

Перспективные возможности использования молекулярно-генетических подходов для управления технологическими свойствами зерна пшеницы в контексте цепочки «зерно – мука – хлеб»

Е.К. Хлесткина^{1,2}✉, Т.А. Пшеничникова¹, Н.И. Усенко², Ю.С. Отмахова^{2,3}

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт экономики и организации промышленного производства Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

В рамках данной обзорной статьи рассмотрены возможности молекулярно-генетических подходов к управлению технологическими свойствами зерна пшеницы, влияющими на качество готовой продукции хлебопекарного производства. В настоящее время при росте производства зерна происходит вымывание традиционного ассортимента, ухудшается качество хлеба массовых сортов, в хлебопечении в виде улучшителей применяются десятки различных веществ биологического и химического происхождения. Между тем генетический потенциал пшеницы позволяет создавать сорта для производства зерна с технологическими характеристиками, пригодными для производства высококачественного хлеба. В истории отечественной селекции имеются множественные примеры создания сортов для получения зерна 1-го и 2-го класса, а современная молекулярная генетика предлагает подходы, которые при комбинировании с традиционными методами селекции делают возможным ускоренное создание новых адаптированных к условиям и требованиям хлебопекарной отрасли сортов за счет использования естественного генетического потенциала пшеницы. Авторами обобщены данные по разнообразию требований, предъявляемых к зерну и муке различного конечного пищевого использования. Проанализированы статистические данные по объемам и структуре качества зерна в России в период 2011–2014 гг. Выявлена существенная деформация структуры качества производимого зерна пшеницы в пользу менее ценных классов. Проведен краткий ретроспективный анализ исследований в области генетики пшеницы, показавших роль генетических факторов в формировании технологических свойств зерна и муки. Рассмотрены различные подходы для ускоренной селекции сортов с заданными свойствами в перспективе развития исследований в области молекулярной генетики растений. Приведены примеры, иллюстрирующие возможность и целесообразность использования методов ДНК-диагностики на разных этапах процесса, в ходе которого реализуется и сказывается на качестве конечного продукта заложенный в генофонде продовольственных культур генетический потенциал. Рассмотрены результаты молекулярно-генетических исследований по определению локализации и структуры генов, вовлеченных

Prospects of molecular genetic approaches in controlling technological properties of wheat grain in the context of the "grain – flour – bread" chain

Е.К. Khlestkina^{1,2}✉, Т.А. Pshenichnikova¹,
N.I. Usenko², Yu.S. Otmakhova^{2,3}

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

³ Institute of Economics and Industrial Engineering SB RAS, Novosibirsk, Russia

The potential of molecular approaches in the management of the technological properties of wheat grain affecting the quality of the end product of bread industry is considered. Currently, along with the growth of grain production, the traditional range of staples is crowded out, the quality of most popular bread varieties deteriorates, and dozens of different substances of biological and chemical origin are used as bread improvers. Meanwhile, the genetic potential of wheat allows the development of varieties with technological parameters of grain suitable for production of high-quality bread. In Russia, multiple examples of the creation of varieties for the production of first and second-class grain are known, and modern molecular genetics offers techniques that can supplement classical breeding approaches and accelerate the development of new varieties adapted to the conditions and requirements of the baking industry, using the natural genetic potential of wheat. We summarize the diversity of requirements for grain and flour for different end-use products. Statistics on the volume and structure of grain quality in Russia in 2011–2014 is analyzed. An essential deformation of the quality structure of the produced wheat grain in favor of less valuable classes is observed. A brief retrospective analysis of research in wheat genetics, demonstrating the contribution of genetic factors to grain and flour technological

в формирование технологических свойств зерна пшеницы: содержание белка и сырой клейковины, мукомольные свойства, реологические свойства муки и теста, цвет муки, свойства крахмала. Суммированы данные о диагностических ДНК-маркерах, подходящих для эффективного отбора генотипов взамен трудоемкого анализа технологических характеристик на промежуточных этапах селекции. Таким образом, в обобщенном виде представлена информация о генетическом потенциале мягкой пшеницы и современных технологических подходах, которые составляют основу для смены направления от повышенной химизации в сторону более мягкого и органичного влияния на качество основного сырья и продукции во всей продовольственной цепочке «зерно – мука – хлеб».

Ключевые слова: мягкая пшеница; продовольственная безопасность; зерно; содержание клейковины; мукомольные свойства; мука; физические свойства теста; хлебопекарная промышленность; гены; ДНК-маркеры; геномная селекция; маркер-ориентированная селекция.

properties, is performed. Various approaches to rapid breeding of varieties with desired properties are considered in relation with the development of plant molecular genetics. The paper provides examples illustrating the feasibility of using methods of DNA diagnostics in various stages of the process, during which the genetic potential of food crops expresses itself and affects the quality of the end product. The results of molecular studies on the localization and isolation of genes determining technological properties (protein and wet gluten contents, milling properties, rheological properties, flour color, and starch properties) are reviewed. The data on diagnostic DNA markers, which are suitable for efficient selection of genotypes instead of the time-consuming analysis of technological properties during breeding process, are summarized. Thus, the information about the genetic potential of bread wheat and modern technologies that provide grounds for moving from excessive use of chemicals to a more benign and organic effect on the quality of the products throughout the "grain – flour – bread" chain, is summarized.

Key words: bread wheat; food security; grain; gluten content; milling properties; flour; physical properties of the dough; baking industry; genes; DNA-markers; genomic selection; marker-assisted selection.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ?

Хлесткина Е.К., Пшеничникова Т.А., Усенко Н.И., Отмахова Ю.С. Перспективные возможности использования молекулярно-генетических подходов для управления технологическими свойствами зерна пшеницы в контексте цепочки «зерно – мука – хлеб». Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016; DOI 10.18699/VJ15.140

HOW TO CITE THIS ARTICLE?

Khlestickina E.K., Pshenichnikova T.A., Usenko N.I., Otmakhova Yu.S. Prospects of molecular genetic approaches in controlling technological properties of wheat grain in the context of the "grain – flour – bread" chain. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2016; DOI 10.18699/VJ15.140

Производство зерна пшеницы исторически является основой функционирования национального агропродовольственного комплекса и носит системообразующий характер для других отраслей экономики, в частности для хлебопекарной промышленности. Однако на рынке хлеба наблюдаются тенденции ухудшения качества хлебопекарной продукции¹, при том что формирование продовольственной цепочки: «зерно – мука – хлеб» предполагает использование отечественного продовольственного сырья, в достаточном количестве производимого в России. Несмотря на определенную волатильность годовых показателей валового сбора пшеницы (озимой и яровой), в Российской Федерации имеет место их выраженная поступательная динамика: в 2000 г. этот показатель, согласно данным Росстата, был равен 34,5 млн т, в 2010 г. – 41,5 млн т, в 2014 г. – 59,7 млн т (с учетом данных по Крымскому федеральному округу). При этом Россия является одним из ведущих экспортеров продовольственного зерна в мире. На протяжении прошлого сельскохозяйственного года (с начала июля 2014 г. по конец июня 2015 г.) величина экспорта составила 22 млн т пшеницы, что является абсолютным рекордом за период присутствия России на внешних рынках (Производство пшеницы..., 2015).

Почему при увеличении объемов производства зерна пшеницы ухудшается качество хлеба? В чем причины сложившегося положения и какие могут быть направления выхода из сложившейся ситуации?

Поиск решения этих задач находится в различных плоскостях: как в научной сфере, так и в области практики. Но независимо от специфики конкретных областей исследований, с нашей точки зрения, они должны рассматриваться в контексте продовольственной цепочки «зерно – мука – хлеб», связывая ее начальные и конечные стадии (Усенко, Сафьянов, 1996; Усенко, Сердюкова, 2005; Сердюкова, 2012). Качество хлеба как завершающий этап цепочки должно быть главным критерием эффективности рассматриваемой продовольственной цепочки.

Многие десятилетия исследований в области генетики пшеницы показали, что в основе различий по хлебопекарному качеству лежит генетическое разнообразие, заложенное в сортах. Известны и продолжают выявляться и изучаться гены, которые влияют на технологические свойства зерна и физические свойства теста (см. Международный каталог генных символов пшеницы: McIntosh et al., 2015). Созданы и продолжают создаваться отечественные сорта, отличающиеся высокими показателями по этим признакам (наиболее яркие примеры – озимые сорта мягкой пшеницы Безостая 1 и Мироновская 808 и

¹ В 2015 г. ФБУ Красноярский центр стандартизации, метрологии и испытаний провел экспертизу самых покупаемых сортов хлеба, по результатам которой с дегустации было снято 40 % образцов. Только в категории хлеба из пшеничной муки первого сорта с дегустации были сняты пять образцов из десяти (<http://kachestvo.ru/news/uhudshilos-kachestvo-hleba.html>).

яровые Саратовская 29 и Новосибирская 67). Кроме того, сегодня молекулярная генетика предлагает широкий набор подходов, сопутствующих традиционной селекции и позволяющих в разы ускорить процесс получения новых сортов с заданными свойствами за счет ДНК-диагностики растений, отбираемых в процессе селекции (см. обзоры Moose, Mumm, 2008; Хлесткина, 2013).

Сорта с технологическими характеристиками, необходимыми для получения зерна 1-го и 2-го класса, являются основой для перехода от активного применения улучшителей в сторону использования природного генетического потенциала пшеницы для управления качеством основного сырья и продукции во всей продовольственной цепочке «зерно – мука – хлеб» в соответствии с принципами продовольственной безопасности и требованиями к повышению качества питания населения.

Влияние изменений качественных характеристик зерна на качество и технологические особенности производства хлеба

Известно, что качество хлеба зависит от хлебопекарных свойств муки, определяемых качественными характеристиками зерна. Широко используемый термин «качество зерна» обобщенно характеризует конечное технологическое назначение зерна пшеницы. Оно обуславливается свойствами эндосперма зерновки, его биохимическим составом и структурой. Эндосперм – запасающий орган семени, обеспечивающий при прорастании питание зародыша, образуется на завершающем этапе онтогенеза растения пшеницы. Как и все остальные этапы, процесс образования эндосперма строго контролируется со стороны генома. Это значит, что все последующие свойства эндосперма зерновки, определяющие его технологические характеристики, также генетически обусловлены.

Качество зерна – это комплексный признак, состоящий из многих отдельных параметров, каждый из которых характеризует технологические свойства зерна и его конечное назначение. Среди них – мукомольные свойства, такие как масса 1 000 зерен, натура зерна, твердозерность, определяемая структурой эндосперма зерна. Основными при оценке выращенного зерна являются содержание клейковины, а также ее качество. Содержание белка и клейковины в зерне определяет его биологическую полноценность и пищевое достоинство, а также формирует уникальную для пшеницы хлебопекарную способность. Клейковина может быть слабой, средней или сильной. Это ее свойство, в свою очередь, тесно связано с реологическими свойствами теста, полученного из муки, выработанной из определенного зерна. Все эти признаки очень важны в связи с автоматизацией мукомольного и хлебопекарного производства. Хорошие мукомольные свойства определяются высокой массовой долей эндосперма в зерновке пшеницы. Также важно, чтобы из муки получалось тесто, сохраняющее при механической обработке хорошие физические свойства и позволяющее выпекать высококачественный хлеб (Пумпянский, 1971). В табл. 1 представлено разнообразие требований, предъявляемых к зерну и муке различного конечного пищевого использования.

Таким образом, для различных видов мучных изделий требуется зерно с различной твердостью эндосперма, содержанием белка от 10 до 14 % и контрастным типом клейковины. Условия выращивания пшеницы, а также условия созревания, уборки и хранения существенно влияют на весь комплекс признаков качества зерна, однако при этом именно генотип сорта пшеницы потенциально может обеспечить разнообразие по технологическим свойствам зерна. Этот вывод принципиально важен в условиях

Таблица 1. Характеристики качества зерна для различных типов изделий из муки (по Реña, 2002)

Тип	Твердозерность	Содержание белка, %	Тип клейковины
<i>Дрожжевые хлеба</i>			
Формовой хлеб, сдобные изделия	Твердый эндосперм	> 13	Сильная, упругая
Подовые изделия, багеты	Твердый эндосперм/ среднетвердозерный	11–14	Среднерастяжимая
Паровые изделия	Твердый/мягкий	11–13	Средняя/слабая
<i>Бездрожжевые (плоские) хлеба</i>			
Арабский	Твердый эндосперм/ среднетвердозерный	12–14	Среднерастяжимая
Чapati, тортилла	Среднетвердозерный	11–13	Среднерастяжимая
Крекеры	Среднетвердозерный/ мягкий эндосперм	11–13	Средняя
<i>Лапша</i>			
Желтая	Среднетвердозерный	11–13	Средняя/сильная
Белая	Среднетвердозерный/ мягкий эндосперм	10–12	Средняя
<i>Печенье, торты, другие кондитерские изделия</i>			
Обобщенные данные	Мягкий/очень мягкий эндосперм	8–10	Слабая/слаборастяжимая

трансформации структуры качества российского зерна в сторону увеличения доли зерна с более низкими качественными показателями. Стоит отметить, что тенденция снижения объема предлагаемой высококачественной пшеницы отмечается и на мировом рынке. Международные трейдеры выказывают особую обеспокоенность качественными показателями пшеницы в ряде крупнейших стран-производителей (Мировой рынок зерна..., 2014).

За организацию мониторинга информации о товарных и потребительских свойствах российского зерна отвечает Министерство сельского хозяйства Российской Федерации. Для этого используется механизм ежегодного конкурсного отбора организаций на право проведения данных работ. Представленные результаты обследований структуры качества зерна, проводимых в 2011–2014 гг. (<http://government.ru/orders/12150/>; <http://www.fczerma.ru/News.aspx>; <http://www.mcx.ru/news/news/show/27614.htm>), суммированы в табл. 2 и 3 для мягкой и твердой пшеницы соответственно.

В обследованных регионах объемы зерна как твердой, так и мягкой пшеницы составили в среднем около 50% от валового сбора по соответствующему виду. Анализ приведенных данных показал, что доля зерна продовольственной пшеницы мягкой варьировалась за рассматриваемый период с 73,5% в 2011 г. до 79,9% в 2012 г. (табл. 2), а твердой пшеницы – с 82,4 в 2013 г. до 87,2% в 2012 г. (табл. 3).

В структуре качества продовольственного зерна стоит отметить такие неблагоприятные тенденции, как увеличение доли менее ценных сортов пшеницы. В 2013 г. доля зерна пшеницы твердой 4-го класса составила 54,4%, что на 6,2 процентных пункта больше, чем в 2011 г. и на 12,9 процентных пункта больше, чем в 2012 г. (табл. 3). Удельный вес зерна пшеницы мягкой 4-го класса в 2014 г. составил 47,6%, что также выше показателей предыдущих лет (табл. 2). Соответственно уменьшились показатели

удельного веса зерна 3-го класса: в 2013 г. это значение для зерна пшеницы твердой составило 27,3%, а для зерна пшеницы мягкой в 2014 г. – 29,8% (табл. 2 и 3). Самые низкие значения в структуре качества зерна приходится на ценные сорта 1-го и 2-го класса. Особенно это касается мягкой пшеницы, зерно 1-го и 2-го класса которой практически не производится, что наглядно представлено на рис. 1.

Как показали результаты анализа финансово-экономических данных крупных и средних предприятий в Сибирском регионе на протяжении последних десяти лет (Сердюкова, 2004; Усенко, Сердюкова, 2005; Serdyukova, Usenko, 2013), оптимизация затрат на хлебопекарных предприятиях в условиях резкого сокращения на российском рынке доли зерна с высокими хлебопекарными свойствами происходит за счет приобретения муки низкой ценовой категории с низкими показателями качества. Такой подход неизбежно приводит к ухудшению качества производимой продукции.

Необходимо отметить, что в рамках одного ГОСТа на муку можно приобрести сырье по разным ценам от различных поставщиков с отличающимися показателями качества. Наряду с соблюдением «гостовских» требований ряд показателей муки (и, что важно, показатель уровня клейковины) может значительно варьироваться, что существенным образом отражается на ухудшении потребительских свойств хлеба. Если доля клейковины в муке низкая, то такой хлеб имеет меньший объемный выход, низкую эластичность и крошится. Повышенный уровень крошимости хлеба – на сегодня один из серьезных параметров ухудшения потребительских свойств хлеба (Дефекты хлеба, 2015).

В условиях падающего качества зерна для нивелирования снижения хлебопекарных свойств муки на хлебопекарных предприятиях все шире используют современные ингредиенты, корректирующие качество муки: это

Таблица 2. Структура качества зерна мягкой пшеницы в 2011–2014 гг.*

Год	Объем обследованного зерна в регионах, млн т (%*)	Выявлено пшеницы продовольственной, млн т (%**)	Распределение пшеницы продовольственной по классам, %				Непродовольственная пшеница 5-го класса, млн т (%**)
			1-й	2-й	3-й	4-й	
2011	Нет данных	24,1 (73,5)	0,08	0,9	35,8	36,7	8,6 (26,3)
2012	20,0 (54,5)	15,9 (79,9)	0,004	0,04	49,8	30,1	4,0 (20,1)
2013	26,6 (52,7)	20,3 (76,5)	Нет	0,001	38,7	37,7	6,3 (23,5)
2014	12,5 (42,1)	9,6 (77,5)	Нет	0,04	29,8	47,6	2,8 (22,5)

* – доля от фактического валового сбора в обследованных регионах Российской Федерации; ** – доля от объема обследования

Таблица 3. Структура качества зерна твердой пшеницы в 2011–2013 гг.*

Год	Объем обследованного зерна в регионах, тыс. т (%*)	Выявлено пшеницы продовольственной, тыс. т (%**)	Распределение пшеницы продовольственной по классам, %				Непродовольственная пшеница 5-го класса, тыс. т (%**)
			1-й	2-й	3-й	4-й	
2011	Нет данных	266,1 (84,7)	4,2	0,5	31,8	48,2	45,8 (14,6)
2012	119,6 (54,9)	104,2 (87,2)	1,7	Нет	44,0	41,5	15,4 (12,9)
2013	249,2 (52,4)	205,4 (82,4)	0,2	0,55	27,3	54,4	43,7 (17,6)

* – доля от фактического валового сбора в обследованных регионах Российской Федерации; ** – доля от объема обследования

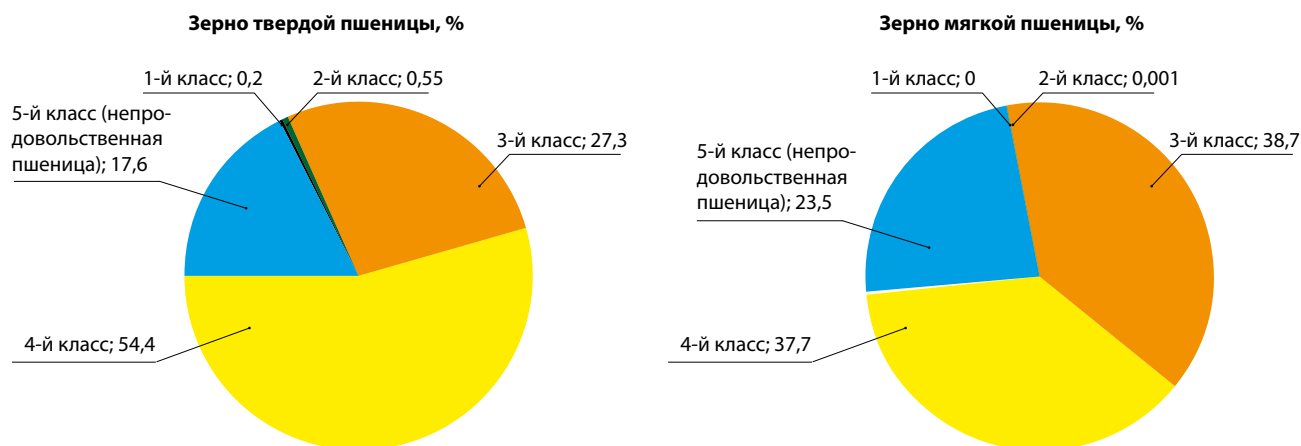


Рис. 1. Структура качества зерна твердой и мягкой пшеницы в Российской Федерации в 2013 г.

комплексные и модульные хлебопекарные улучшители направленного действия; маргарины и смеси для приготовления хлеба².

Согласно ГОСТ Р 51785-01 хлебопекарный улучшитель – это пищевая добавка (или смесь пищевых добавок), улучшающая свойства теста и качество хлебобулочных изделий. Комплексный хлебопекарный улучшитель – это взаимосвязанная и сбалансированная комбинация различных компонентов (различной природы и принципа действия), которая может включать: окислители, ферменты, эмульгаторы, восстановители, компоненты со специальным эффектом, например добавки против плесневения и заболевания картофельной болезнью, а также наполнители – крахмал, соевую муку, сахар, искусственные подсластители, сухую клейковину и др.

В современном хлебопечении в качестве улучшителей используют несколько десятков различных веществ как биологического, так и химического происхождения. Активное применение пищевых добавок как корректоров свойств муки расширило возможности предприятий в использовании муки ненадлежащего качества, а также в определенной мере позволило решить вопросы повышения технологичности хлебопекарного производства. Так, можно продлить на значительное время сроки хранения хлеба и расширить географию сбыта; качество исходной муки становится не таким значимым фактором при внесении соответствующих добавок и улучшителей, а вкусоароматические добавки дают возможность разнообразить ассортимент выпускаемой продукции (Serdyukova, Usenko, 2013).

Однако наряду с положительным влиянием пищевых добавок есть и обратная сторона их влияния на здоровье человека. Многие из них, как правило, не имеют пищевого значения и в лучшем случае биологически инертны, а в худшем оказываются биологически активны и небезразличны для организма. Так, в практической деятельности мукомольных предприятий применяют агрессивные

химические вещества, например, для отбеливания муки используют пероксид бензоила (E928) (Позняковский и др., 2011).

Новые рецепты меняют вкус хлеба, меняется структура мякиша. Новые сорта хлебобулочной продукции по составу продукта зачастую находятся между классическим хлебом, содержащим минимальное жиров, и сдобными булочными изделиями, именуясь при этом хлебом. Так, модульная добавка Софтр Интенс Фреш, в состав которой входят E471 и ферменты амилаза и ксиланаза, может быть добавлена к любой рецептуре хлеба и не требует внесения дополнительной информации на этикетке. Пищевая добавка E471 обозначает ряд моно- и диглицеридов жирных кислот (искусственных жиров), считается безвредной и усваивается как любые другие жиры. Однако за счет присутствия эмульгатора будет значительно повышена жирность и калорийность продуктов.

Полагаем, что увеличение содержания жира в хлебобулочной продукции меняет ее вклад в пирамиду питания. Традиционный хлеб содержит полезные вещества в структуре, благоприятной для поддержания жизнедеятельности и здоровья человека (достаточно много белков (4,7–8,3%), мало жиров (0,6–1,3%), значительное количество углеводов (40–56%), минеральные соединения и пищевые волокна), и находится на нижнем (базовом) этаже пирамиды. Современные сорта хлеба с применением улучшителей по содержанию жиров уже можно отнести на этаж выше. На наш взгляд сложилась неблагоприятная тенденция, поскольку в структуре рациона питания населения Российской Федерации наблюдается увеличение доли жира относительно его рациональной нормы.

Согласно данным Росстата (Выборочное наблюдение рациона питания населения. Федеральная служба государственной статистики, 2013), в общей калорийности рациона питания населения фактическая структура потребления белков, жиров и углеводов выглядит следующим образом: 13,6:38,7:47,9 (для сравнения: пропорции сба-

² В настоящее время хлебопекарные ингредиенты предлагают более 20 зарубежных компаний. В России их производят в основном мировые концерны, которые имеют представительства и производства на российской территории, такие как IREKS, PURATOS, LESAFFRE.

лансированного пищевого рациона: 15:30:55; Позняковский, 2007). Применение хлебопекарных улучшителей и переход в соответствии с этим на ускоренные технологии производства хлеба приводит к тому, что население может получать нездоровую хлебную продукцию, существенно отличающуюся по своим свойствам от традиционного хлеба.

Как показано, важным фактором, вызывающим рост процессов химизации в хлебопечении, является недостаток на российском рынке зерна пшеницы 1-го и 2-го класса. Для уменьшения диспропорций в структуре качества зерна можно использовать естественный генетический потенциал пшеницы в процессе селекции сортов со свойствами, отвечающими современным технологическим требованиям хлебопекарного производства. Это позволит избежать массивного применения химически синтезированных пищевых добавок в производстве хлеба и будет содействовать обеспечению населения качественной продукцией с высокой пищевой ценностью.

Роль генетических факторов в формировании технологических свойств зерна и муки

Технологические свойства зерна были одними из первых признаков, которые в начале XX в., после открытия законов Менделя, стали изучать путем гибридизации. Была установлена применимость этих законов к наследованию хлебопекарных и мукомольных качеств. Так, Biffen (1908) впервые показал, что мягкозерность эндосперма пшеницы, связанная с указанными признаками, контролируется одним геном, который лишь спустя более чем 50 лет был локализован в хромосоме 5D. В 1930–1940-е гг. были инициированы генетические исследования физических свойств клейковины. Уже тогда стало ясно, что признак контролируется несколькими генами (Worzella, 1934, 1942).

В нашей стране целенаправленные исследования в области генетики качества зерна как комплексного признака начались в середине 1960-х гг. Ольгой Ивановной Майстренко в Институте цитологии и генетики СО АН СССР. Путем исследования гибридов между сортами с различным качеством клейковины была показана вероятность появления ценных по данному признаку генотипов на определенных этапах отбора (Майстренко, Трошина, 1966). В этой же работе сообщалось, что качество клейковины определяется небольшим (3–4) количеством генов, следовательно, этим свойством можно управлять при создании новых сортов пшеницы. Дальнейшие работы 1970–1980-х гг., основанные на манипуляции с отдельными хромосомами генома пшеницы, подтвердили этот вывод. Было обнаружено, что отсутствие некоторых хромосом или хромосомных плеч приводит к значительным изменениям отдельных технологических свойств зерна и муки. Например, отсутствие одной дозы хромосомы 1D у высококачественного сорта Саратовская 29 (С29) приводит к резкому ухудшению физических свойств муки и теста (Arbuzova et al., 2001). Утеря короткого плеча хромосомы 4В у низкокачественного сорта Чайниз Спринг; наоборот, приводит к увеличению силы муки (Maystrenko et al., 1973). Межсортовое замещение хромосомы 1А низкокачественного сорта Диамант 2 (с дефектным вариантом

гена, синтезирующего один из белков клейковины) на хромосому от высококачественного сорта Новосибирская 67 приводит к увеличению силы муки (Пшеничникова и др., 2006). Подобное замещение хромосомы 4D мягкой пшеницы «сильного» сорта С29 на гомологичную от сорта Янецкис Пробат с более низкой силой муки приводит к снижению этого технологического свойства (Ermaikova et al., 2008).

В 1980–1990-е гг. широко изучался аллелизм по отдельным компонентным белкам клейковины (глиадином и глютеинам) и его связь с отдельными физическими параметрами муки и теста. Было показано, что определенные варианты глютеина действительно существенно влияют на силу муки и упругость теста (Cornish et al., 2006). Гены, кодирующие такие варианты глютеина, широко используются при создании новых сортов.

Таким образом, результаты многолетних исследований показали, что разнообразие по технологическим свойствам зерна и муки может быть обеспечено генетически в сортах пшеницы, так как все биохимические компоненты клейковины образуются при созревании зерновки. Для некоторых технологических характеристик выявлены контролирующие гены и описаны их разные варианты (McIntosh et al., 2015). Например, разнообразие по мукомольным признакам определяется разными вариантами генов, кодирующих белки-пуриноидины (хромосома 5D). Вязко эластичные свойства клейковины в значительной степени определяются ее белковым составом – компонентным составом многочисленных белков глиадинов и глютеинов. Их гены находятся в хромосомах гомеологических групп 1 и 6 (McIntosh et al., 2015).

Тем не менее выявленные гены, контролирующие биосинтез отдельных структурных элементов клейковины, не объясняли всего генетического разнообразия пшеницы по технологическим свойствам зерна и муки. Это неудивительно с учетом сложности и разнообразия физиологических процессов, происходящих при формировании эндосперма зерновки. Необходимо было изучить генетический контроль регуляции этих процессов, который носит количественный характер, а также их место и роль в жизненном цикле растения. Только с появлением современных молекулярно-генетических технологий стало возможным определение конкретных участков генома (локусов), которые вносят вклад в количественные признаки. К настоящему моменту в геноме пшеницы выявлены многочисленные локусы, влияющие на отдельные технологические параметры зерна (Balyan et al., 2013; McIntosh et al., 2015). Накопление этих данных и развитие методов анализа ДНК позволило создать новые инструменты для повышения эффективности отбора нужных форм в процессе селекции и ускорения создания сортов с заданными свойствами, а также для решения ряда других вопросов, возникающих на всех этапах процесса (предселекционные исследования – селекция – регистрация сорта – семеноводство – производство зерна – производство муки – конечный продукт), в ходе которого реализуется и сказывается на качестве конечного продукта заложенный в генофонде предков культур генетический потенциал.

Молекулярная генетика и геномика: эффективное управление и идентификация генов в сортах, семенах и пищевых продуктах

В 1983 г. было впервые предложено использование ДНК-маркеров в селекции растений (Beckmann, Soller, 1983; Burr et al., 1983; Tanksley, 1983), и сегодня уже трудно представить селекционный процесс без использования методов современной генетики и геномики. Классические подходы селекции, основанные на скрещивании и отборе растений, комбинируют с современными методами оценки селекционного материала на уровне ДНК (ДНК-генотипирование). За счет этого сочетания возможно ускоренное создание новых улучшенных сортов на основе существующего генетического разнообразия.

ДНК-генотипирование активно используют в крупных международных селекционных центрах (William et al., 2007; Xu, Crouch, 2008; Brumlop, Finckh, 2011). В последние годы данные подходы также внедряются и в селекционные программы в России и странах СНГ (Беспалова и др., 2012; Урбанович и др., 2013; Давоян и др., 2014; Кильчевский и др., 2014). Селекция пшеницы с интенсивным использованием методов ДНК-генотипирования осуществляется в странах – крупнейших производителях зерна, в частности в Канаде и Австралии (Eagles et al., 2001; Randhawa et al., 2013). Преимущества селекции растений с использованием ДНК-генотипирования были, в первую очередь, по достоинству оценены и распространены в программах, нацеленных на повышение устойчивости к фитопатогенам (рис. 2). Современные методы генетики и геномики также активно используют в селекции на продуктивность, качество и устойчивость к различным факторам абиотического стресса (рис. 2).

Методы ДНК-генотипирования для ускоренного создания сортов с заданными свойствами. За три десятилетия методы ДНК-генотипирования существенно трансформировались: появились простые в использовании технологии и автоматизированные процессы, что и привело к широкому внедрению в селекционную практику. Даже первые подходы в 1980-е гг., основанные на использовании RFLP-анализа, дорогостоящего и трудоемкого по сравнению с современными методами генотипирования, показали экономическую выгоду от использования ДНК-технологий в селекции (Beckmann, Soller, 1983; Burr et al., 1983; Tanksley, 1983). Позже с появлением более дешевого и несложного метода анализа ДНК – полимеразной цепной реакции (ПЦР) (Saiki et al., 1985) – был разработан широкий спектр подходов для диагностики генотипа, основанный на использовании этого метода.

ДНК-генотипирование позволяет выявлять различия между разными биологическими образцами в определенных участках генома – «маркировать» геном, его участки или конкретные гены. Поэтому появился термин «маркер», а сочетание этого термина с различными подходами дало начало обозначениям: RFLP-маркер, ПЦР-маркер (частные случаи ПЦР-маркеров – RAPD-маркеры, SSR-маркеры, AFLP-маркеры и др.; см. обзоры: Хлесткина, Салина, 2006; Хлесткина, 2011). Сочетание ДНК-генотипирования с классическими подходами селекции, основанными на скрещивании и отборе, стало



Рис. 2. Интенсивность использования ДНК-генотипирования для решения различных задач селекции растений (доля, в %, от опубликованных работ 1995–2009 гг.), согласно оценке Brumlop, Finckh (2011).

называться маркер-ориентированной селекцией (МОС); синонимы: маркер-вспомогательная селекция, маркер-ассоциированная селекция, маркер-опосредованная селекция, отбор с помощью маркеров, маркерный отбор, маркер-контролируемый отбор, маркерная селекция, молекулярная селекция (*англ.* – marker-assisted selection, marker-aided selection, marker-assisted breeding).

Для того чтобы отслеживать перенос определенного гена в процессе реализации МОС, обязательно знать первичную структуру ДНК гена, и это существенно, так как среди возделываемых растений лишь немногие имеют полностью секвенированный геном. Достаточно знать расположение гена на хромосоме и близлежащие ДНК-маркеры, желателен фланкирующий ген с обеих сторон. С помощью таких маркеров можно отслеживать передачу потомству конкретного участка генома от определенной родительской формы – донора полезного признака. Точность отбора весьма высока и зависит от близости расположения маркера. Например, при использовании пары маркеров, расположенных по разные стороны от гена на расстоянии 5 см каждый, можно добиться точности отбора потомков по этому гену на уровне примерно 99,5 %.

Накопление данных о структуре хозяйственно-ценных генов возделываемых растений и выявление изменений в ДНК, связанных с функциональными вариантами генов, позволяет разрабатывать внутригенные маркеры; их называют функциональными. Использование внутригенных маркеров дает возможность добиться 100 %-й точности при отборе нужных генотипов. Функциональные маркеры еще только начинают разрабатываться (интенсивность их разработки зависит от степени изученности генома и развития генетических исследований у того или иного вида растений) и перспективны для селекции (Liu et al., 2012; Lau et al., 2015).

С помощью внутригенных или сцепленных с геном диагностических маркеров можно переносить полезные гены от доноров в элитные сорта (реципиенты). Для этого используют схемы маркер-контролируемого беккроссирования, наиболее популярного подхода в МОС-программах

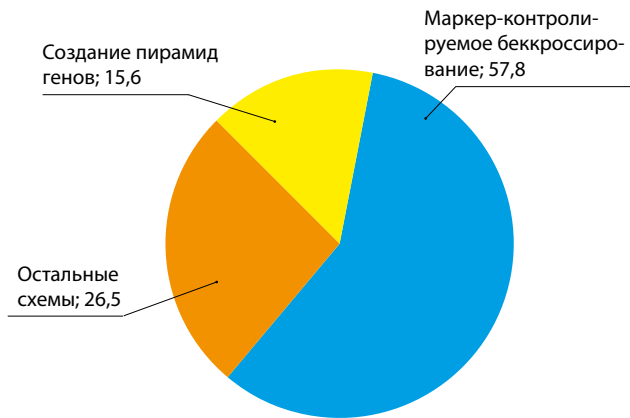


Рис. 3. Интенсивность использования ДНК-генотипирования в разных селекционных схемах (доля, в %, от опубликованных работ в 1995–2009 гг.), согласно оценке Brumlop, Finckh (2011).

(рис. 3). В них помимо маркеров, диагностических для целевого гена, часто используют маркеры, равномерно распределенные по геному. Это делается для ускоренного восстановления генома реципиента (элитного сорта). Такой подход позволяет завершить процесс беккроссирования на несколько поколений раньше (Moose, Mumm, 2008; Хлесткина, 2013).

С помощью ДНК-генотипирования можно не только ускорять и удешевлять селекционный процесс, но и создавать сорта с комбинацией генов, которые крайне трудно получить путем отбора растений только по внешним признакам (фенотипу). Например, ДНК-генотипирование облегчает процесс создания пирамид генов (метод «gene pyramiding») для создания сортов со стабильной устойчивостью к фитопатогенам (рис. 3). Таким путем можно относительно легко получить в одном генотипе сочетание генов устойчивости к различным патогенам или разным расам одного и того же патогена. Достижение подобного результата без использования маркеров – крайне трудоемкий и длительный процесс (Landjeva et al., 2007; Moose, Mumm, 2008).

Кроме маркер-контролируемого беккроссирования и создания пирамид генов, существует ряд других схем маркер-ориентированной селекции (см. обзорные статьи Tanksley et al., 1989; Landjeva et al., 2007; Moose, Mumm, 2008; Хлесткина, 2013).

Следующим после ПЦР изобретением, важным для развития подходов ДНК-генотипирования и особенно для автоматизации этого процесса, что существенно в случае широкомасштабных исследований, стала разработка и усовершенствование ДНК-чипов (Skena et al., 1995). ДНК-чипы могут применяться для анализа участков геномов, в которых имеются однонуклеотидные замены. В геномах живых организмов такие замены встречаются часто, например, у пшеницы – одна замена на ок. 500 пар нуклеотидов (Somers et al., 2003; Paux et al., 2012). Один ДНК-чип может содержать десятки тысяч зондов, маркирующих однонуклеотидные замены. Это, по сути, позволяет при однократном применении достаточно полно исследовать весь геном одного биологического образца. А, поскольку анализ ДНК-чипов полностью автоматизи-

рован, полногеномный анализ может осуществляться в кратчайшие сроки для большого числа биологических образцов. Это открыло новую возможность для селекции. Именно благодаря появлению ДНК-чипов был разработан подход, названный геномной селекцией (ГС), он используется уже во многих программах, в том числе в селекции пшеницы (Heffner et al., 2011; Charmet, Storlie, 2012).

В последние 5 лет из-за резкого снижения стоимости секвенирования наряду с использованием ДНК-чипов для широкомасштабного генотипирования (в том числе в селекционных программах) стали применяться подходы, в которых базовым методом является секвенирование (Elshire et al., 2011; Paux et al., 2012; Poland et al., 2012; Kim et al., 2016). Для геномной селекции в отличие от МОС не требуются знания о генах, влияющих на признаки, или информация об их локализации, то есть нет необходимости в проведении генетических исследований перед селекционным процессом, что позволяет сократить срок создания сорта. Кроме того, геномная селекция имеет преимущество при отборе по признакам, имеющим сложный полигенный контроль (количественные признаки). Heffner и др. (2010) оценили потенциальную выгоду в случае сложных признаков: только за один год геномной селекции можно добиться вдвое (для озимой пшеницы) и втрое (для кукурузы) большего ответа на отбор, чем за такой же период и при таких же потраченных средствах, но с помощью маркер-ориентированной селекции (в свою очередь, использование МОС позволяет наращивать показатели, как минимум, вдвое интенсивнее, чем при отборе без маркеров).

Итак, геномная селекция оптимальна для отбора по сложным количественным признакам, а маркер-ориентированная селекция эффективна и выгодна в случае признаков с моно- или олигогенным контролем. Оба метода, ГС и МОС, успешно используют в настоящее время для получения новых сортов растений, в том числе и сортов пшеницы (Беспалова и др., 2012; Charmet, Storlie, 2012; Paux et al., 2012; Poland et al., 2012; Randhawa et al., 2013). Если создание сорта с помощью традиционных методов селекции требует 10–15 лет работы, то с использованием ДНК-генотипирования можно получить новый сорт в течение 5–6 лет. В процессе селекции можно сэкономить время, сократить посевные площади и снизить затраты трудовых и энергетических ресурсов за счет экспресс-оценки генотипов, позволяющей отбирать нужные формы в потомстве на ранних стадиях развития растений и избегать трудоемкого тестирования фенотипических признаков (Landjeva et al., 2007; Moose, Mumm, 2008; Хлесткина, 2013).

Если в дополнение к геномной селекции и МОС на некоторых промежуточных и завершающих этапах селекционного процесса использовать метод удвоенных гаплоидов (биотехнологический подход, позволяющий в ускоренном режиме получать гомозиготные формы; Vaenziger et al., 1989), то можно вдвое сократить этапы по времени и сэкономить при создании сорта еще 2–3 года (и даже более в зависимости от применяемой схемы селекции).

Таким образом, управление созданием новых сортов с заданными свойствами стало эффективным и динамич-

ным процессом, позволяющим своевременно создавать формы, как приспособленные к быстро меняющимся условиям окружающей среды (климатические изменения, возникновение и распространение новых фитопатогенов), так и адаптированные к условиям и требованиям хлебопекарной отрасли.

Другие практические аспекты ДНК-идентификации растений. Выше мы рассмотрели возможности молекулярно-генетических подходов для ускорения и повышения эффективности процесса селекции. Однако селекция – это лишь одно звено процесса, начинающегося с поиска полезных генов и исходных форм для селекции и завершающегося производством пищевых продуктов, а ДНК-технологии могут быть полезны на всех этапах цепочки «предселекционные исследования – селекция – регистрация сорта – семеноводство – производство зерна – производство муки – конечный продукт».

Задачи, связанные с идентификацией генотипа, могут возникать по завершении создания сорта – при его регистрации или на более поздних этапах цепочки. В частности, характеристики, выявляемые методами ДНК-генотипирования, имеют перспективу включения в список критериев для регистрации сортов. Международный союз по охране новых сортов растений (Union internationale pour la protection des obtentions végétales – UPOV, фр.) регулярно проводит совещания рабочей группы по биохимическим, молекулярным методам и ДНК-профилированию (Working group on biochemical and molecular techniques and DNA-profiling), собирает экспертные оценки, касающиеся возможности использования определенных типов и наборов методик для генотипирования различных возделываемых видов растений (<http://www.upov.int>). В некоторых странах предлагаются коммерческие услуги сертифицированных компаний по ДНК-паспортизации сортов растений (пример: <http://www.omicusa.com/services/rice-variety-identification.html>).

ДНК-генотипирование, а также методы определения генотипа с помощью биохимических подходов используются для контроля сортовой принадлежности и сортовой чистоты семенных и товарных партий зерна. Подобный опыт есть как за рубежом, так и в России (примеры: <http://seedcert.oregonstate.edu/>; <http://www.vigg.ru/institute/podrazdelenija/otdel-genetiki-rastenii/ispytatelnaja-laboratorija/>).

Помимо установления сортовой идентичности зерна или произведенных из него пищевых продуктов, могут возникать задачи, связанные с идентификацией в продуктах примесей различного биологического происхождения. Для этого требуется метод генотипирования, позволяющий проводить различия не между сортами одного вида, а между разными видами. Поиском универсальных подходов к видоидентификации живых организмов занялся в 2004 г. международный консорциум «Штрихкод жизни» (Consortium for the Barcode of Life, CBOL <http://www.barcodeoflife.org>). ДНК-штрихкодирование (DNA-barcoding) используется в настоящее время и для решения различных биологических задач, и в практических целях (для идентификации компонентов биологического происхождения в составе пищевых продуктов; Galimberti et al., 2013). Выявлять и устанавливать происхождение

растительных примесей в продуктах питания предложено с помощью эффективного метода ДНК-генотипирования, основанного на анализе полиморфизма длины интронов (Ponzoni et al., 2013). Для проверки безглютеновой диетической пищи также разработаны специальные тесты, основанные на анализе ДНК, – от детекции генома пшеницы до идентификации отдельных глиадинокодирующих генов (Dahinden et al., 2001; Martín-Fernandez et al., 2015).

Анализ генов и генотипов на уровне ДНК имеет важное значение и на этапах, предшествующих селекции. Так, при поиске исходных родительских форм для скрещивания с помощью ДНК-генотипирования можно отобрать в генофондах наиболее подходящие образцы, несущие нужные варианты определенных генов. Этому предшествуют генетические исследования, направленные на выявление локализации генов на хромосомах и подбор диагностических ДНК-маркеров для «мониторинга» генов. К настоящему моменту на хромосомах пшеницы с помощью ДНК-маркеров картированы сотни хозяйственно-ценных генов и локусов количественных признаков (McIntosh et al., 2015).

Путем маркер-контролируемого введения полезных генов от диких видов в культурные формы растений можно целенаправленно создавать исходный материал для селекции (например, Timonova et al., 2013).

Без ДНК-генотипирования не обойтись и в процессе постоянного поддержания и пополнения генофондов возделываемых растений и их сородичей как источников природного генетического разнообразия для задач селекции. Методы генотипирования облегчают систематизацию материала, выявляют дубликации (Dobrovolskaya et al., 2005), позволяя оценивать внутривидовое генетическое разнообразие в коллекциях (Huang et al., 2002; Митрофанова и др., 2012) и его изменение с течением времени (Khlestkina et al., 2004), а также разрабатывать геномные паспорта сортов (Хлесткина и др., 2004).

Молекулярно-генетические исследования для управления технологическими свойствами зерна пшеницы

Для ускоренного получения сортов с заданными технологическими свойствами важно иметь представление о генетических механизмах, обеспечивающих разнообразие по технологическим свойствам зерна и муки, обладать информацией о локализации и структуре генов, детерминирующих эти свойства, и владеть набором диагностических ДНК-маркеров для экспресс-отбора генотипов в процессе селекции, позволяющего избегать применения трудоемких методов фенотипирования на промежуточных этапах.

Содержание белка и сырой клейковины. Важнейшей характеристикой, используемой, в частности, при оценке и приемке выращенного зерна, является содержание белка и клейковины в зерне пшеницы. Селекция на высокое содержание белка сопряжена с определенными трудностями. Во-первых, в его генетический контроль, как показывают многие, в том числе и современные исследования, вовлечено много генов с аддитивным эффектом (Morris et al., 1973; Tarkowski, Otlowska-Miazga, 1976; Храброва, Майстренко, 1980, 1984; Groos et al., 2003; Prasad et al., 2003). Во-вторых, изменчивость по этому признаку тесно

связана с общей реакцией растения на абиотические и биотические факторы. Однако если высокий уровень содержания белка и клейковины жестко контролируется со стороны генома, то он сохраняется и при варьировании условий среды. Примером может быть сорт пшеницы Диамант 2, который сохраняет высокие показатели по этому признаку в любых условиях (Майстренко и др., 1969; Пшеничникова и др., 2006). Совсем недавно было показано, что данный сорт несет дикий тип аллеля гена *NAM-B1* (*Gpc-B1*), определяющего высокое содержание белка в зерне (Asplund et al., 2013).

Для содержания белка часто наблюдается обратная корреляция с урожайностью (Simmonds, 1995). Тем не менее, благодаря развитию работ по генетике пшеницы, удалось выявить гены, использование которых в селекции позволяет преодолевать указанные трудности (табл. 4). Наиболее убедительным примером стала идентификация в геноме дикорастущей пшеницы *T. dicoccoides* гена, обеспечивающего высокое содержание белка в зерне, – *Gpc-B1* (Jorra, Cantrell, 1990; Deckard et al., 1996). Этот ген удалось передать мягкой пшенице, у которой он повышал содержание белка в зерне, но оказывал лишь незначительный отрицательный эффект на урожайность и другие хозяйственно-ценные признаки (Deckard et al., 1996; Kovacs et al., 1998). *Gpc-B1* детально изучен на молекулярном уровне, для него разработаны диагностические маркеры (Mesfin et al., 1999; Khan et al., 2000; Distelfeld et al., 2006; Uauy et al., 2006), эффективность использования которых в селекции пшеницы на содержание белка получила множество подтверждений. Например, Vishwakarma и др. (2014) использовали диагностический маркер *Xiscw108* для введения *Gpc-B1* в элитный сорт пшеницы, а также 86 микросателлитных маркеров для контролируемого восстановления генома сорта-реципиента в ходе возвратных скрещиваний. В результате за 2,5 года (пять вегетационных периодов) ген *Gpc-B1* был введен, содержание белка возросло с 10 до 13–17 %, а геном элитного сорта восстановлен в дочерних линиях почти на 90 %. Молекулярно-генетическое картирование позволило выявить и другие гены (локусы), контролирующие высокое содержание белка, например *QGpc.ipk-7B* (Khlestkina et al., 2009), *QGlc.ipk-5B* и *QGlc.ipk-7A* (Пшеничникова и др., 2008). *QGpc.ipk-7B* также не оказывал отрицательного эффекта на продуктивность (Khlestkina et al., 2009).

Мукомольные свойства. Рыночная классификация сортов мягкой пшеницы основана, в первую очередь, на характеристиках текстуры эндосперма, обуславливающей производственное назначение муки (табл. 1). Твердозерность, определяемая через диаметр частиц муки при размоле, контролируется локусом *Ha*, который находится в коротком плече хромосомы 5D. Он содержит в своем составе несколько генов: *Pina-D1* и *Pinb-D1*, кодирующих белки-пуриноидины (PINa и PINb), и ген *GSP1*, кодирующий белок «мягкозерности». Вместе они формируют сложный белок фриабилин, локализующийся на поверхности крахмальных гранул у пшеницы с мягкой текстурой эндосперма. Пуриноидины и *GSP1* присутствуют и у твердозерных сортов мягкой пшеницы, но степень их адгезии на поверхности крахмальных гранул меняется и коррелирует со степенью твердозерности в зависимости

от сочетания разных аллелей генов *Pina-D1* и *Pinb-D1* (Turner et al., 1999; Ikeda et al., 2005; Ram et al., 2005; Chen et al., 2006). Диагностические маркеры к генам *Pina* и *Pinb* (Gautier et al., 1994; Giroux, Morris, 1997, 1998; Tranquilli et al., 1999; Li et al., 2008; Huang, Brûlé-Babel, 2011 и др.; табл. 4) используются для оценки селекционного материала и сортовых коллекций (Chen et al., 2006; Eagles et al., 2006; Wang et al., 2008).

Стекловидность – признак, учитываемый при различных видах оценки качества зерна и муки в России, коррелирует с твердозерностью, однако не равнозначен ей. Уровень стекловидности определяет не только выход высококачественных фракций муки (крупок) при размоле. С ней связана доступность крахмала белково-крахмального комплекса для дрожжей при расстойке теста или, наоборот, целостность крахмальных гранул при изготовлении кондитерских изделий. Стекловидность и твердозерность не равнозначны и генетически. Так, в картирующей популяции ITMI, использованной для поиска локусов, ассоциированных с технологическими свойствами зерна, в районе гена *Ha* на хромосоме 5D были картированы QTL одновременно для стекловидности и твердозерности. Однако на хромосомах 2D и 3A были картированы независимые главные локусы *QVtr.ipk-2D* и *QVtr.ipk-3A*, связанные со стекловидностью (Пшеничникова и др., 2008). Интересно, что *QVtr.ipk-3A* совпадал по положению с ранее найденным локусом, связанным с мукомольными показателями в другой картирующей популяции (Parker et al., 1999). С другой стороны, *QVtr.ipk-2D* был картирован в одном положении с локусом, контролирующим массу 1 000 зерен, – важный мукомольный показатель, определяющий выход муки при размоле. Для этого признака картировано множество локусов в геноме пшеницы, почти в каждой хромосоме. Практического внимания заслуживают локусы, для которых подобраны диагностические ДНК-маркеры (табл. 4). В частности, гены *TaCwi-A1* (Ma et al., 2012) и *TaGW2-6A* (Su et al., 2011) были идентифицированы в хромосомах 2A и 6A пшеницы путем поиска соответствующих генов-ортологов из генома риса. Они дают прибавку по 2,4 и 3,0 г к массе 1 000 зерен, соответственно. К ним подобраны диагностические ДНК-маркеры (табл. 4). В селекции также может быть использован локус *QTgw.ipk-7D*, перенесенный в сорт мягкой пшеницы Prinz от синтетического гексаплоида. Он картирован в интервале микросателлитных локусов *Xgwm295-Xgwm1002* дистального района хромосомы 7DS4-0.61-1.00 (Röder et al., 2008).

Реологические свойства муки и теста. Эластичность теста определяет его пригодность для того или иного вида мучных изделий (табл. 1). В России наиболее широко употребляют дрожжевой хлеб, для которого требуется мука с высокой силой и сбалансированными упругостью и растяжимостью, которые, в свою очередь, обуславливают высокие хлебопекарные качества. Физико-химические свойства теста обеспечиваются образованием в процессе замеса муки сложного непрерывного трехмерного белкового матрикса, состоящего из множества запасных белков эндосперма различного аминокислотного состава. Его формирование – сложная цепь биологических процессов биосинтеза, находящихся под контролем многих генных

Таблица 4. ДНК-маркеры для управления технологическими свойствами зерна пшеницы на генетическом уровне

Признак	Информация для отбора по генотипу (основные примеры)		
	Гены/локализация (источники)	ДНК-маркеры	Ссылки
Мукомольные свойства			
масса 1 000 зерен	<i>TaCwi-A1/2AL</i> (источник: Doumai)	CW121, CW122	Ma et al., 2012
	<i>TaGw2-6A/6A</i> (источник: южные пшеницы Китая)	CAPS-маркеры	Su et al., 2011
	<i>QTgw.ipk-7D</i> (источник: Prinz)	<i>Xgwm1002</i>	Röder et al., 2008
стекловидность	<i>QVitr.ipk-2D</i> (источник: синтетик W7984)	<i>Xcdo1379</i>	Пшеничникова и др., 2008
	<i>QVitr.ipk-5D</i> (источник: Opata 85)	<i>Xfba393b</i>	Там же
	<i>QVitr.ipk-3A</i> (источник: Opata 85)	<i>Xmwg30</i>	Там же
твердозерность	<i>Pina-D1/5DS</i> <i>Pinb-D1/5DS</i>	Ряд ПЦР- и CAPS-маркеров	Gautier et al., 1994; Giroux, Morris, 1997, 1998; Tranquilli et al., 1999; Li et al., 2008; Huang, Brulé-Babel, 2011
	Содержание белка и сырой клейковины в зерне	<i>Gpc-B1 / 6BS</i> (источники: ND683, Yesoga rojo, Anza, Kern)	<i>Xuhw89</i> , <i>Xucw108</i> , <i>Xucw109</i>
<i>Gpc-B2 (7BS)</i> <i>QGlc.ipk-5B</i> (источник: синтетик W7984)		<i>Xgwm537</i> <i>Xtam72c</i>	Khlestkina et al., 2009 Пшеничникова и др., 2008
<i>QGlc.ipk-7A</i> (источник: синтетик W7984)		<i>Xcdo475b</i>	Там же
<i>QWgc.sdau-6D</i> (источник: Chuan 350505)		<i>Xswes426b</i>	Sun et al., 2008
<i>Wx-A1/7AS</i> , <i>Wx-B1/4AL</i> , <i>Wx-D1/7DS</i>		Ряд доминантных и кодоминантных ПЦР-маркеров	Shariflou, Sharp, 1999; Vrinten et al., 1999; McLauchlan et al., 2001; Shariflou et al., 2001; Nakamura et al., 2002
Свойства крахмала			
Реологические свойства муки и теста			
сила муки (альвеограф)	<i>Glu-1</i> и <i>Glu-3</i> (аллели высоко- и низко-молекулярных глютелинов)	Белковые маркеры, определяемые с помощью SDS-электрофореза	Rasheed et al., 2014 (обзор)
	<i>QDse.icg-4D</i> (источник: Саратовская 29)	<i>Xgwm165</i>	Pshenichnikova et al., 2012
	<i>QDse.ipk-5DL</i> (источник: Opata 85)	<i>Xsud30</i>	Пшеничникова и др., 2008
	<i>QDstren.upm-2AS</i> (источник: Marius)	<i>Xwmc522</i>	Kerfal et al., 2010
упругость (альвеограф)	<i>QTen.ipk-1BL</i> (источник: Opata 85)	<i>Xcdo1189</i>	Пшеничникова и др., 2008
	<i>QTen.ipk-4BL</i> (источник: Opata 85)	<i>Xcdo1312a</i>	Там же
	<i>QDten.upm-2AS</i> (источник: Marius)	<i>Xwmc522</i> , <i>Xwmc177</i>	Kerfal et al., 2010
	<i>QDten.upm-1DL</i> (источник: Cajeme71)	<i>Xcfd92</i> , <i>Xgdm126</i>	Там же
растяжимость (альвеограф)	<i>QExt.ipk-1AL</i> (источник: Opata 85)	<i>Xmwg55 (Glu-A1)</i>	Пшеничникова и др., 2008
	<i>QDext.upm-5AS</i> (источник: Cajeme71)	<i>Xgwm304</i> , <i>Xgwm293</i>	Kerfal et al., 2010
	<i>QDext.upm-1DL</i> (источник: Marius)	<i>Xcfd92</i> , <i>Xgdm126</i>	Там же
водопоглотительная способность (по фаринографу)	<i>QFab.crc-4D</i> (источник: AC Domain)	<i>Xwmc473</i>	McCartney et al., 2006
	<i>QFwa.mna-1A</i> (источник: линия MN99394)	<i>XwPt1782-XwPt231</i>	Tsilo et al., 2013
время образования теста (по фаринографу)	<i>QDdt.mna-1B</i> (источник: линия MN99394)	<i>Xgprw93013c</i>	Tsilo et al., 2013
	<i>QFddt.crc-1B</i> (источник: RL4452)	<i>Xgwm403-Xgwm274</i>	McCartney et al., 2006

Окончание таблицы 4

стабильность (по фаринографу)	<i>Glu-D1</i> (источник: линия MN98550)	<i>Umn26</i>	Tsilo et al., 2013
	<i>QFsta.crc-4B</i> (источник: AC Domain)	<i>Xwmc617-Xgwm540</i>	McCartney et al., 2006
разжижение (по фаринографу)	<i>Glu-D1</i> (источник: линия MN98550)	<i>Umn26</i>	Tsilo et al., 2013
	<i>QFtbd.crc-1B</i> (источник: AC Domain)	<i>Xgwm131-Glu-B1</i>	McCartney et al., 2006
Цвет муки	QTL/7AL (источник: Schomburgk)	<i>Xwua26.4</i>	Parker et al., 1998; Parker, Langridge, 2000;
	<i>Psy-B1</i>	Ряд STS-маркеров	He et al., 2009
	<i>Lpx-B1</i>	LOXA-L/R	Carrera et al., 2007

сетей. В настоящее время хорошо изучена роль запасных белков зерновки – глиаина и глютенина – в образовании клейковины. Если глиаины, образующие длинные линейные молекулы, относительно мало влияют на силу муки, то глютениновые белки, способные образовывать межмолекулярные дисульфидные связи, играют большую роль в формировании трехмерной структуры клейковины. Поэтому аллели, кодирующие белки с высокой концентрацией серосодержащих аминокислот, благоприятны для сортов хлебопекарного назначения. Это, прежде всего, аллели высокомолекулярного глютенина *Glu-A1a* и *b* в хромосоме 1A и *Glu-D1d* в 1D (Cornish et al., 2006), которые целенаправленно вводят в сорта пшеницы. Низкомолекулярные глютенины, кодируемые локусом *Glu-3*, также тесно коррелируют с эластичностью теста (Juhász, Gianibelli, 2006). Аллели *Glu-A3d* и *Glu-B3b* положительно влияют на силу муки. Однако многокомпонентность этой группы белков, их сходство по аминокислотному составу с глиаинами, а также тесное сцепление локусов *Gli-1* и *Glu-3* в хромосомах первой гомеологической группы не позволяют пока надежно использовать их для селекции.

Много локусов, ассоциированных с разнообразием по реологическим свойствам муки и теста, обнаруживаются в экспериментах с использованием картирующих популяций (табл. 4). Очень часто они колокализуются с генами, кодирующими запасные белки в хромосомах первой гомеологической группы. Вместе с тем часть локусов картируется в других хромосомах генома. Так, в работе McCartney и др. (2006) локусы для смешительных свойств (по миксографу) были картированы в районе генов *Glu-B1* и *Glu-B3*, а также на хромосомах 4B, 4D и 7D. В работе с использованием картирующей популяции ITMI локусы, контролирующие силу муки и упругость, были картированы в длинном плече хромосом 5D, а растяжимость была ассоциирована с локусом в районе гена *Glu-A1* (Пшеничникова и др., 2008). Главный локус для многих смешительных характеристик теста был найден при использовании канадской картирующей популяции в хромосоме 4D в районе локуса *Xwmc52* (McCartney et al., 2006). Схожее с ним расположение в хромосоме 4D (в районе маркера *Xgwm165*) имел локус, ассоциированный с силой муки и упругостью, выявленный у сорта Саратовская 29, обладающего великолепными реологическими свойствами теста (Pshenichnikova et al., 2012).

Цвет муки. Белизна муки отражает ее сортность. Чем меньше в муке отрубистых частиц, тем она белее. В настоящее время, как правило, проводят химическое отбеливание муки. Для отбеливания чаще всего используют пероксид кальция (E930) и пероксид бензоила (E928). Однако цвет муки и потребность в отбеливании могут быть отрегулированы на генетическом уровне. Parker с коллегами (1998) показали, что влияние на цвет муки, с одной стороны, генов и, с другой стороны, факторов окружающей среды соотносится примерно как 2:1. Практически в каждой хромосоме пшеницы найдены локусы, которые влияют на окраску пшеницы (Balyan et al., 2013).

Пигментированность муки присуща сортам пшеницы, вырабатывающим много каротиноидов. Parker и Langridge (2000) отметили, что многие современные высокопродуктивные сорта мягкой пшеницы имеют повышенное содержание этих пигментов в муке. Гены пшеницы, участвующие в биосинтезе каротиноидов, хорошо известны (Ficco et al., 2014). Предложен ряд ДНК-маркеров для отбора генотипов с заданным уровнем каротиноидов и цветом муки (Parker, Langridge, 2000; Elouafi et al., 2001; He et al., 2009; табл. 4).

Обесцвечивание муки может быть обусловлено высокой активностью фермента липоксигеназы (Borrelli et al., 1999). Активность липоксигеназы связана с локусом в хромосоме 4BS пшеницы, хорошо изученном на молекулярном уровне (Hessler et al., 2002; Zhang et al., 2015). Разработаны ДНК-маркеры для контроля активности этого фермента (Carrera et al., 2007; Zhang et al., 2015). Потемнение продуктов, произведенных из муки, может быть связано с активностью фермента полифенолоксидазы (Zheng et al., 2013). Результаты, полученные Chang и др. (2007) и Fuerst с коллегами (2008), указывают на потенциальную возможность корректировки уровня данного фермента на генетическом уровне.

На цвет муки также могут влиять содержание белка в зерне, стекловидность, твердозерность, размер и форма зерна и окраска семенной оболочки (Zhang, Tian, 2008), которые также наследуются. В частности, окраска семенной оболочки красозерных сортов определяется генами *R*, активирующими синтез пигментов проантоцианидинов (McIntosh et al., 2015). К настоящему моменту идентифицированы нефункциональные варианты гена *R*

в белозерных сортах, и разработаны ДНК-маркеры для селекции (Himi et al., 2011).

Свойства крахмала. Один из основных компонентов пшеничной муки – крахмал. Его относительное содержание и химический состав влияют на качество продуктов, получаемых из пшеницы. Крахмал представляет собой полимер глюкозы, состоящий из двух различных типов структур: амилозы (линейный полимер) и амилопектина (разветвленная структура). Ключевым ферментом в синтезе амилозы является гранулолсвязанная синтетаза крахмала I (GBSS I), которую кодируют гены *Waxy* (*Wx-A1*, *Wx-B1* и *Wx-D1*; Nakamura et al., 1993). У пшеницы встречаются частичные или полные (по всем трем генам *Wx*) мутанты. Степень влияния на содержание амилозы убывает в ряду *Wx-B1* > *Wx-D1* > *Wx-A1* (Yamamoto, Quynh, 2000). У полных мутантов крахмал состоит только из амилопектина. Синтез амилопектина более сложен и требует участия нескольких ферментов. Соотношение амилозы и амилопектина – важный показатель для производства различных изделий, кроме того, уменьшение количества амилозы может положительно влиять на срок хранения хлебобулочных изделий (Климушина и др., 2010). В настоящее время разработан ряд диагностических маркеров для мутантных вариантов генов *Waxy* (Shariflou, Sharp, 1999; Vrinten et al., 1999; McLauchlan et al., 2001; Shariflou et al., 2001; Nakamura et al., 2002; табл. 4), которые позволяют управлять соотношением амилозы и амилопектина у создаваемых генотипов пшеницы и включены в селекционный процесс (Randhawa et al., 2013).

Средства, предлагаемые для ускорения создания сортов с заданными технологическими свойствами зерна и муки, не исчерпываются приведенным набором генов и маркеров пшеницы (табл. 4). Постоянно идут исследования по разработке новых маркеров (например, в 2014 г. Liu и др. маркировали 27 локусов, связанных с технологическими свойствами зерна и муки озимой пшеницы) и по выявлению источников новых генов или новых улучшенных вариантов уже известных генов. Поиск проводится как среди имеющегося генофонда мягкой пшеницы, так и с привлечением близкородственных видов пшениц и эгилопсов. Так, анализ коллекции современных и стародавних яровых сортов мягкой пшеницы, которые выращивались в Сибири на протяжении XX в., показал значительно более высокий уровень клейковины, высокую упругость и растяжимость теста из муки стародавних сортов, возделываемых в первой половине XX в., по сравнению с современными (Morozova et al., 2015). Идет работа по идентификации генов стародавних сортов и разработке диагностических маркеров, необходимых для вовлечения выявленного генетического потенциала в селекцию на качество зерна мягкой пшеницы.

Гены близкородственных видов (различных видов пшениц и эгилопсов) могут стать источником для разнообразия по технологическим свойствам зерна пшеницы, примером тому служит упомянутый выше *Gpc-B1*, интрогрессированный в геном мягкой пшеницы от *T. dicoccoides*. Вместе с ним и другие гены близкородственных видов можно использовать для увеличения содержания белка в зерне мягкой пшеницы (De Pace et al., 2001; Zanetti et al., 2001; Kunert et al., 2007) и для улучшения хлебопе-

карных свойств (Garg et al., 2014). Источниками высокого содержания клейковины в зерне могут быть виды *Triticum timopheevii*, *Aegilops speltoides* (Pshenichnikova et al., 2015), а также *Ae. markgrafii*. Последний вид может быть источником не только этого признака, но и повышенной стекловидности и высоких физических свойств теста (Ermakova et al., 2011).

С применением знаний и методов современной генетики пшеницы можно не только добиваться ускоренного получения сортов пшеницы с заданными технологическими свойствами зерна и муки, но и решать особые задачи, например, связанные с получением гипоаллергенной пшеницы (Waga, Skoczowski, 2014). Получение «безглютеновых» сортов позволит отойти от практики полного исключения из рациона людей, больных целиакией, продуктов, произведенных из пшеничной муки, и тем самым сохранить для них возможность употребления множества питательных веществ и микроэлементов, содержащихся в зерне пшеницы.

Заключение

Результаты многолетних исследований в области генетики пшеницы показали, что в основе различий по хлебопекарному качеству лежит генетическое разнообразие, заложенное в сортах. Современный уровень исследований позволяет разрабатывать диагностические ДНК-маркеры для ускоренной селекции пшеницы с заданными технологическими свойствами зерна и муки. Таким образом, расширяются возможности для решения задачи обеспечения хлебопекарных предприятий качественным сырьем для производства хлеба – традиционного русского продукта.

Благодарности

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (проект № 0324-2015-0005).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Беспалова Л.А., Васильев А.В., Аблова И.Б., Филобок В.А., Худокормова Ж.Н., Давоян Р.О., Давоян Э.Р., Карлов Г.И., Соловьев А.А., Дивашук М.Г., Майер Н.К., Дудников М.В., Мироненко Н.В., Баранова О.А. Применение молекулярных маркеров в селекции пшеницы в Краснодарском НИИСХ им. П.П. Лукьяненко. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2012;16:37-43.
- Давоян Э.Р., Беспалова Л.А., Давоян Р.О., Зубанова Ю.С., Миков Д.С., Филобок В.А., Худокормова Ж.Н. Использование молекулярных маркеров в селекции пшеницы на устойчивость к бурой ржавчине в Краснодарском НИИСХ им. П.П. Лукьяненко. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2014;18:732-738.
- Дефекты хлеба. Сайт профессиональных хлебопеков и кондитеров. 2015. <http://hlebinfo.ru/defektyi-hleba.html>. Дата посещения сайта: 26 ноября 2015 г.
- Кильчевский А.В., Бабак О.Г., Аджиева В.Ф., Некрашевич Н.А., Мальшев С.В., Грушецкая З.Ф., Мишин Л.А., Добродькин М.М., Зайцева И.Е., Пугачева И.Г. Молекулярные технологии в селекции томата (*Solanum lycopersicum* L.). Генетические основы селекции растений. Минск: Белорусская наука, 2014;4(11):290-344.

- Климушина М.В., Крупин П.Ю., Дивашук М.Г., Карлов Г.И. Об оптимизации систем молекулярного маркирования *Waxy*-генов пшеницы для целей MAS-селекции. *Сельскохозяйственная биология*. 2010;5:36-41.
- Майстренко О.И., Трошина А.В. Проблемы генетики качества клейковины пшеницы. Сообщение I. Изменчивость качества клейковины гибридов мягкой пшеницы в зависимости от подбора родительских сортов. *Генетика*. 1966;9:124-133.
- Майстренко О.И., Трошина А.В., Лысенко Р.Г., Ермакова М.Ф., Храброва М.А. О перспективах селекции пшеницы на высокое содержание белка и клейковины. *Селекция и семеноводство*. 1969;2:27-31.
- Мировой рынок зерна-2014/15: под влиянием рекордов производства и снижения цен (АПК-Информ: Итоги № 6). 15 декабря 2014. <http://www.apk-inform.com/ru/exclusive/opinion/1039595#.VIQon3bhCU>.
- Митрофанова О.П. Генетические ресурсы пшеницы в России: состояние и предселекционное изучение. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2012;16:10-20.
- Позняковский В.М. Гигиенические основы питания, качество и безопасность пищевых продуктов. Новосибирск, 2007;1-455.
- Позняковский В.М., Гурьнов Ю.Г., Бебенин В.В. Пищевые и биологические активные добавки: характеристика, применение, контроль. Кемерово, 2011;1-275.
- Производство пшеницы в России по регионам. Итоги 2014 года. Экспертно-аналитический центр агробизнеса. <http://ab-centre.ru/articles/proizvodstvo-pshenicy-v-rossii-v-2014-godu>. Дата посещения сайта: 26 ноября 2015 г.
- Пумпянский А.Я. Технологические свойства мягких пшениц (по данным мировой коллекции ВИР). Ленинград, 1971.
- Пшеничникова Т.А., Ермакова М.Ф., Попова Р.К. Технологические качества зерна и муки мягкой пшеницы в линиях с межсортовым замещением хромосом 1 и 6 гомеологических групп. *Сельскохозяйственная биология*. 2006;1:57-62.
- Пшеничникова Т.А., Ермакова М.Ф., Чистякова А.К., Щукина Л.В., Березовская Е.В., Лохвассер У., Рёдер М., Бёрнер А. Картирование локусов количественных признаков (QTL), ассоциированных с показателями качества зерна мягкой пшеницы, выращенного в различных условиях среды. *Генетика*. 2008;44(1):74-84.
- Сердюкова Ю.С. Хлебопекарная промышленность: особенности формирования механизма управления факторами эффективности. Новосибирск, Новосибирский государственный университет, 2004;1-106.
- Сердюкова Ю.С. Новые инструменты системы поддержки принятия управленческих решений на рынке хлеба. *KZ: Zhasgalym*. 2012; 2:51-58.
- Урбанович О.Ю., Козловская З.А., Хацкевич А.А., Картель Н.А. Молекулярные методы в селекции яблони на устойчивость к красногалловой яблонной тле. *Сельскохозяйственная биология*. 2013;5:54-60.
- Усенко Н., Сафьянов В. Проблемы пекарей Кузбасса в новых условиях. *Хлебопродукты*. 1996;8:9-11.
- Усенко Н., Сердюкова Ю. Региональный зерновой фонд как механизм реализации взаимодействия бизнеса и власти. *Хлебопродукты*. 2005;6:2-3.
- Хлесткина Е.К. Молекулярные методы анализа структурно-функциональной организации генов и геномов высших растений. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2011;15:757-768.
- Хлесткина Е.К. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и в селекции. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2013;17:1044-1054.
- Хлесткина Е.К., Салина Е.А. SNP-маркеры: методы анализа, способы разработки и сравнительная характеристика на примере мягкой пшеницы. *Генетика*. 2006;42:725-736.
- Хлесткина Е.К., Салина Е.А., Шумный В.К. Генотипирование отечественных сортов мягкой пшеницы с использованием микросателлитных (SSR) маркеров. *Сельскохозяйственная биология*. 2004;5:44-52.
- Храброва М.А., Майстренко О.И. Моносомный генетический анализ содержания белка зерновки и её массы у мягкой пшеницы сорта Диамант 2. *Генетика*. 1980;16(8):1425-1434.
- Храброва М.А., Майстренко О.И. Локализация хромосом пшеницы сорта Диамант 1, контролирующей уровень белка в зерне, методом моносомного реципрокного анализа дисомного потомства F2. *Сельскохозяйственная биология*. 1984;12:44-47.
- Asplund L., Bergkvist G., Leino M.W., Westerbergh A., Weih M. Swedish spring wheat varieties with the rare high grain protein allele of NAM-B1 differ in leaf senescence and grain mineral content. *PLoS ONE*. 2013; 8(3):e59704. doi:10.1371/journal.pone.0059704.
- Arbuzova V.S., Ermakova M.F., Popova R.K. 2001. Studies of monosomic lines of cv. Saratovskaya 29 on productivity and grain technological properties. *EWAC Newsletter. Proc. 11th EWAC Conf., Novosibirsk, Russia, 24–28 July, 2000*. Eds. T.A. Pshenichnikova, A.J. Worland, 2001;80-82.
- Baenziger P.S., Wesenberg D.M., Smail V.M., Alexander W.L., Schaeffer G.W. Agronomic performance of wheat doubled haploid lines derived from cultivars by anther culture. *Plant Breeding*. 1989;103:101-109.
- Balyan H. S., Gupta P.K., Kumar S., Dhariwal R., Jaiswal V., Tyagi S., Agarwal P., Gahlaut V., Kumari S. Genetic improvement of grain protein content and other health-related constituents of wheat grain. *Plant Breeding*. 2013;132:446-457.
- Beckmann J.S., Soller M. Restriction fragment length polymorphisms in genetic improvement: methodologies, mapping and costs. *Theoretical and Applied Genetics*. 1983;67:35-43.
- Biffen R.H. On the inheritance of strength in wheat. *Journal of Agricultural Science*. 1908;11:88-101.
- Borrelli G.M., Troccoli A., Di Fonzo N., Fares C. Durum wheat lipoxygenase activity and other quality parameters that affect pasta color. *Cereal Chemistry*. 1999;76(3):335-340.
- Brumlop S., Finckh M.R. Applications and potentials of marker assisted selection (MAS) in plant breeding. Final report of the F+E project "Applications and Potentials of Smart Breeding" (FKZ 350 889 0020) on behalf of the Federal Agency for Nature Conservation (ISBN 978-3-89624-033-0), Bonn, Germany, 2011.
- Burr B., Evola S.V., Burr F.A., Beckmann J.S. The application of restriction fragment length polymorphism to plant breeding. In: J. K. Setlow et al. (eds.) *Genetic Engineering*. New York: Plenum Press, 1983;45-59.
- Carrera A., Echenique V., Zhang W., Helguera M., Manthey F., Schragger A., Picca A., Cervigni 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*). *Journal of Cereal Science*. 2007;45:67-77.
- Chang C., Zhang H.P., Xu J., You M.S., Li B.Y., Liu G.T. Variation in two PPO genes associated with polyphenol oxidase activity in seeds of common wheat. *Euphytica*. 2007;154:181-193.
- Charmet G., Storlie E. Implementation of genome-wide selection in wheat. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2012;16:61-68.
- Chen F., He Z.H., Xia X.C., Xia L.Q., Zhang X.Y., Lillemo M., Morris C.F. Molecular and biochemical characterization of puroindoline a and b alleles in Chinese landraces and historical cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*. 2006;112:400-409.
- Cornish G.B., Békés F., Eagles H.A., Payne P.I. Prediction of dough properties for bread wheats. In: *Gliadin and Glutenin. The unique balance of wheat quality*. Ed.: C. Wrigley, F. Békés, W. Bushuk. AACC International, 2006;243-279.
- Dahinden I., von Büren M., Lüthy J. A quantitative competitive PCR system to detect contamination of wheat, barley or rye in gluten-free food for coeliac patients. *European Food Research and Technology*. 2001;212:228-233.
- De Pace C., Snidarò D., Ciaffi M., Vittori D., Ciofo A., Cenci A., Tanzarella O.A., Qualset C.O., Scarascia Mugnozza G.T. Introgression of

- Dasypyrum villosum chromatin into common wheat improves grain protein quality. *Euphytica*. 2001;117:67-75.
- Deckard E.L., Joppa L.R., Hammond J.J., Hareland G.A. Grain protein determinants of the Langdon durum-dicoides chromosome substitution lines. *Crop Science*, 1996;36(6):1513-1516.
- Distelfeld A., Uauy C., Fahima T., Dubcovsky J. Physical map of the wheat high-grain protein content gene *Gpc-B1* and development of a high-throughput molecular marker. *New Phytologist*. 2006;169:753-763.
- Dobrovolskaya O., Saleh U., Malysheva-Otto L., Röder M.S., Börner A. Rationalising germplasm collections: a case study for wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 2005;111:1322-1329.
- Eagles H.A., Bariana H.S., Ogonnaya F.C., Rebetzke G.J., Hollamby G.J., Henry R.J., Henschke P.H., Carter M. Implementation of markers in Australian wheat breeding. *Australian Journal of Agricultural Research*. 2001;52:1349-1356.
- Eagles H.A., Cane K., Eastwood R.F., Hollamby G.J., Kuchel H., Martin P.J., Cornish G.B. Contributions of glutenin and puroindoline genes to grain quality traits in southern Australian wheat breeding programs. *Australian Journal of Agricultural Research*. 2006;57(2):179-186.
- Elooufi 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.
- Elshire R.J., Glaubitz J.C., Sun Q., Poland J.A., Kawamoto K., Buckler E.S., Mitchell S.E. A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS ONE*. 2011;6:e19379. doi:10.1371/journal.pone.0019379.
- Ermakova M.F., Pshenichnikova T.A., Shchukina L.V., Osipova S.V., Mitrofanova T.N., Börner A., Lohwasser U., Röder M. The history of the development of precise genetic stocks of bread wheat in Novosibirsk and their application for investigation of grain quality. *EWAC Newsletter. Proc. 14th EWAC Conf., Istanbul, Turkey, 6–10 May, 2007*, Ed. A. Börner and J. Snape, 2008;12-16.
- Ermakova M.F., Chistyakova A.K., Shchukina L.V., Pshenichnikova T.A., Morozova E.V., Simonov A.V., Weidner A., Börner A. Technological properties of grain and flour in bread wheat lines with introgressions from *Aegilops speltoides* and *Aegilops markgrafii*. *AGRISAFE Final conference "Climate change: Challenges and Opportunities in Agriculture"*, March 21–23, 2011, Budapest, Hungary, 2011;63-66.
- 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 and Pasture Science*. 2014;65:1-15.
- Fuerst E.P., Xu S.S., Beecher B. Genetic characterization of kernel polyphenol oxidases in wheat and related species. *Journal of Cereal Science*. 2008;48:359-368.
- Galimberti A., De Mattia F., Losa A., Bruni I., Federici S., Casiraghi M., Martellos S., Labra M. DNA barcoding as a new tool for food traceability. *Food Research International*. 2013;50:55-63.
- Garg M., Kumar R., Singh R.P., Tsujimoto H. Development of an *Aegilops longissima* substitution line with improved bread-making quality. *Journal of Cereal Science*. 2014;60:389-396.
- Giroux M.J., Morris C.F. A glycine to serine change in puroindoline b is associated with wheat grain hardness and low levels of starch-surface friabilin. *Theoretical and Applied Genetics*. 1997;95:857-864.
- Giroux M.J., Morris C.F. Wheat grain hardness results from highly conserved mutations in the friabilin components puroindoline a and b. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1998;95:6262-6266.
- Gautier M.F., Aleman M.E., Guirao A., Marion D., Joudrier P. *Triticum aestivum* puroindolines, two cystine-rich seed proteins: cDNA sequence analysis and developmental gene expression. *Plant Molecular Biology*. 1994;25:43-57.
- Groos C., Robert N., Bervas, E., Charmet G. Genetic analysis of grain protein-content, grain yield and thousand-kernel weight in bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 2003;106:1032-1040.
- He X.Y., He Z.H., Ma W., Appels R., Xia X. C. Allelic variants of phytoene synthase 1 (*Psy1*) genes in Chinese and CIMMYT wheat cultivars and development of functional markers for flour colour. *Molecular Breeding*. 2009;23:553-563.
- Heffner E.L., Lorenz A.J., Jannink J.-L. Sorrells M.E. Plant breeding with genomic selection: gain per unit time and cost. *Crop Science*. 2010;50:1681-1690.
- Heffner E.L., Jannink J.-L. Sorrells M.E. Genomic selection accuracy using multifamily prediction models in a wheat breeding program. *The Plant Genome*. 2011;4:65-75.
- 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 Science*. 2002;42(5):1695-1700.
- Himi E., Maekawa M., Miura H., Noda K. Development of PCR markers for *Tamyb10* related to *R-1*, red grain color gene in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 2011;122:1561-1576.
- Huang X.Q., Börner A., Röder M.S., Ganai M.W. Assessing genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm using microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics*. 2002;105:699-707.
- Huang X.Q., Brülé-Babel A. Development of simple and co-dominant PCR markers to genotype puroindoline a and b alleles for grain hardness in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Cereal Science*. 2011;53:277-284.
- Ikeda T.M., Ohnishi N., Nagamine T., Oda S., Hisatomi T., Yano H. Identification of new puroindoline genotypes and their relationship to flour texture among wheat cultivars. *Journal of Cereal Science*. 2005;41:1-6.
- Joppa L.R., Cantrell R.G. Chromosomal location of genes for grain protein content of wild tetraploid wheat. *Crop Science*. 1990;30(5):1059-1064.
- Juhász A., Gianibelli M.C. Low-molecular-weight glutenin subunits: insights into this abundant subunit group present in glutenin polymers. In: *Gliadin and Glutenin. The unique balance of wheat quality*. Eds.: C. Wrigley, F. Békés, W. Bushuk. *AACC International*, 2006;171-212.
- Kerfal S., Giraldo P., Rodríguez-Quijano M., FranciscoVázquez J., Adams K., M.Lukow O.M., Röder M.S., Somers D., Carrillo J.M. Mapping quantitative trait loci (QTLs) associated with dough quality in a soft hard bread wheat progeny. *Journal of Cereal Science*. 2005;52:6-52.
- Khan I.A., Procunier J.D., Humphreys D.G., Tranquilli G., Schlatter A.R., Marcucci-Poltri S., Froberg R., Dubcovsky J. Development of PCR-based markers for a high grain protein content gene from *Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides* transferred to bread wheat. *Crop Science*. 2000;40(2):518-524.
- Khlestkina E.K., Röder M.S., Eftremova T.T., Börner A., Shumny V.K. The genetic diversity of old and modern Siberian varieties of common spring wheat determined by microsatellite markers. *Plant Breeding*. 2004;123:122-127.
- Khlestkina E.K., Giura A., Röder M. S., Börner A. A new gene controlling the flowering response to photoperiod in wheat. *Euphytica*. 2009;165:579-585.
- Kim C., Guo H., Kong W., Chandnani R., Shuang L.S., Paterson A.H. Application of genotyping by sequencing technology to a variety of crop breeding programs. *Plant Science*. 2016;242:14-22. DOI 10.1016/j.plantsci.2015.04.016
- Kovacs M.I.P., Howes N.K., Clarke J.M., Leisle D. Quality characteristics of durum wheat lines deriving high protein from a *Triticum dicoccoides* (6B) substitution. *Journal of Cereal Science*. 1998;27(1):47-51.
- Kunert A., Naz A.A., Dedeck O., Pillen K., Leon J. AB-QTL analysis in winter wheat: I. Synthetic hexaploid wheat (*T. turgidum* ssp. *dicoccoides* × *T. tauschii*) as a source of favourable alleles for milling and baking quality traits. *Theoretical and Applied Genetics*. 2007;115:683-695.
- Landjeva S., Korzun V., Börner A. Molecular markers: actual and potential contributions to wheat genome characterization and breeding. *Euphytica*. 2007;156:271-296.

- Lau W.C.P., Rafii M.Y., Ismail M.R., Puteh A., Latif M.A., Ramli A. Review of functional markers for improving cooking, eating, and the nutritional qualities of rice. *Frontiers in Plant Science*. 2015; 6:832.
- Li G., He Z., Lillemo M., Sun Q., Xia X. Molecular characterization of allelic variations at Pina and Pinb loci in Shandong wheat landraces, historical and current cultivars. *Journal of Cereal Science*. 2008;47:510-517.
- Liu Y., He Z., Appels R., Xia X. Functional markers in wheat: current status and future prospects. *Theoretical and Applied Genetics*. 2012;125:1-10.
- Liu S., Rudd J.C., Bai G., Haley S.D., Ibrahim A.M.H., Xue Q., Hays D.B., Graybosch R.A., Devkota R.N., Amand P.S. Molecular markers linked to important genes in hard winter wheat. *Crop Science*. 2014;54:1304-1321.
- Ma D.Y., Yan J., He Zh., Wu L., Xia X.C. Characterization of a cell wall invertase gene *TaCwi-1* on common wheat chromosome 2A and development of functional markers. *Molecular Breeding*. 2012;29: 43-52.
- Maystrenko O.I., Troshina A.V., Ermakova M.F. Chromosomal arm location of genes for flour quality in wheat using ditelosomic lines. *Proc. 4th Intern. Wheat Genetics Symp. Missouri Agr. Exp. Sta., Columbia, Mo, 1973;51-56.*
- Martín-Fernandez B., Costa J., Oliveira M.B.P.P., Lopez-Ruiz B., Mafrá I. Screening new gene markers for gluten detection in foods. *Food Control*. 2015;56:57-63.
- Mesfin A., Froberg R.C., Anderson J.A. RFLP markers associated with high grain protein from *Triticum turgidum* L. var. *dicoccoides* introgressed into hard red spring wheat. *Crop Science*. 1999;39(2):508-513.
- McIntosh R.A., Yamazaki Y., Dubcovsky J., Rogers J., Morris C., Appels R., Xia X.C. Catalogue of gene symbols for wheat available at: <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/symbolClassList.jsp> (accessed 10 November 2015).
- McCartney C.A., Somers D.J., Lukow O., Ames N., Noll J., Cloutier S., Humphreys D.G., McCallum B.D. QTL analysis of quality traits in the spring wheat cross RL4452×AC Domain. *Plant Breeding*. 2006;125: 565-575.
- McLauchlan A., Ogonnaya F.C., Hollingsworth B., Carter M., Gale K.R., Henry R.J., Holton T.A., Morell M.K., Rampling L.R., Sharp P.J., Shariflou M.R., Jones M.G.K., Appels R. Development of robust PCR-based DNA markers for each homoeo-allele of granule-bound starch synthase and their application in wheat breeding programs. *Australian Journal of Agricultural Research*. 2001;52:1409-1416.
- Morris R., Schmidt J.W., Mattern P.J., Johnson V.A. Chromosomal location of genes for high protein in the wheat cultivar Atlas 66. *Proc. 4th Internat. Wheat Genetics Symp. Missouri Agric. Exptl. Sta., Columbia, 1973;715.*
- Moose S.P., Mumm R.H. Molecular Plant Breeding as the Foundation for 21st Century Crop Improvement. *Plant Physiology*. 2008;147:969-977.
- Morozova E.V., Pshenichnikova T.A., Simonov A.V., Shchukina L.V., Chistyakova A.K., Khlestkina E.K. A comparative study of grain and flour quality parameters among Russian bread wheat cultivars developed in different historical periods and their association with certain molecular markers. *Abstr. International Conference EWAC-EUCARPIA Cereals Section, Lublin, Poland, May 24-29, 2015; 11.*
- Nakamura T., Hoshino H., Hidaka S. Identification of three Wx proteins in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Biochemistry Genetics*. 1993;31:75-86.
- Nakamura T., Vrinten P., Saito M., Konda M. Rapid classification of partial waxy wheats using PCR-based markers. *Genome*. 2002;45:1150-1156.
- Parker G.D., Chalmers K.J., Rathjen A.J., Langridge P. Mapping loci associated with flour colour in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 1998;97:238-245.
- Parker G.D., Chalmers K.J., Rathjen A.J., Langridge P. Mapping loci associated with milling yield in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Molecular Breeding*. 1999;5:561-568.
- Parker G.D., Langridge P. Development of a STS marker linked to a major locus controlling flour colour in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Molecular Breeding*. 2000;6(2):169-174.
- Paux E., Sourdille P., Mackay I., Feuillet C. Sequence-based marker development in wheat: advances and applications to breeding. *Biotechnology Advances*. 2012;30:1071-1088.
- Peña R.J. Wheat for bread and other foods. In: *Bread Wheat. Improvement and Production*. FAO. 2002.
- Poland J., Endelman J., Dawson J., Rutkoski J., Wu S., Manes Y., Dreisigacker S., Crossa J., Sánchez-Villeda H., Sorrells M., Jannink J.-L. Genomic selection in wheat breeding using genotyping-by-sequencing. *The Plant Genome*. 2012;5:103-113.
- Ponzone E., Breviaro D., Mautino A., Giani S., Morello L. A multiplex, bead-based array for profiling plant-derived components in complex food matrixes. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2013;405:9849-9858.
- Prasad M., Kumar N., Kulwal P.L., Röder M.S., Balyan H.S., Dhaliwal H.S., Gupta P.K. QTL analysis for grain protein content using SSR markers and validation studies using NILs in bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 2003;106:659-667. DOI 10.1007/s00122-002-1114-y
- Pshenichnikova T.A., Khlestkina E.K., Shchukina L.V., Simonov A.V., Chistyakova A.K., Morozova E.V., Landjeva S., Karceva T., Börner A. Exploitation of Saratovskaya 29 (Janetzki Probat 4D*7A) substitution and derivative lines for comprehensive phenotyping and molecular mapping of quantitative trait loci (QTL). *EWAC Newsletter 2012, Proceedings of the 15th International EWAC Conference, 7-11 November 2011, Novi Sad, Serbia, 2012;19-22.*
- Pshenichnikova T.A., Simonov A.V., Shchukina L.V., Morozova E.V., Chistyakova A.K., Börner A. Enlargement of the genetic diversity for grain quality in bread wheat through alien introgression. *Advances in Wheat Genetics: From Genome to Field*. Yokohama, Japan. Eds.: Yasunari Ogihara, Shigeo Takumi, Hirokazu Handa, 2015;287-292.
- Ram S., Jain N., Shoran J., Singh R. Newframe shift mutation in puroindoline b in Indian wheat cultivars Hyb65 and NI5439. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*. 2005;14:45-48.
- Rasheed A., Xia X., Yan Y., Appels R., Mahmood T., He Zh. Wheat seed storage proteins: Advances in molecular genetics, diversity and breeding applications. *Journal of Cereal Science*. 2014;60:11-24.
- Randhawa H.S., Asif M., Pozniak C., Clarke J.M., Graf R.J., Fox S.L., Humphreys D.G., Knox R.E., DePauw R.M., Singh A.K., Cuthbert R.D., Hucl P., Spaner D., Gupta P. Application of molecular markers to wheat breeding in Canada. *Plant Breeding*. 2013;132:458-471.
- Röder M.S., Huang X.-Q., Börner A. Fine mapping of the region on wheat chromosome 7D controlling grain weight. *Functional Integrative Genomics*. 2008;8:79-86. DOI 10.1007/s10142-007-0053-8.
- Saiki R.K., Scharf S., Faloona F., Mullis K.B., Horn G.T., Erlich H.A., Arnheim N. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle-cell anemia. *Science*. 1985;230:1350-1354.
- Serdyukova Yu.S., Usenko N.I. Strategic priorities of Russia-Belarus integration in terms of food security issue. *Economic and Social Changes: Facts, Trends, Forecast*. 2013;3(27):62-70.
- Schena M., Shalon D., Davis R.W., Brown P.O. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science*. 1995;270:467-470.
- Shariflou M.R., Sharp P.J. A polymorphic microsatellite in the 3' end of 'waxy' genes of wheat, *Triticum aestivum*. *Plant Breeding*. 1999;118(3):275-277.
- Shariflou M.R., Hassani M.E., Sharp P.J. A PCR-based DNA marker for detection of mutant and normal alleles of the *Wx-D1* gene of wheat. *Plant Breeding*. 2001;120(2):121-124.
- Simmonds N.W. The relation between yield and protein in cereal grain. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1995;67:309-315.
- Somers D.J., Kirkpatrick R., Moniwa M., Walsh A. Mining single-nucleotide polymorphisms from hexaploid wheat ESTs. *Genome*. 2003;49:431-437.

- Su Z.Q., Hao C.Y., Wang L.F., Dong Y.C., Zhang Z.Y. Identification and development of a functional marker of *TaGW2* associated with grain weight in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 2011;122:211-223.
- Sun H., Lu J., Fan Y., Zhao Y., Kong F., Li R., Wang H., Li S. Quantitative trait loci (QTLs) for quality traits related to protein and starch in wheat. *Progress in Natural Science*. 2008;18:825-831.
- Tanksley S.D. Molecular markers in plant breeding. *Plant and Molecular Biology Reports*. 1983;1:3-8.
- Tanksley S.D., Young N.D., Paterson A.H., Bonierbale M.W. RFLP mapping in plant breeding: new tools for an old science biotechnology. *Nature Biotechnology*. 1989;7:257-264.
- Tarkowski C., Otlowska-Miazga D. Location of genes controlling the quantitative level of protein in kernels of winter wheat, Luna variety. *Genetica polonica*. 1976;17(3):319.
- Timonova E.M., Leonova I.N., Röder M.S., Salina E. Marker-assisted development and characterization of a set of *Triticum aestivum* lines carrying different introgressions from the *T. timopheevii* genome. *Molecular Breeding*. 2013;31:123-136.
- Tranquilli G., Lijavetzky D., Muzzi G., Dubcovsky J. Genetic and physical characterization of grain texture-related loci in diploid wheat. *Molecular and General Genetics*. 1999;262:846-850.
- Tsilo T.J., Nygard G., Khan Kh., Simsek S., Hareland G., Chao Sh., Anderson J.A. Molecular genetic mapping of QTL associated with flour water absorption and farinograph related traits in bread wheat. *Euphytica*. 2013;194:293-302.
- Turner M., Mukai Y., Leroy P., Charef B., Appels R., Rahman S. The Ha locus of wheat: identification of a polymorphic region for tracing grain hardness in crosses. *Genome*. 1999;42(6):1242-1250.
- Uauy C., Distelfeld A., Fahima T., Blechl A., Dubcovsky J. A NAC gene regulating senescence improves grain protein, zinc, and iron content in wheat. *Science*. 2006;314:1298-1301.
- Vishwakarma M.K., Mishra V.K., Gupta P.K., Yadav P.S., Kumar H., Joshi A.K. Introgression of the high grain protein gene *Gpc-B1* in an elite wheat variety of Indo-Gangetic Plains through marker assisted backcross breeding. *Current Plant Biology*. 2014;1:60-67.
- Vrinten P., Nakamura T., Yamamori M. Molecular characterization of waxy mutations in wheat. *Molecular and General Genetics*. 1999;261(3):463-471.
- Waga J., Skoczowski A. Development and characteristics of x-gliadin-free wheat Genotypes. *Euphytica*. 2014;195:105-116.
- Wang L., Li G., Xia X., He Z., Mu P. Molecular characterization of *Pina* and *Pinb* allelic variations in Xinjiang landraces and commercial wheat cultivars. *Euphytica*. 2008;164:745-752.
- William H., Trethowan R., Crosby-Galvan E. Wheat breeding assisted by markers: CIMMYT's experience. *Euphytica*. 2007; 157:307-319.
- Worzella W.W. The inheritance of quality in Trumbull and Michikof varieties of winter wheat. *Journal of Agricultural Research*. 1934;49(8):705-714.
- Worzella W.W. Inheritance and interrelationship of components of quality, cold resistance and morphological characters in wheat hybrids. *Journal of Agricultural Research*. 1942;65(11):501-522.
- Xu Y., Crouch J.H. Marker-assisted selection in plant breeding: from publications to practice. *Crop Science*. 2008;48:391-407.
- Yamamori M., Quynh N.T. Differential effects of *Wx-A1*, *-B1* and *-D1* protein deficiencies on apparent amylose content and starch pasting properties in common wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 2000;100:32-38.
- Zanetti S., Winzeler M., Feuillet C., Keller B., Messmer M. Genetic analysis of bread-making quality in wheat and spelt. *Plant Breeding*. 2001;120:13-19.
- Zhang X., Tian J.C. The color advantage of Chinese wheat with high whiteness and analysis of factors affecting color formation. *Scientia Agricultura Sinica*. 2008;41:347-353.
- Zhang F., Chen F., Wu P., Zhang N., Cui D. Molecular characterization of lipoxygenase genes on chromosome 4BS in Chinese bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 2015; 128:1467-1479.
- Zheng W.Y., Wang F., Si H.Q., Zhang W.M., Yao D.N. Variations of LOX and PPO activities and carotenoid content as well as their influence on whole flour color in common wheat. *Scientia Agricultura Sinica*. 2013;46(6):1087-1094.