четырех атомов водорода превращается в ликопин. Ликопин – каротиноид, определяющий красную и оранжевую окраску плодов, – исходное вещество для синтеза α -каротина/лютеина (класс ксантофиллов) – главного каротиноида зерна твердой пшеницы и β -каротина/зеаксантина (класс ксантофиллов) – главного компонента каротиноидных пигментов в зерне кукурузы (Zhang, Dubcovsky, 2008). Дальнейшее гидроксילирование α -каротина приводит к образованию желтого зейкоксантина и лютеина. Трансформация β -каротина продуцирует образование β -криптоксантина, зеаксантина, антраксантина, виолаксантина и неоксантина. Эти реакции катализируются двумя негемовыми β -каротингидроксилазами (BCH1 и BCH2) и двумя гемгидроксилазами (CYP97A и CYP97C) соответственно (Sun et al., 2018). Последняя фаза биосинтеза каротиноидов, катализируемая неоксантинооксидазой (NXS), заключается

в превращении виолаксантина в неоксантин. Окисление виолаксантина и неоксантина приводит к образованию ксантоксина, превращаемого в растительный гормон – абсцизовую кислоту (АВА), которая способствует регуляторному и сбалансированному накоплению пигментов в растениях и формированию устойчивости к абиотическим стрессам (Al-Babilli, Bowmeester, 2015; Nisar et al., 2015). Еще одна ветвь трансформации β -каротина представляет превращение его под действием ферментов диоксигеназной группы (CCD7, CCD8, CYP71A1) в стриголактоны – ингредиенты гормональной природы, регулирующие развитие и ростовые процессы растений (Colasuonno et al., 2019).

Методы определения общего и компонентного состава каротиноидных пигментов в зерне

Содержание пигментов в зерне, крупке и макаронах относится к сложным признакам. Для общего и компонентного определения их содержания существует несколько методов. Эталонные методы для определения общего содержания каротиноидов – стандартный метод 152 (ICC Method 152, 1990) Международной ассоциации науки и техники о зерне (ICC) и международный официальный метод (AACC 14-50.01 (AACC International, 2013)). Эти две процедуры основаны на экстракции всех пигментов в водонасыщенном n-бутаноле с последующим спектрофотометрическим количественным определением оптической плотности спиртового экстракта при 435.5 нм (длина волны максимального поглощения лютеина, доминирующего каротиноида в твердой пшенице). В качестве альтернативы концентрации для характеристики насыщенности пигментами зерна применяется индекс желтизны (YI) на основе количественного определения коэффициента отражения света. Хроматограф Minolta CR-300 (Konica

Minolta Pty Ltd, Macquarie Park, NSW), оснащенный импульсной ксеноновой дуговой лампой, – наиболее часто используемый инструмент для анализа индекса желтизны. Этот прибор позволяет определять коэффициенты индекса желтизны и коричневатости (100-L) семолины и макароны. В России в некоторых селекционных центрах для определения индекса желтизны применяется прибор Specol 10 по методологии, предложенной Н.С. Васильчуком (2001). Методы быстрой жидкостной хроматографии высокого давления (HPLC) с применением инфракрасной спектроскопии позволяют определить химический состав каротиноидных пигментов и измерить количество каждого компонента в кружке и пасте (Brandolini et al., 2008; Fu et al., 2017).

Картирование локусов, контролирующих синтез пигментов

Концентрация пигментов в зерне твердой пшеницы контролируется различными генами с аддитивными эффектами и зависит от условий внешней среды (Васильчук и др., 2009; Мальчиков, 2009; Schulthess, Schwember, 2013; Гапонов и др., 2018; Мясникова и др., 2019). Систематическое сортоизучение в различных экологических условиях дает необходимую информацию о свойствах сортов и наличии у них соответствующих QTL. Достоверные, значительные и стабильные различия между генотипами по величинам YPC (Yellow Pigment Concentration) и YI (Yellowness Index) свидетельствуют о функционировании локусов количественного признака. Для маркирования и локализации QTL используют рекомбинантно-инбредные линии (RIL), созданные от двуродительских скрещиваний контрастных по величине признака сортов и отобранные в поколениях (от одного парного скрещивания) из беккроссных или дигаллоидных популяций (Elouafi et al., 2001; Pozniak et al., 2007; Singh et al., 2009; Colasuonno et al., 2014). В настоящее время для этих целей используется метод полногеномного генотипирования для поиска корреляций между генотипами и фенотипами в наборах селекционных линий, образцов генетических коллекций и выявления аллельных вариантов молекулярных маркеров и функциональных генов (Vargas et al., 2016; Colasuonno et al., 2017a; Fiedler et al., 2017). В последнее десятилетие этот подход получил распространение благодаря наличию большого количества ДНК-маркеров, равномерно распределенных в геноме, полученных на основе однонуклеотидного полиморфизма (SNP) и совершенствования статистических инструментов (Чесноков, Артемьева, 2011; Maccaferri et al., 2011; Wang et al., 2014; Sehgal, Dreisigacker, 2019). Картирование QTL предполагает хромосомную локализацию локуса в геноме по результатам оценки признаков, полученных в нескольких экспериментах.

Воспроизводимость результатов может зависеть от влияния на признак в исследуемой картирующей популяции многочисленных генов с аддитивными эффектами, родительских компонентов, взаимодействия генотип–среда, числа используемых маркеров и способа измерения каротиноидов. В настоящее время для YPC и YI идентифицирован 81 QTL, включая синглетоны и кластеры QTL, которые распределены по всем хромосомам (Colasuonno et al., 2019). Локализация некоторых QTL была подтверж-

дена с использованием нескольких картирующих популяций, что указывает на присутствие стабильных аллелей, влияющих на улучшение цвета и пищевой ценности зерна твердой пшеницы. Стабильные QTL были обнаружены в хромосомах 1A, 1B, 2A, 2B, 3B, 4A, 6A, 6B, 7A, 7B (Parker et al., 1998; Hessler et al., 2002; Patil et al., 2008; Zhang et al., 2009; Pozniak et al., 2012).

По эффектам на фенотипическую вариабельность признаков QTL распределяются на группы с сильным (40 %), средним (10–40 %) и незначительным (<10 %) влиянием (Colasuonno et al., 2019). Главные локусы с сильным влиянием на YPC и YI были картированы в хромосоме 7AL и дистальной области 7BL (Elouafi et al., 2001; Pozniak et al., 2007; Patil et al., 2008; Zhang, Dubcovsky, 2008). В частности, в длинном плече хромосомы 7A были идентифицированы два QTL с противоположными эффектами. Локус с негативным эффектом по отношению к признакам YPC и YI был ассоциирован с аллельными вариациями гена альдегидоксидазы (AO) – фермента, катализирующего деградацию каротиноидов в результате их окисления (Colasuonno et al., 2014, 2017b). Второй (QTL-73), расположенный в области локализации гена Psy-1, оказывал положительный эффект (до 60 % вариации) на признак YPC. Аналогичные ассоциации QTL и YPC установлены в хромосоме 7BL – негативный эффект одного локуса на фенотипическое проявление YPC составлял 29 %, позитивное влияние второго локуса – 52 % (He et al., 2008, 2009; Zhang, Dubcovsky, 2008). В публикации (N'Diaye et al., 2017) сообщается о картировании YPC и YI методом конструирования гаплотипных блоков. Гаплотипные блоки формируются с применением насыщенных молекулярных SNP карт. При этом SNP, расположенные в хромосоме в пределах 5.3 сМ, группируют в один гаплотипный блок, определяющий один локус, который обозначается префиксом “hap” с указанием номера хромосомы и порядкового номера локуса на хромосоме. Этот подход подтвердил существование высокозначимого QTL (hap_7A_32, маркер Tdurum_conting 54832_139) в хромосоме 7AL, объясняющего 35.6 % фенотипической дисперсии общего пигмента и индекса желтизны в семолине твердой пшеницы и связанного с локусом Psy-A1. Использование подобного метода подтвердило достоверную значимость QTL в хромосомах 2A (hap_2A_18), 7B (hap_7B_36) и 4B (hap_4B_6).

Незначительные по эффектам QTL обнаружены в хромосомах 3A (Parker et al., 1998), 4A и 5A (Hessler et al., 2002), 2A, 4B и 6B (Pozniak et al., 2007), 4B и 6B (Zhang, Dubcovsky, 2008), 1A, 3B и 5B (Patil et al., 2008), 3B и 5B (Howitt et al., 2009), 1A, 1B, 3B и 4A (Zhang et al., 2009).

Гены, участвующие в биосинтезе каротиноидов и их окислении в процессе изготовления конечных продуктов

В настоящее время получена информация о генах-кандидатах, расположенных в регионах локализации локусов со значимым влиянием на признаки YPC и YI. В данном случае к ним относятся гены, контролирующие активность основных ферментов биосинтеза каротиноидов пшеницы, и катаболические гены, вызывающие деградацию каротиноидов. Количественные различия генотипов по на-

Table 1. Genes and their markers associated with the concentration of yellow pigments in grains and processed products located in wheat genomes A and B

Gene	Locus	Allele, haplotype	Marker	Chromosome	Reference	
PSY-1	Psy-A1	hap_7A_32	T.durum_conting54832_139	7AL	N'Diaye et al., 2017	
		PsyA1a, PsyA1b	YP7A	7AL	He et al., 2008; Ravel et al., 2013	
		PsyA1a, PsyA1b, PsyA1c	YP7A-2	7AL	He et al., 2009; Crawford, Francki, 2013; Ravel et al., 2013;	
		Psy-A1o , Psy-A1e, Psy-A1p , Psy-A1a Psy-A1c, Psy-A1t	Psy-A1_STS	7AL	Singh et al., 2009; Crawford, Francki, 2013	
		PSY1-AI	YP7A-2, Psy-1SSR Qyp.macs-7A	7AL	Campos et al., 2016; Vargas et al., 2016; Patil et al., 2018	
Psy-B1	hap_7B_36	Psy-A1a, Psy-A1k, Psy-A1ka, Psy-A1kb, PsyA1e, Psy-A1ca, Psy-A1cb, Psy-A1p, PsyA1ra, Psy-A1rb, Psy-A1j, Psy-A1t	Psy-A1_R_49	7AL	Ravel et al., 2013	
		Psy-B1a, Psy-B1b	YP7B-1	7BL	N'Diaye et al., 2017	
		Psy-B1c	YP7B-2	7BL	He et al., 2009; Ravel et al., 2013	
		Psy-B1d	YP7B-3	7BL	He et al., 2009	
		Psy-B1e, Psy-B1a, Psy-B1aa, Psy-B1b, Psy-B1ca, PsyB1m, Psy-B1d	YP7B-4	7BL	Ravel et al., 2013	
PSY-2	PSY-B2		Xwmc73 – Xgwm274 -wPT-3661	5BS	Colasuonno et al., 2014	
ZDS	Zds-A1	Zds-A1a, Zds-A1b	YP2A-1		Dong et al., 2012	
LCYE	e-LCY (lutein)	e-LYC3Aa, e-LYC3Ab3A		3A	Crawford, Francki, 2013	
Lipoxygenase activity (LOX)						
Lpx-B1	Lpx-B1.1	hap_4B_6	Lpx-B1.1c	T.durum_conting51688_681	4BS	Verlotta et al., 2010
Polyphenol oxidase activity (PPO)						
PPO	Tc1		Xgwm312@2A	2AL	Watanabe et al., 2006	
				2BL	Watanabe et al., 2006	
PPO-1	PPO-A1	PPO-A1b, PPO-A1f, PPO-A1e, PPO-A1g, hap_2A-18	PPO18, MG18, BobWhite_c41527_201	2AL	He et al., 2009; Taranto et al., 2012; N'Diaye et al., 2017	

коплению пигментов связаны с аллельным разнообразием генов PSY – фитоенсинтетазы (Pozniak et al., 2007; He et al., 2008; Dibari et al., 2012; Colasuonno et al., 2014; Campos et al., 2016), LCYE – ликопин-ε-циклазы (Howitt et al., 2009; Crawford, Francki, 2013), LCYB – ликопин-β-циклазы (Zeng et al., 2015), HYD – β-гидроксилазы (Qin et al., 2012), PDS (фитоендесатуразы) и ZDS – каротиндесатуразы (Cong et al., 2010). Катаболические гены контролируют активность альдегидоксидазы – АО (Colasuonno et al., 2017b), полифенолоксидазы – PPO (Watanabe et al., 2004, 2006; Si et al., 2012), липоксигеназы – LOX или Lpx (DeSimone et al., 2010; Randhawa et al., 2013) и пероксидазы – PER (Ficco et al., 2014), снижающих концентрацию пигментов и потребительские качества конечных продуктов. Наиболее значимые гены, их аллельные варианты и маркеры обсуждаются в тексте и представлены в табл. 1.

Как уже отмечено, ключевым ферментом в сложной цепочке биосинтеза каротиноидов является PSY. Известны три различных гена, кодирующих активность этого фермента: PSY 1, PSY 2, PSY 3, картированные в гомеологичных хромосомах 7-, 5- и 3-й групп соответственно (Dibari

et al., 2012). Ген PSY-1 был локализован в хромосомах 7A и 7B твердой пшеницы. Обнаружено, что ген PSY-B1, расположенный в хромосоме 7B, сегрегирует совместно с QTL, ассоциированным с каротиноидным пулом, с изменчивостью YI и YPC от низкого уровня (10 %) до среднего (10–30 %). Ген PSY-A1, расположенный в хромосоме 7A, ведет себя как кодоминантный маркер, объясняет фенотипическую изменчивость, в зависимости от генофона, в диапазоне от среднего (10–30 %) до высокого (30–50 %) и очень высокого (> 50 %) уровня (Colasuonno et al., 2014). В целом влияние альтернативных аллелей PSY-A1, по-видимому, является наиболее важным в изменчивости концентрации пигментов и индекса желтизны крупки. Этот вывод основан на результатах изучения различных популяций твердой пшеницы (Campos et al., 2016; Vargas et al., 2016; Patil et al., 2018). Ген PSY-B2, локализованный в 5BS, не оказывал существенного влияния на концентрацию каротиноидов в зерне и крупке (Colasuonno et al., 2014). Локализованный в длинном плече хромосомы 5B ген PSY-B3 повышал экспрессию в листьях и корнях в условиях абиотического стресса (засуха, засоление)

Table 2. Distribution of the Lpx-B1 genes and alleles among cultivars of different breeding periods (Verlotta et al., 2010)

Varieties	Country	Haplotypes		
		I (Lpx-B1.1b +Lpx-B1.3)	II (Lpx-B1.1a +Lpx-B1.2)	III (Lpx-B1.c +Lpx-B1.2)
Varieties created before 1971 of the year				
Matarese, Trinakria, Timilia, Grifoni, Capeiti 8	Italy	+		
Aziziah	Libya	+		
Kiperounda	Cyprus	+		
Polesine	Italy		+	
Russello	Italy		+	
Taganrog	USSR		+	
Cannizzara	Italy			+
Varieties created in the period 1971–1990 years				
Primadur, Tresor, Neodur	France		+	
Karel, Latino, Duilio	Italy		+	
Valnova, Valgerardo, Creso, Grazia, Ofanto, Valforte, Simeto	Italy			+
Produra	USA			+
Varieties created in the period 1991–2005 years				
Marco, Gianni, Bronte, Rusticano, Tiziana, Svevo, Giotto, Iride, Dupri, Italo, Radioso, Claudio, Torrebianca	Italy		+	
Brindur, Nefer	France		+	
Messapia, Gargano, Carpio, Cirillo, Adamello, Colosseo, Quadrato, Ciccio, Vesuvio, Platani, Giusto, Solex, S. Carlo, Bradano, Preco, Fortore, Varano, Lesina, Zenit	Italy			+
Colorado	Italy/USA			+
Navigator	Canada			+
Strongfield	Canada		+	

Note. The “+” sign indicates the belonging to the haplotype.

и был связан с увеличением пула абсцизовой кислоты (Dibari et al., 2012). Гены, контролирующие активность других ферментов, также имеют значимое влияние на концентрацию пигментов в зерне и конечных продуктах. Так, ген ликопин-ε-циклазы (LCYE), ассоциированный с QTL на хромосоме 3A, играет определяющую роль в процессах накопления лютеина – главного каротиноида зерна твердой пшеницы (Howitt et al., 2009). Ген z-каротиндесатуразы (ZDS), маркируемый кодоминантным функциональным маркером YP2A-1 на основе полиморфизма двух аллелей, расположенный на хромосоме 2A, объяснял 11.3 % фенотипической дисперсии YPC и YU в популяции дигаллоидных линий (Dong et al., 2012).

Наиболее четко выражены гены-кандидаты, участвующие в катаболическом пути окисления каротиноидов. Липоксигеназа (Lpx) у растений продуцирует активные формы кислорода, приводящие к деградации каротиноидов и обесцвечиванию конечных продуктов, получаемых из зерна твердой пшеницы (Borghelli et al., 2003). У твердой пшеницы существуют разные гены Lpx (Borghelli, Trono, 2016). На стадии зрелого зерна у сортов с контрастной активностью (окислительной способностью) была установлена различная степень транскрипции генов Lpx-1 и Lpx-3, в то время как транскрипты Lpx-2 на стадии зрелого зерна отсутствовали (De Simone et al., 2010). Локус Lpx-B1

расположен на коротком плече хромосомы 4B, в котором обнаружены три тесно сцепленных гена: Lpx-B1.1, Lpx-B1.2 и Lpx-B1.3. Ген Lpx-B1.1 представлен тремя аллелями – Lpx-B1.1a, Lpx-B1.1b, Lpx-B1.1c (Hessler et al., 2002; Carrera et al., 2007; Verlotta et al., 2010). Анализ QTL у твердой пшеницы показал, что 35–54.0 % вариации активности Lpx объясняется Lpx-B1. Аллель Lpx-B1.1c отличается делецией в нуклеотидной последовательности от второго интрона до последнего экзона (Carrera et al., 2007). Этот аллель коррелирует с высоким уровнем желтизны и относительно слабой деградацией пигментов в макаронных изделиях (Carrera et al., 2007; Verlotta et al., 2010). Изучение коллекции твердой пшеницы с включением в нее ландрасов и современных сортов позволило идентифицировать три гаплотипа: первый включал гены и аллели – Lpx-B1.3+Lpx-B1.b, второй – Lpx-B1.2+Lpx-B1.1a и третий – Lpx-B1.2+Lpx-B1.1c. Эти гаплотипы демонстрировали, соответственно, высокий, средний и низкий уровни функциональных транскриптов Lpx-B1 и ферментативной активности в созревшем зерне.

Известны коммерческие сорта-носители разных генов, Lpx-B1.1, Lpx-B1.2, Lpx-B1.3, и аллелей в локусе Lpx-B1.1. В частности, сорта Kofa и Aureo содержат аллель Lpx-B1.1c. Описаны возможности накопления каротиноидов и генетика липоксигеназы у сортов: Prima-

dur (имеет высокое содержание каротиноидов и высокую активность липоксигеназы), Cosmodur (высокая концентрация каротиноидов, низкая активность липоксигеназы – Lrx-B1.1c), Trinakria (низкая концентрация каротиноидов, высокая активность липоксигеназы), Creso (низкое содержание каротиноидов и низкая активность липоксигеназы – Lrx-B1.1c) (De Simone et al., 2010). По данным A. Verlotta с коллегами (2010) в табл. 2 показано распределение сортов разных периодов селекции (до 1971 г. и в 1971–2005 гг.) по их принадлежности к различным гаплотипам. Вызывает внимание увеличение частоты встречаемости второго и третьего гаплотипов в сортах последних периодов селекции. Необходимо подчеркнуть, что этот результат достигнут селекционерами без понимания и учета в селекционных процедурах генетики окислительных процессов в зерне.

Второй по значимости воздействия на цвет конечных продуктов катаболический фермент – полифенолоксидаза (PPO). Активность фермента контролируют два гена, идентифицированных на гомеологичных хромосомах второй группы, 2A и 2B (Jimenez, Dubcovsky, 1999; Simeone et al., 2002; Watanabe et al., 2004, 2006). В частности, R. Simeone с коллегами (2002) сообщили о значительном генетическом эффекте на активность PPO локуса на длинном плече 2A хромосомы. Гены Tc1 и Tc2 в дистальных частях 2AL и 2BL на расстоянии 46.08 и 40.7 сМ от центромеры картированы N. Watanabe с коллегами (2004). Изучение RIL, полученной от скрещивания сортов Jennah Khetifa и Cham 1, показало, что локус в хромосоме 2A обеспечивал 49.1 % активности PPO, низкая активность сегрегировала с молекулярным маркером Xgwm312@2A (Watanabe et al., 2006).

Два гомологичных семейства PPO были картированы по второй гомеологичной группе хромосом и названы PPO-1 (PPO-A1 и PPO-B1) и PPO-2 (PPO-A2 и PPO-B2) (Beecher et al., 2012). Использование маркера, специфичного для мягкой пшеницы (PPO18), для анализа твердой пшеницы позволило обнаружить четыре аллеля PPO-A1: PPO-A1b, PPO-A1f, PPO-A1e, PPO-A1g (He et al., 2009). Используя 111 образцов твердой пшеницы, F. Taranto с коллегами (2012) определили связь различных аллелей PPO-A1 с уровнем активности фермента. Аллель PPO-A1f был связан с высокой, тогда как PPO-A1b и PPO-A1g – с низкой активностью фермента. Эти ученые разработали также новый маркер (MG18), способный обнаружить те же аллели, что и при помощи маркера PPO18, но более эффективно и с более низкой вариабельностью активности PPO внутри каждой группы сортов, несущих один и тот же аллель (Taranto et al., 2012). В маркер-ассоциированной селекции с целью снижения активности PPO целесообразно использовать и паралогичные гены PPO-B1 и PPO-B2 с применением соответствующих маркеров MG08 и MG33, предложенных F. Taranto с коллегами (2015). Гены PPO-B1 и PPO-B2 были расположены на расстоянии 11.4 сМ от центромеры на хромосоме 2BL. Скрининг коллекции твердой пшеницы с помощью маркеров MG08 и MG33 позволил идентифицировать четыре и два аллеля соответственно, включая три новых аллеля гена PPO-B1: PPO-B1b, PPO-B1c и PPO-B1d, и один новый аллель PPO-B2 – PPO-B2d. Маркер MG33 способен

распознавать два аллеля PPO-B2, связанных с высокой (PPO-B2d) и низкой (PPO-B2a) активностью фермента (Taranto et al., 2015).

Значительное влияние на признаки YI, YPC и цвет макаронных изделий оказывает альдегидоксидаза (АО; EC 1.2.3.1) (Colasuonno et al., 2017b). Три изоформы фермента пшеницы, АО1, АО2, АО3, были локализованы на 2-, 5-, 7-хромосомных группах соответственно. Третий ген альдегидоксидазы, АО-А3, расположенный на хромосоме 7AL, связан с QTL, влияющим на признаки YI и YPC (Colasuonno et al., 2017b). Эксперименты с двумя сортами, Ciccio (низкое содержание каротиноидов в зерне) и Svevo (высокое содержание каротиноидов), с применением метода qRT-PCR выявили высокий уровень экспрессии гена АО-А3 у первого сорта и низкий у второго, что подтверждает отрицательный эффект продуктов гена в период накопления каротиноидов. На основе SNP данных, соответствующих изоформе фермента, на хромосоме 7AL картирован маркер IWB59875, который предложен для процедур маркерной селекции для повышения содержания каротиноидов в зерне и цвета макаронных изделий (Colasuonno et al., 2017b).

Пероксидазы – ферменты, катализирующие общую реакцию: $ROOH + H_2O_2 = ROH + H_2O + 1/2O_2$ (Feillet et al., 2000). Паста, произведенная из зерна сортов с высоким уровнем активности пероксидазы, имеет буро-коричневый цвет и низкие потребительские качества (Sisson, 2008). В то же время в процессе изготовления макарон пероксидаза не проявляется в связи с недоступностью перекиси водорода (Ficco et al., 2014). Активность ферментов этой группы в зерне твердой пшеницы значительно меньше, чем в зерне мягкой пшеницы. В связи с этим большинство исследований по их изучению проведено на мягкой пшенице. В литературе отсутствуют сведения о специфических маркерах в геноме твердой пшеницы, связанных с QTL или генами низкой активности. В ряде публикаций отмечено, что гены пероксидазы расположены в гомеологичных хромосомах групп 1, 2, 3, 4 и 7 (Liu et al., 1990; Wei et al., 2015). В зерне твердой пшеницы установлено функционирование 12 изоформ пероксидазы, различающихся по активности в период налива, созревания и прорастания зерна. Некоторые изоформы имеют специфическую локализацию в зерне – перикарп, эндосперм, зародыш. Наиболее важная изоформа, P-5, расположена в эндосперме и оказывает значимое влияние на потемнение (коричневатость) макаронных изделий (Feillet et al., 2000). При использовании полногеномного секвенирования и нулли-тетрасомных линий сорта Чайниз Спринг обнаружены и локализованы два гена, TaPod-A2 и TaPod-D1, на хромосомах 7AS и 7DS. Анализ SNP выявил для двух аллелей локуса TaPod-D1 два функциональных маркера, POD-7D1 и POD-7D6, с высокой и низкой активностью пероксидазы соответственно (Geng et al., 2019). Эти данные, полученные на мягкой пшенице, с учетом ортологичности геномов А и В в перспективе можно адаптировать к проблемам маркерной селекции твердой пшеницы. В отечественной литературе известна публикация А.А. Вьюшкова (2004), в которой приведены значительные сортовые различия твердой пшеницы по активности пероксидазы в крупке (эндосперме).

Результаты и перспективы применения MAS в селекции твердой пшеницы

Несмотря на большое количество работ по локализации и маркированию QTL, связанных с высокой концентрацией каротиноидов в зерне и крупке, результаты прямой проверки применения MAS (селекция с помощью маркеров) представлены ограниченно. Patil с коллегами (2018) сообщили о высокой эффективности использования маркера Psy-A1SSRe, сцепленного с QTL и локусом Psy-A1, на хромосоме 7AL. Маркер Psy-1SSR разработан на основе вариаций в промоторной области PSY-1, он позволяет идентифицировать восемь аллелей Psy-A1 и семь аллелей Psy-B1 одновременно. Маркер Psy-A1SSRe, расположенный в 7AL в большом QTL для YPC, вместе с ранее установленным маркером Qyr.macs-7A был идентифицирован в популяции RIL-PDW233/Bhalegaon 4. Родительский сорт PDW 233 в этой популяции является носителем QTL высокой концентрации пигментов. Эти маркеры были применены для улучшения индийских сортов MACS 3125 и HI8498 с низкой концентрацией пигментов (3.57 и 3.26 ppm соответственно), которые были взяты в качестве рекуррентных родителей в скрещиваниях с PDW 233 – донором QTL для YPC с высокой концентрацией пигментов (8.36 ppm). Селекционные линии, полученные с применением методов MAS на основе MACS 3125 и HI 8498, показали значительное увеличение YPC: 6.16–7.7 и 5.0–7.46 ppm соответственно. В настоящее время MAS используется в CIMMYT и в Канаде для отбора селекционных линий с низкой активностью липоксигеназы при помощи маркера LOXA, нацеленного на аллель Lpx-B1.1c (Randhawa et al., 2013; Dreisigacker et al., 2016; N'Diaye et al., 2017, 2018).

В России во всех лабораториях, осуществляющих селекцию на увеличение концентрации каротиноидов в зерне, индекса желтизны семянины и конечных продуктов, применяются методы традиционной селекции. За период научной селекции и особенно за последние 30 лет эти признаки были улучшены. Сорта, созданные на первых этапах, – Мелянопус 69, Гордеиформе 432, Мелянопус 26, Гордеиформе 179, Гордеиформе 675, накапливают в зерне 3.6–5.0 ppm каротиноидных пигментов. Сорта, широко возделывавшиеся в 60–80-х годах XX в., – Безенчукская 105, Харьковская 46, Безенчукская 139, – превышают этот уровень незначительно (~5 %) (Мясникова и др., 2019). Положительные изменения наблюдались у сортов Светлана (1987 – год включения в реестр) и Саратовская золотистая (1993), которые накапливали 6.0–7.0 ppm пигментов в зерне (Васильчук, 2001). Среди современных сортов яровой твердой пшеницы заметно выделяются по содержанию каротиноидов в зерне Безенчукская золотистая (8.5–9.0 ppm) и Безенчукская крепость (7.5–8.5 ppm). Весь набор современных сортов образует непрерывный ряд изменчивости с шагом в 10–15 % и разницей между крайними вариантами в 200 % (Безенчукская золотистая – Алтайская нива). Изучение отечественных сортов разных этапов селекции в одиннадцати экологических средах позволило установить, что фенотипическое варьирование признака определяется генотипической и средовой вариациями с незначительными эффектами генотип-средовых взаимодействий. По результатам кластерного анализа

параметров адаптивности, стабильности и отзывчивости, сорта отчетливо распределялись на кластеры. В группу с оптимальным сочетанием величины, стабильности и отзывчивости признака вошли Безенчукская золотистая, Безенчукская крепость, Безенчукская 210, Саратовская золотистая. Эти генотипы рекомендуется использовать для создания рекомбинантных инбредных линий с целью маркирования QTL, контролирующих синтез каротиноидов в зерне твердой пшеницы, и организации на этой основе маркер-опосредованной технологии селекции (Мясникова и др., 2019).

Заключение

Результаты исследований, рассмотренные в этой статье, показывают реализованные за последние двадцать лет цели в понимании биохимических, генетических механизмов регулирования метаболизма каротиноидных пигментов в твердой пшенице. Данные, полученные на разнообразном растительном материале с применением современных классов ДНК-маркеров, и согласованные в разнообразных экспериментах генетические карты позволили выявить наиболее важные гены, участвующие в контроле биосинтеза, накопления и катаболизма каротиноидов. Наиболее изученными и подтвержденными в ряде экспериментов QTL являются те, которые расположены на хромосомах 3AS (связаны с геном LCYE), 7AL и 7BL (оба тесно связаны с аллелями PSY 1). Перспективно для MAS применение маркера LOXA, нацеленного на аллель Lpx-B1.1c для снижения активности липоксигеназы. Технология MAS с использованием известных для этих QTL маркеров отличается от методов традиционной фенотипической селекции высокой производительностью и эффективностью. В то же время в ряде исследований были представлены данные о том, что большинство QTL не могут быть широко использованы в процедурах MAS, что связано с уровнем их валидации в фенотипических соотношениях в локально адаптированных группах селекционного материала (Pozniak et al., 2012).

Другие QTL, представленные и охарактеризованные в обзоре, требуют дополнительных исследований для идентификации генов-кандидатов, участвующих в накоплении/деградации каротиноидов. В перспективе можно ожидать широкое внедрение методов геномной селекции в программы улучшения цвета конечных продуктов из твердой пшеницы. С учетом аддитивных эффектов генов, контролирующих уровень пигментов и превалирование генотипа признака над средой, применение методов геномной селекции позволит ускорить селекционный процесс на основе не только молекулярной идентификации функционирующих в популяции необходимых QTL, но и целенаправленного получения трансгрессий в результате пирамидирования различных генов. В связи с этим дальнейший акцент в селекционно-генетических мероприятиях будет сделан на анализе генетической изменчивости в коллекциях зародышевой плазмы твердой пшеницы и мутантных популяциях. Перспективны методы редактирования генома с использованием CRIS-Cas9, если их применять, исходя из понимания функций гомеологичных генов с аддитивным эффектом (Patil et al., 2018). Характеристика каждого гена позволит вырабатывать стратегии

диверсификации генетической системы каротиноидных пигментов и расширить существующие вариации, доступные селекционерам.

Непосредственное применение маркеров QTL, апробированных на растительном материале зарубежных стран в России в процедурах MAS и геномной селекции, возможно, если в качестве доноров использовать сорта зарубежной селекции, несущие соответствующие QTL и маркеры. При этом маркеры должны быть эффективными в экологических зонах российских селекционных центров. Однако и в этом случае могут быть проблемы преодоления недостаточной адаптивности привлекаемых в качестве исходного материала генотипов. Селекция на увеличение концентрации пигментов в зерне и продуктах его переработки в России, безусловно, может использовать генетический материал и маркеры, разработанные в иностранных центрах, но базироваться она должна на отечественном исходном материале и адаптированных к нему технологиях маркер-опосредованной селекции.

Список литературы / References

- Васильчук Н.С. Селекция яровой твердой пшеницы. Саратов, 2001. [Vasil'chuk N.S. Spring Durum Wheat Breeding. Saratov, 2001. (in Russian)]
- Васильчук Н.С., Гапонов С.Н., Еременко Л.В., Паршикова Т.М., Попова В.М., Шутарева Г.М., Куликова В.А. Селекция твердой яровой пшеницы на высокое содержание каротиноидов в зерне. В: Сборник научных трудов ГНУ НИИСХ Юго-Востока Россельхозакадемии. Саратов: ООО Ракурс, 2009;89-90. [Vasil'chuk N.S., Gaponov S.N., Eremenko L.V., Parshikova T.M., Popova V.M., Shutareva G.M., Kulikova V.A. Breeding of spring durum wheat for carotenoid-rich grain. In: Collection of Scientific Papers of the South-East Agricultural Research Institute of the Russian Agricultural Academy. Saratov: Rakurs Company, 2009;89-90. (in Russian)]
- Вьюшков А.А. Селекция яровой пшеницы в Среднем Поволжье. Самара: ООО «СамЛюкс», 2004. [Vyushkov A.A. Spring Wheat Breeding in the Middle Volga region. Samara: SamLyuks Company, 2004. (in Russian)]
- Гапонов С.Н., Попова В.М., Шутарева Г.И., Цетва Н.М., Цетва И.С., Паршикова Т.М. Получение новых источников для селекции яровой твердой пшеницы – гарантия создания стабильных стрессоустойчивых сортов. *Аграр. вестн. Юго-Востока*. 2018;3:30-31. [Gaponov S.N., Popova V.M., Shutareva G.I., Tsetva N.M., Tsetva I.S., Parshikova T.M. Obtaining new sources for breeding spring durum wheat warrants the raise of stable stress-resistant varieties. *Agrarnyy Vestnik Yugo-Vostoka = Agrarian Bulletin of the South-East*. 2018;3:30-31. (in Russian)]
- Кретович В.Л. Биохимия растений. М.: Высш. шк., 1986. [Kretovich V.L. Plant Biochemistry. Moscow: Vysshaya shkola, 1986. (in Russian)]
- Мальчиков П.Н. Селекция яровой твердой пшеницы в Среднем Поволжье. Кинель, 2009. [Malchikov P.N. Spring Durum Wheat Breeding in the Middle Volga Region. Kinel, 2009. (in Russian)]
- Мясникова М.Г., Мальчиков П.Н., Шаболкина Е.Н., Анисимкина Н.В., Розова М.А., Чахеева Т.В. Результаты селекции твердой пшеницы в России на содержание каротиноидных пигментов в зерне. *Зерновое хозяйство России*. 2019;6(66):37-40. DOI 10.31367/2079-8725-2019-66-6-37-40. [Myasnikova M.G., Malchikov P.N., Shabolkina E.N., Anisimkina N.V., Rozova M.A., Chakheeva T.V. The results of durum wheat breeding in Russia for carotenoid pigments content in kernels. *Zer-*
- noye Khozjaistvo Rossii = Grain Economy of Russia*. 2019;6(66):37-40. DOI 10.31367/2079-8725-2019-66-6-37-40. (in Russian)]
- Чесноков Ю.В., Артемьева А.М. Ассоциативное картирование у растений. *С.-х. биология*. 2011;46(5):3-16. [Chesnokov Yu.V., Artemyeva A.M. Associative mapping in plants. *Selskokhozyaystvennaya Biologiya = Agricultural Biology*. 2011;46(5):3-16. (in Russian)]
- AACC International. AACC International Official Method 14-50.01. In: Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. Tenth ed. (MN, USA: St. Paul), 2013.
- Al-Babili S., Bouwmeester H.J. Strigolactones, a novel carotenoid-derived plant hormone. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2015;66(1):161-186. DOI 10.1146/annurev-arplant-043014-14759.
- Beecher B.S., Carter A.H., See D.R. Genetic mapping of new seed-expressed polyphenol oxidase genes in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 2012;124:1463-1473. DOI 10.1007/s00122-012-1801-2.
- Blanco A., Colasuonno P., Gadaleta A., Mangini G., Schiavulli A., Simeone R., Digesu A.M., De Vita P., Mastrangelo A.M., Cattivelli L. Quantitative trait loci for yellow pigment concentration and individual carotenoid compounds in durum wheat. *J. Cereal Sci.* 2011;54(2):255-264. DOI 10.1016/j.jcs.2011.07.002.
- Borrelli G.M., De Leonardis A.M., Fares C., Platani C., Di Fonzo N. Effects of modified processing conditions on oxidative properties of semolina dough and pasta. *Cereal Chem.* 2003;80:225-231. DOI 10.1094/cchem.2003.80.2.225.
- Borelli G.M., Troccoli A., Di Fonzo N., Fares C. Durum wheat lipoxygenase activity and other parameters that affect pasta color. *Cereal Chem.* 1999;76:335-340. DOI 10.1094/CCHEM.1999.76.3.335.
- Borrelli G.M., Trono D. Molecular approaches to genetically improve the accumulation of health-promoting secondary metabolites in staple crops-A case study: the Lipoxygenase-B1 genes and regulation of the carotenoid content in pasta products. *Int. J. Mol. Sci.* 2016;17:1177. DOI 10.3390/ijms17071177.
- Brandolini A., Hidalgo A., Gabriele S., Heun M. Chemical composition of wild and feral diploid wheats and their bearing on domesticated wheats. *J. Cereal Sci.* 2015;63:122-127. DOI 10.1016/j.jcs.2015.03.005.
- Brandolini A., Hidalgo A., Moscaritolo S. Chemical composition and pasting properties of einkorn (*Triticum monococcum* L. subsp. *monococcum*) whole meal flour. *J. Cereal Sci.* 2008;47:599-609. DOI 10.1016/j.jcs.2007.07.005.
- Campos K.M., Royo C., Schulthess A., Villegas D., Matus I., Ammar K., Schwember A.R. Association of phytoene synthase Psy1-A1 and Psy1-B1 allelic variants with semolina yellowness in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*). *Euphytica*. 2016;207:109-117. DOI 10.1007/s10681-015-1541-x.
- Carrera A., Echenique V., Zhang W., Helguera M., Manthey F., Schragger A., Picca A., Cervigna G., Dubcovsky J. A deletion at the Lpx-B1 locus is associated with low lipoxygenase activity and improved pasta color in durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. *durum*). *J. Cereal Sci.* 2007;45:67-77. DOI 10.1016/j.jcs.2006.07.001.
- Cazzonelli C.I., Pogson B.J. Source to sink: regulation of carotenoid biosynthesis in plants. *Trends Plant Sci.* 2010;15:266-274. DOI 10.1016/j.tplants.2010.02.003.
- Clarke J.M., Clarke F.R., McCaig T.N. Heritability of content in three durum wheat crosses. In: Proc. Ninth Int. Wheat Genetics Symposium. Saskatoon, 1998;2:182-184.
- Colasuonno P., Gadaleta A., Giancaspro A., Nigro D., Giove S., Incerti O., Mangini G., Signorile A., Simeone R., Blanco A. Development of a high-density SNP-based linkage map and detection of yellow pigment content QTLs in durum wheat. *Mol. Breed.* 2014;34:1563-1578. DOI 10.1007/s11032-014-0183-3.
- Colasuonno P., Lozito M.L., Marcotuli I., Nigro D., Giancaspro A., Mangini G., De Vita P., Mastrangelo A.M., Pecchioni N., Houston K., Simeone R., Gadaleta A., Blanco A. The carotenoid biosynthetic and catabolic genes in wheat and their association with yellow

- pigments. *BMC Genomics*. 2017a;18:122. DOI 10.1186/s12864-016-3395-6.
- Colasuonno P., Marcotuli I., Blanco A., Maccaferri M., Condorelli G.E., Tuberosa R., Parada R., de Camargo A.C., Schwember A.R., Gadaleta A. Carotenoid pigment content in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var *durum*): an overview of quantitative trait loci and candidate genes. *Front. Plant Sci.* 2019;10:1347. DOI 10.3389/fpls.2019.01347.
- Colasuonno P., Marcotuli I., Lozito M. L., Simeone R., Blanco A., Gadaleta A. Characterization of aldehyde oxidase (AO) genes involved in the accumulation of carotenoid pigments in wheat grain. *Front. Plant Sci.* 2017b;8:863. DOI 10.3389/fpls.2017.00863.
- Cong L., Wang C., Li Z., Chen L., Yang G., Wang Y., He G. cDNA cloning and expression analysis of wheat (*Triticum aestivum* L.) phytoene and ζ -carotene desaturase genes. *Mol. Biol. Rep.* 2010;37:3351-3361. DOI 10.1007/s11033-009-9922-7.
- Crawford A.C., Francki M.G. Chromosomal location of wheat genes of the carotenoid biosynthetic pathway and evidence for a catalase gene on chromosome 7A functionally associated with flour b* colour variation. *Mol. Genet. Genomics*. 2013;288:483-493. DOI 10.1007/s00438-013-0767-3.
- De Simone V., Menzo V., De Leonardis A.M., Ficco D.B.M., Trono D., Cattivelli L., De Vita P. Different mechanisms control lipoxygenase activity in durum wheat kernels. *J. Cereal Sci.* 2010;52:121-128. DOI 10.1016/j.jcs.2010.04.003.
- Dibari B., Murat F., Chosson A., Gautier V., Poncet C., Lecomte P., Mercier I., Berges H., Pont C., Blanco A., Salse J. Deciphering the genomic structure, function and evolution of carotenogenesis related phytoene synthases in grasses. *BMC Genomics*. 2012;13:221. DOI 10.1186/1471-2164-13-221.
- Digesù A.M., Platani C., Cattivelli L., Mangini G., Blanco A. Genetic variability in yellow pigment components in cultivated and wild tetraploid wheats. *J. Cereal Sci.* 2009;50:210-218. DOI 10.1016/j.jcs.2009.05.002.
- Dong C.H., Ma Z.Y., Xia X.C., Zhang L.P., He Z.H. Allelic variation at the *TaZds-A1* locus on wheat chromosome 2A and development of a functional marker in common wheat. *J. Integr. Agric.* 2012;11:1067-1074. DOI 10.1016/S2095-3119(12)60099-9.
- Dreisigacker S., Sehgal D., Reyes Jaimez A., Luna Garrido B., Muñoz Zavala S., Núñez Ríos C. CIMMYT Wheat Molecular Genetics: Laboratory Protocols and Applications to Wheat Breeding. Mexico: CIMMYT, 2016.
- Elouafi I., Nachit M.M., Martin L.M. Identification of a microsatellite on chromosome 7B showing a strong linkage with yellow pigment in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*). *Hereditas*. 2001;135:255-261. DOI 10.1111/j.1601-5223.2001.t01-1-00255.x.
- Feillet P., Autran J.-C., Icard-Vernière C. Mini review pasta brownness: An assessment. *J. Cereal Sci.* 2000;32:215-233. DOI 10.1006/jcsc.2000.0326.
- Ficco D.B.M., Mastrangelo A.M., Trono D., Borrelli G.M., De Vita P., Fares C., Beleggia R., Platani C., Papa R. The colours of durum wheat: a review. *Crop Pasture Sci.* 2014;65(1):1-15. DOI 10.1071/cp13293.
- Fiedler J.D., Salsman E., Liu Y., Michalak de Jiménez M., Hegstad J.B., Chen B., Manthey F.A., Chao S., Xu S., Elias M.E., Li X. Genome-wide association and prediction of grain and semolina quality traits in durum wheat breeding populations. *Plant Genome*. 2017;10(3):1-12. DOI 10.3835/plantgenome2017.05.0038.
- Fu B.X., Chiremba C., Pozniak C.J., Wang K., Nam S. Total phenolic and yellow pigment contents and antioxidant activities of durum wheat milling fractions. *Antioxidants*. 2017;6:78. DOI 10.3390/antiox6040078.
- Geng H., Shi J., Fuerst E.P., Wei J., Morris C.F. Physical mapping of peroxidase genes and development of functional markers for TaPod-D1 on bread wheat chromosome 7D. *Front. Plant Sci.* 2019;10:523. DOI 10.3389/fpls.2019.00523.
- He X.Y., He Z.H., Morris C.F., Xia X.C. Cloning and phylogenetic analysis of polyphenol oxidase genes in common wheat and related species. *Genet. Resour. Crop Evol.* 2009;56:311. DOI 10.1007/s10722-008-9365-3.
- He X.Y., Zhang Y.L., He Z.H., Wu Y.P., Xiao Y.G., Ma C.X., Xia X.C. Characterization of phytoene synthase 1 gene (*Psy1*) located on common wheat chromosome 7A and development of a functional marker. *Theor. Appl. Genet.* 2008;116:213-221. DOI 10.1007/s00122-007-0660-8.
- Hessler T.G., Thomson M.J., Benschler D., Nachit M.M., Sorrells M.E. Association of a lipoxygenase locus, Lpx-B1, with variation in lipoxygenase activity in durum wheat seeds. *Crop Sci.* 2002;42(5):1695-1700. DOI 10.2135/cropsci2002.1695.
- Howitt C.A., Cavanagh C.R., Bowerman A.F., Cazzonelli C., Rampling L., Mimica J.L., Pogson B.J. Alternative splicing, activation of cryptic exons and amino acid substitutions in carotenoid biosynthetic genes are associated with lutein accumulation in wheat endosperm. *Funct. Integr. Genomics*. 2009;9(3):363-376. DOI 10.1007/s10142-009-0121-3ICC.
- ICC Method 152, in Standard Methods of the International Association for Cereal Science and Technology. Detmold, Germany: Verlag Moritz Schäfer ICC, 1990.
- Jimenez M., Dubcovsky J. Chromosome location of genes affecting polyphenol oxidase activity in seeds of common and durum wheat. *Plant Breed.* 1999;118:395-398. DOI 10.1046/j.1439-0523.1999.00393.x.
- Kabbaj H., Sall A.T., Al-Abdallat A., Geleta M., Amri A., Filali-Maltouf A., Belkadi B., Ortiz R., Bassi F.M. Genetic diversity within a Global panel of durum wheat (*Triticum durum*) landraces and modern germplasm reveals the history of alleles exchange. *Front. Plant Sci.* 2017;8:1277. DOI 10.3389/fpls.2017.01277.
- Ke Q., Kang L., Kim H.S., Xie T., Liu C., Ji C.Y., Kim H.S., Park W.S., Ahn M.J., Wang S., Li H., Deng X., Kwak S.S. Down-regulation of lycopene ϵ -cyclase expression in transgenic sweetpotato plants increases the carotenoid content and tolerance to abiotic stress. *Plant Sci.* 2019;281:52-60. DOI 10.1016/j.plantsci.2019.01.002.
- Kean E.G., Bordenave N., Ejeta G., Hamaker B.R., Ferruzzi M.G. Carotenoid bioaccessibility from whole grain and decorticated yellow endosperm sorghum porridge. *J. Cereal Sci.* 2011;54:450-459. DOI 10.1016/j.jcs.2011.08.010.
- Liu C.J., Chao S., Gale M.D. The genetical control of tissue-specific peroxidases, Per-1, Per-2, Per-3, Per-4, and Per-5 in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 1990;79(3):305-313. DOI 10.1007/bf01186072.
- Maccaferri M., Sanguineti M.C., Demontis A., El-Ahmed A., Garcia del Moral L., Maalouf F., Nachit M., Nserallah N., Ouabbou H., Rhouma S. Association mapping in durum wheat grown across a broad range of water regimes. *J. Exp. Bot.* 2011;62(2):409-438. DOI 10.1093/jxb/erq287.
- Mazzeo M.F., Di Stasio L., D'Ambrosio C., Arena S., Scaloni A., Corneti S., Ceriotti A., Tuberosa R., Siciliano R.A., Picariello G., Mamone G. Identification of early represented gluten proteins during durum wheat grain development. *J. Agric. Food Chem.* 2017;65(15):3242-3250. DOI 10.1021/acs.jafc.7b00571.
- N'Diaye A., Haile J.K., Cory A.T., Clarke F.R., Clarke J.M., Knox R.E., Pozniak C.J. Single marker and haplotype-based association analysis of semolina and pasta colour in elite durum wheat breeding lines using a high-density consensus map. *PLoS One*. 2017;12(1):e0170941. DOI 10.1371/journal.pone.0170941.
- N'Diaye A., Haile J.K., Nilsen K.T., Walkowiak S., Ruan Y., Singh A.K., Clarke F.R., Clarke J.M., Pozniak C.J. Haplotype loci under selection in Canadian durum wheat germplasm over 60 years of breeding: Association with grain yield, quality traits, protein loss, and plant height. *Front. Plant Sci.* 2018;9(1589):1-19. DOI 10.3389/fpls.2018.01589.
- Nisar N., Li L., Lu S., Khin N.C., Pogson B.J. Carotenoid metabolism in plants. *Mol. Plant*. 2015;8:68-82. DOI 10.1016/j.molp.2014.12.007.
- Parker G.D., Chalmers K.J., Rathjen A.J., Langridge P. Mapping loci associated with flour colour in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 1998;97(1-2):238-245. DOI 10.1007/s001220050891.

- Patil R.M., Oak M., Deshpande A., Tamhankar S. Development of a robust marker for Psy-1 homoeologs and its application in improvement of yellow pigment content in durum wheat. *Mol. Breed.* 2018; 38:136. DOI 10.1007/s11032-018-0895-x.
- Patil R., Oak M., Tamhankar S., Sourdille P., Rao V. Mapping and validation of a major QTL for yellow pigment content on 7AL in durum wheat (*Triticum turgidum* L. ssp. *durum*). *Mol. Breed.* 2008; 21(4):485-496. DOI 10.1007/s11032-007-9147-1.
- Pozniak C.J., Clarke J.M., Clarke F.R. Potential for detection of marker-trait associations in durum wheat using unbalanced, historical phenotypic datasets. *Mol. Breed.* 2012;30:1537-1550. DOI 10.1007/s11032-012-9737-4.
- Pozniak C.J., Knox R.E., Clarke F.R., Clark J.M. Identification of QTL and association of a phytoene synthase gene with endosperm colour in durum wheat. *Theor. Appl. Genet.* 2007;114:525-537. DOI 10.1007/s00122-006-0453-5.
- Qin X., Zhang W., Dubcovsky J., Tian L. Cloning and comparative analysis of carotenoid beta-hydroxylase genes provides new insights into carotenoid metabolism in tetraploid (*Triticum turgidum* ssp. *durum*) and hexaploid (*Triticum aestivum*) wheat grains. *Plant Mol. Biol.* 2012;80:631-646. DOI 10.1007/s11103-012-9972-4.
- Randhawa H.S., Asif M., Pozniak C., Clarke J.M., Graf R.J., Fox S.L., Humphreys D.G., Knox R.E., DePaw R.M., Singh A.K., Cuthbert R.D., Hucl P., Spaner D. Application of molecular markers to wheat breeding in Canada. *Plant Breed.* 2013;132:458-471. DOI 10.1111/pbr.12057.
- Ravel C., Darvelet M., Leenhardt F., Bordes J., Joseph J.L., Perretant M.R., Exbrayat F., Poncet C., Balfourier F., Chanliaud E., Charmet G. Improving the yellow pigment content of bred wheat flour by selecting the three homeologous copies of *Psy1*. *Mol. Breed.* 2013;31:87-89. DOI 10.1007/S11032-012-9772-1.
- Rodriguez-Concepcion M., Avalos J., Bonet M.L., Boronat A., Gomez-Gomez L., Hornero-Mendez D., Limon M.C., Melendez-Martinez A.J., Olmedilla-Alonso B., Palou A., Ribot J., Rodrigo M.J., Zacarias L., Zhu C. A global perspective on carotenoids: Metabolism, biotechnology, and benefits for nutrition and health. *Prog. Lipid Res.* 2018;70:62-93. DOI 10.1016/j.plipres.2018.04.004.
- Roncallo P.F., Cervigni G.L., Jensen C., Miranda R., Carrera A.D., Helguera M., Echenique V. QTL analysis of main and epistatic effects for flour color traits in durum wheat. *Euphytica.* 2012;185:77-92. DOI 10.1007/s10681-012-0628-x.
- Roncallo P., Echenique V. Identification of molecular markers associated with yield and quality traits for Argentinean durum wheat breeding programs. In: Options Méditerranéennes. Proceedings of the International Symposium on Genetics and Breeding of Durum Wheat. Rome, Italy: CHEAM, 2014;577-582.
- Schulthess A., Schwember A.R. Improving durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) grain yellow pigment content through plant breeding. *Cienc. Invest. Agr.* 2013;40:475-490. <http://dx.doi.org/10.7764/rcia.v40i3.1157>.
- Sehgal D., Dreisigacker S. Haplotypes-based genetic analysis: benefits and challenges. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2019;23(7):803-808. DOI 10.18699/VJ19.37.
- Simeone R., Pasqualone A., Clodoveo M., Blanco A. Genetic mapping of polyphenol oxidase in tetraploid wheat. *Cell. Mol. Biol. Lett.* 2002;7:763-769.
- Si H., Ma C., Wang X., He X. Variability of polyphenol oxidase (PPO) alleles located on chromosomes 2A and 2D can change the wheat kernel PPO activity. *Aust. J. Crop Sci.* 2012;6(3):444-449.
- Singh A., Reimer S., Pozniak C.J., Clarke F.R., Clarke J.M., Knox R.E., Singh A.K. Allelic variation at *Psy1-A1* and association with yellow pigment in durum wheat grain. *Theor. Appl. Genet.* 2009;118:1539-1548. DOI 10.1007/s00122-009-1001-x.
- Sissons M. Role of durum wheat composition on the quality of pasta and bread. *Food Global Sci.* 2008;2:75-90.
- Sun T., Yuan H., Cao H., Yazdani M., Tadmor Y., Li L. Carotenoid metabolism in plants: The role of plastids. *Mol. Plant.* 2018;11:58-74. DOI 10.1016/j.molp.2017.09.010.
- Taranto F., Delvecchio L.N., Mangini G., Del Faro L., Blanco A., Pasqualone A. Molecular and physico-chemical evaluation of enzymatic browning of whole meal and dough in a collection of tetraploid wheats. *J. Cereal Sci.* 2012;55:405-414. DOI 10.1016/j.jcs.2012.02.005.
- Taranto F., Mangini G., Pasqualone A., Gadaleta A., Blanco A. Mapping and allelic variations of *Ppo-B1* and *Ppo-B2* gene-related polyphenol oxidase activity in durum wheat. *Mol. Breed.* 2015;35:80. DOI 10.1007/s11032-015-0272-y.
- Vargas V.H., Schulthess A., Royo C., Matus I., Schwember A.R. Transcripts levels of Phytoene synthase 1 (*Psy-1*) are associated to semolina yellowness variation in durum wheat (*Triticum turgidum* L. ssp. *durum*). *J. Cereal Sci.* 2016;68:155-163. DOI 10.1016/j.jcs.2016.01.011.
- Verlotta A., De Simone V., Mastrangelo A.M., Cattivelli L., Papa R., Trono D. Insight into durum wheat *Lpx-B1*: a small gene family coding for the lipoxygenase responsible for carotenoid bleaching in mature grains. *BMC Plant Biol.* 2010;10:263. DOI 10.1186/1471-2229-10-263.
- Wang S., Wong D., Forrest K., Allen A., Chao S., Huang B.E., Maccaferri M., Salvi S., Milner S.S., Cattivelli L., Mastrangelo A.M., Whan A., Stephan S., Sarker G., Wieseke R., Plieske S. Characterization of polyploid wheat genomic diversity using a high-density 90,000 single nucleotide polymorphism array. *Plant Biotechnol. J.* 2014;12:787-796. DOI 10.1111/pbi.12183.
- Watanabe N., Akond A.S.M.G.M., Nachit M.M. Genetic mapping of the gene affecting polyphenol oxidase activity in tetraploid durum wheat. *J. Appl. Genet.* 2006;47:201-205. DOI 10.1007/BF03194624.
- Watanabe N., Takeuchi A., Nakayama A. Inheritance and chromosomal location of the homoeologous genes affecting phenol colour reaction of kernels in durum wheat. *Euphytica.* 2004;139:87-93. DOI 10.1007/s10681-004-2255-7.
- Wei J., Geng H., Zhang Y., Liu J., Wen W., Zhang Y., Xia X., Chen X., He Z. Mapping quantitative trait loci for peroxidase activity and developing gene-specific markers for *TaPod-A1* on wheat chromosome 3AL. *Theor. Appl. Genet.* 2015;128:2067-2076. DOI 10.1007/s00122-015-2567-0.
- Zeng J., Wang X., Miao Y., Wang C., Zang M., Chen X., Li M., Li X., Wang O., Li K., Chang J., Wang G., Yang G., He G. Metabolic engineering of wheat provitamin A by simultaneously overexpressing *CrtB* and silencing carotenoid hydroxylase (*TaHYD*). *J. Agric. Food Chem.* 2015;63:9083-9092. DOI 10.1021/acs.jafc.5b04279.
- Zhang W., Dubcovsky J. Association between allelic variation at the Phytoene synthase 1 gene and yellow pigment content in the wheat grain. *Theor. Appl. Genet.* 2008;116:635-645. DOI 10.1007/s00122-007-0697-8.
- Zhang Y., Wu Y., Xiao Y., He Z., Zhang Y., Yan J., Zhang Y., Xia X., Ma C. QTL mapping for flour and noodle colour components and yellow pigment content in common wheat. *Euphytica.* 2009;165(3):435-444. DOI 10.1007/s10681-008-9744-z.

ORCID ID

P.N. Malchikov orcid.org/0000-0002-2141-6836
M.G. Myasnikova orcid.org/0000-0002-7224-0308

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received April 15, 2020. Revised June 23, 2020. Accepted June 23, 2020.