

Използване на маркерно-асистирания отбор в селекцията по качество при твърдата пшеница (Обзор)

Красимира Танева*, Виолета Божанова

Институт по полски култури – 6200 Чирпан

*E-mail: krasimira.taneva@abv.bg

Резюме

Обзорът включва подробна информация за изследванията по проблема с подобряване на качеството на твърдата пшеница до момента. Разгледани са трудностите съпътстващи селекционния процес, преимуществата и недостатъците на молекулните и биохимичните маркери и възможностите за съвместно използване на досегашните фенотипни с нови биохимични и молекулни изследвания, което може да доведе до бързо и ефективно подобряване на качеството при тази важна продоволствена култура. Чрез маркерно-асистирана селекция е възможно да бъдат прехвърлени важни генни участъци, кодиращи протеините γ -45 глиадин и LMW-2 глутенин (свързани с по-силен глутен) в селекционни линии твърда пшеница.

Ключови думи: твърда пшеница; качество; молекулни маркери; биохимични маркери

Use of marker assisted selection to improve the quality of durum wheat (Review)

Krasimira Taneva*, Violeta Bozhanova

Field Crops Institute – 6200 Chirpan

*E-mail: krasimira.taneva@abv.bg

Citation

Taneva, K., & Bozhanova, V. (2021). Use of marker assisted selection to improve the quality of durum wheat (Review). *Rastenievadni nauki*, 58(6) 3-14 (Bg).

Abstract

The review includes detailed information on research on the problem of improving the quality of durum wheat to date. The difficulties accompanying the breeding process, the advantages and disadvantages of molecular and biochemical markers and the possibilities for sharing existing phenotypes with new biochemical and molecular studies, which can lead to rapid and effective quality improvement in this important food crop, are discussed. Through marker-assisted selection, it is possible to transfer important gene regions encoding the γ -45 gliadin and LMW-2 glutenin proteins (associated with stronger gluten) into durum wheat selection lines.

Key words: durum wheat; quality; molecular markers; biochemical markers

ПРОБЛЕМИ, СВЪРЗАНИ СЪС СЕЛЕКЦИОННОТО ПОДОБРЯВАНЕ НА КАЧЕСТВОТО НА ТВЪРДАТА ПШЕНИЦА

Растителната селекция е научен отрасъл, който оказва пряко въздействие върху хранене-

то и здравето на населението, начинът на живот, икономиката и околната среда. Постоянният поток от нови по-високодобивни и по-качествени сортове е съществена основа за конкурентостта на земеделието и хранителната промишленост. Растителната селекция е изправена пред съвременните предизвикателства, произтичащи

от климатичните изменения, изтощаването на природните ресурси, замърсяването на околната среда, намаляването на генетичното разнообразие и покачващите се изисквания на консуматори и преработватели към качеството на продукцията.

Твърдата пшеница е традиционна култура за България, отглеждана по нашите земи още от времето на траките. Тя е важна зърнено-житна култура, която се използва изключително за храна на хората, поради високите си хранителни и технологични качества (високо съдържание на протеин и каротиноиди, твърдо зърно с висока стъкловидност и силен глютен).

Пригодността на твърдата пшеница за преработването и във висококачествени макаронени продукти се дължи на редица нейни характеристики. Съдържанието на протеин и глютеносилата сила като фактори за кулинарното качество, както и цветът на макаронените изделия като първостепенна маркетингова характеристика са най-важните качествени приоритети в съвременната концепция за технологичното качество на твърдата пшеница (Petrova et al., 2015). Критериите за качество на твърдата пшеница непрекъснато се развиват в отговор на пазарния натиск и изискванията на клиентите. От основно значение за преработвателното качество на твърдата пшеница е нейният генетичен потенциал. Поради това, ролята на селекцията за формиране на качеството на търговския продукт твърда пшеница е решаваща (Dexter, 2008).

Връзката между качествените характеристики на зърното от твърда пшеница и на продуктите от преработването му определя основните приоритети в селекцията по качество. Главните признаци за качество на зърното, гриса и макаронените изделия на вниманието на селекционерите са: хектолитрова маса, стъкловидност, маса на 1000 зърна, съдържание на жълти пигменти, съдържание на протеин, количество и вискоеластични свойства на мокрия глютен, SDS-седиментационен обем, реологични свойства на макаронените теста.

Подобряването на глютеносилата сила и повишаването на концентрацията на жълти пигменти в зърното продължава да е основна цел в селекционните програми в отговор на непрекъснато покачващите се изисквания на индустрията към качеството на суровината и очакванията на по-

требителите (Di Fonzo et al., 2005; Royo, 2005; Clarke, 2005; Elias & Manthey, 2005).

Повечето български сортове твърда пшеница се характеризират с много добри стопански качества, сравнително високо съдържание на протеин, добър млевен и среден кулинарен потенциал (Petrova et al., 2015). През последните години беше направен пробив и по отношение на силата на glutena и съдържанието на жълти пигменти. Сортове, които по кулинарен потенциал и цвят се изравняват със съвременните достижения на европейската селекция и са много добра реализация на българската селекция са Предел (Институт по полски култури) и Мирела (Добруджански земеделски институт), които комбинират високо съдържание на жълти пигменти, силен глютен, добър цвят и кулинарно качество на макаронените изделия (Petrova et al., 2009; Petrova, 2013a; Petrova et al., 2013).

Работата на селекционерите във връзка с подобряването на признаците, определящи качеството на зърното е свързана с редица трудности (Goutam et al., 2013). Тези признаци са количествено унаследяващи се и наред с основните гени, които са добре изучени до този момент и които определят състава на glutena (Ruiz et al., 2005), съдържанието на протеина (Olmos et al., 2003) и цвета (Psy-A1, Patil et al., 2008; Psy-B1, Elouafi et al., 2001), много други гени контролират тяхната експресия. Освен от генетичните фактори, фенотипната експресия на много качествени показатели зависи до голяма степен от условията на средата или от взаимодействието между генотипа и средата, което затруднява отбора. В най-общи линии колкото е по-сложна генетиката на признака, когато в неговото формиране участват голям брой гени и различни генетични системи, толкова е по-вероятно проявлението на генотип-среда взаимодействие. Скоростта на селекционният процес по даден количествен признак зависи от наличието и размера на взаимодействието генотип-среда. Колкото това взаимодействие е по-голямо, толкова отбора на генотип по фенотип е по-затруднен (Dechev, 2004). Наличието на отрицателни корелации между добива и голяма част от показателите, свързани с качество на зърното: стъкловидност, съдържание на протеин, SDS-обем и кулинарно качество затруднява допълнително селекционната работа по

подобряване качеството на зърното (Blanco et al., 2006; Würschum et al., 2016).

В допълнение е необходимо освен на зърно качествените показатели да се определят и на крайния продукт. Тази оценка е комплицирана, поради необходимостта от смилане на зърното до грис, производство и кулинарна оценка на макаронените изделия и изисква много време и големи количества зърно (Roselló et al., 2018).

Отборът на растения, с подходящи агрономически признаци в т.ч. и такива, свързани с качество на зърното е много важен етап от селекционния процес по създаването на нови сортове, като доскоро селекционерите разчитаха единствено на морфологични/ фенотипни маркери. Нещо повече в началните генерации не се извършва оценка на селекционните материали по качество. Тази оценка започва едва, когато селекционните линии достигнат до предварителни конкурсни полски опити (около F7). Има няколко основни причини за това: анализирането на качеството на фенотипно ниво в хетерозиготно състояние не е показателно за качеството в чистите линии; не са налични точни методологии за анализ на качествени показатели на изключително големия брой потомства, които се получават от една хибридна комбинация в началните селекционни звена (F1–F5); ранното тестване за качество не трябва да компрометира останалите приоритети на селекционната програма (висок добив на зърно, устойчивост на болести, толерантност към абиотични стресови въздействия), които трябва да се оценяват във възможно по-голям брой потомства. Поради тези причини анализът на качеството се извършва само в онези линии, които вече са избрани по агрономически характеристики и добив от предварителните изпитвания.

ДНК – МАРКЕРИ И ИЗПОЛЗВАНЕТО ИМ ЗА ОТБОР В СЕЛЕКЦИОННИТЕ ПРОГРАМИ - МАРКЕРНО-АСИСТИРАНА СЕЛЕКЦИЯ

През последните години с разработването на методологии за анализ на структурата и функцията на растителните гени, молекулните маркери започват да се използват все по-успешно за локализиране на гени, свързани с важни при-

знаци върху хромозомите; за идентифициране на генотипове, притежаващи желани признаци; за изследване на организацията на растителните геноми и за съставяне на генетични карти и връзки между отделните гени.

ДНК маркерите представляват полиморфизми в нуклеотидната последователност в хомоложни места. ДНК полиморфизмите могат да се открият в която и да е част от генома, включваща както кодиращи и не кодиращи, така и единични копия или повторена ДНК. При това експресията им не се влияе от факторите на околната среда и етапа на развитие на организма. Молекулните маркери имат редица преимущества. Те са кодоминанти (доказване на хетерозиготни индивиди) и доминантни. Позволяват анализ на голям брой локуси и ранна диагностика на признаци, свързани с конкретен маркер. Молекулните маркери са с високо ниво на полиморфизъм и случайна хромозомна локализация. Методологичните предимства са свързани с възможността за автоматизиране на анализа, ДНК може да се изолира от различни тъкани и органи - корени, листа, стъбла, цветове, плодове, семена и др., а ДНК анализирането може да се осъществява на различни етапи от развитието на растенията.

На разположение са няколко типа молекулни маркери и всеки от тях има своите предимства и недостатъци. RFLP маркерите (Restriction Fragment Length Polymorphism - полиморфизъм по дължината на рестрикционните фрагменти) са първите маркери и са широко и успешно използвани за съставяне на карти за свързване на гените при голям брой растителни видове в т.ч. и при пшеницата. С развитието на технологията за полимеразната верижна реакция (PCR) се появяват няколко типа нови маркери. Първите от тях са случайно амплифицираните полиморфни ДНК (RAPD), които бързо придобиват по-голяма популярност от RFLP, поради простотата и намалените разходи на анализа. Въпреки това, повечето изследователи сега осъзнават слабостите на RAPD и ги използват с много по-малка честота. Подходът за полиморфизъм по дължината на амплифицирани фрагменти (AFLP) се възползва от PCR техниката за селективно амплифициране на ДНК фрагменти, предварително разградени с един или два рестрикционни ензими. Микросателитните маркери или простите

повторени последователности (SSRs) комбинират силата на RFLP (кододоминантни маркери, надеждно, специфично местоположение в генома) с лекотата на RAPD и имат предимството да откриват по-високи нива на полиморфизъм.

Използването на ДНК маркери в селекционните програми може да ускори отбора, а по-този начин да повиши ефективността на селекцията. Маркерно - асистираната селекция (MAS) позволява отбор на генотипове с ценни агрономически признаци чрез използване на молекулни маркери, тясно свързани с конкретен признак, а не директен отбор на генотиповете според фенотипната изява на съответния признак. Основните предимства на MAS са: лесен и бърз отбор на генотипове, носещи признаци, чиито фенотип е трудно да бъде определен и възможност за отбор на растения в много ранен етап на селекционния процес. Поради количествения характер на признаците, свързани с качество на зърното, MAS няма да замени традиционните процедури за изпитване на качеството на пшеницата като скрининг в напредналите поколения и оценка на сортовете. Въпреки това, тя може да бъде изключително важен инструмент, който позволява на селекционерите да идентифицират ценни генотипове и да задълбочат изследванията си на по-ранен етап от селекционния процес (Goutam et al., 2013).

Традиционно селекционерите разчитат на морфологични маркери, за да подберат подобрени генотипове, докато MAS се базира на идентифициране на маркери на ДНК последователности, които се наследяват заедно с желанния морфологичен признак. Растенията, които носят необходимия признак, могат да бъдат отбрани на базата на маркерните им секвенции, което позволява да бъдат извършени бързо няколко последователни селекционни цикъла (Dubcovsky, 2004; Davies et. al., 2006). Нещо повече при използването на MAS желаните генотипове, с по-добри качествени показатели на зърното могат да бъдат идентифицирани чрез използване на ДНК от едно единствено семе, докато останалите методи за оценка на тези показатели е невъзможно да се прилагат в ранните поколения, поради липса на достатъчно количество материал за тестване.

Молекулните маркери позволяват на селекционерите да комбинират желани алели от по-

голям брой локуси в по-ранни поколения, отколкото е осъществимо с конвенционалните селекционни методи. Дори чрез тях в разпадащи популации е възможно да се поддържат гени, които не могат да бъдат отбрани чрез фенотипна оценка (рецесивни гени). Чрез молекулните маркери могат да бъдат заобиколени някои протромави, конвенционални подходи за водене на отбор (напр. педигре метода) и да бъдат създадени растителни генотипове, непостижими чрез конвенционалните методи (Young, 1999).

MAS е форма на индиректен отбор и най-широко използваното приложение на ДНК маркерите в растителните селекционни програми. Ако признаците са картографирани на ДНК ниво, тясно свързаните маркери към тях могат да се използват за скрининг на големи популации с цел бързо идентифициране на генотипове, носещи желаните признаци. С бързото развитие на технологията за полимеразната верижна реакция се появяват не само нови и по-информативни ДНК-маркери, но и тяхното приложение в селекционните програми поевтинява. Според Battenfield et al., 2016 разходите за генотипиране на около 10 000 селекционни линии в F1 се изравняват с тези за фенотипиране на 2000 линии по показатели, свързани с качеството в по-късните генерации. Сортовете, които се създават чрез MAS не се считат за генетично модифицирани и се приемат добре на регионалните и международните пазари.

Молекулните маркери могат да се използват и в комбинация с биохимични маркери, като тяхното прилагане при пшеницата е изключително полезно за идентифициране на генотипове с добри качествени показатели на зърното.

БИОХИМИЧНИ МАРКЕРИ, СВЪРЗАНИ С КАЧЕСТВОТО НА ЗЪРНОТО

Резервните белтъци са биохимични маркери, които също се характеризират с високо ниво на полиморфизъм и стабилност. Основните резервни протеинови фракции в ендосперма на зърното от твърда пшеница са глиадините и глутените и техният състав и съотношение определят вискоеластичните свойства на глутена (D'Egnaio et al., 1993). Подобно на молекулните маркери биохимичните маркери се унаследяват

кододоминантно, поради което електрофоретичните профили на протеините, изолирани от зрели семена, са отличен критерий за характеристика и идентифициране на различни растителни популации и сортове поотделно или заедно с молекулни маркери.

Досега в селекционните програми за отбор на генотипове пшеница с повишена глютенена сила са използвани основно биохимични маркери, които са широко проучени, като генна локализация и взаимовръзки с основни технологични показатели, характеризиращи силата на глутена.

Известно е, че глиадините обуславят разтегливостта, а глутенините еластичността на глутена. Глиадините са мономерни протеини, които се състоят от полипептиди с единична верига. Съдържат само вътрешни дисулфидни връзки и взаимодействат с глютенения полимер чрез нековалентни сили. Въз основа на тяхната електрофоретична подвижност при полиакриламидгелна електрофореза при ниско рН (А-PAGE) се класифицират в четири групи - α -, β -, γ - и ω -глиадини. Гените кодиращи глиадините са локализиращи върху късото рамо на хромозомите на хомоложните групи 1 и 6 на А и В геномите (Joppa et al., 1983). Гените кодиращи α и β глиадините са групирани в хомоложните локуси наречени Gli-A2 и Gli-B2 на късите рамена на хромозомите от група 6. Повечето от гените кодиращи γ и ω глиадините са групирани в хомоложни локуси наречени Gli-A1 и Gli-B1 на късите рамена на хромозоми 1А и 1В (Jackson et al., 1983).

Глутенините са полимерни протеини, изградени от единични полипептиди свързани чрез междумолекулни дисулфидни връзки. Имат способността да формират най-големите и най-сложните протеинови полимери в природата с молекулни маси над 100 милиона, което ги прави най-изключителните протеини в растителното царство. Чрез SDS-PAGE електрофоретичен анализ се разделят на глутенини с висока молекулна маса HMW и глутенини с ниска молекулна маса LMW (Singh et al., 1991; Liu et al., 1996; Masci et al., 2000). Гените кодиращи високомолекулните глутенини са локализиращи на дългото рамо на хромозоми 1А и 1В в Glu-1 локуса, докато нискомолекулните глутенини се контролират от гени в Glu-3 локус, които са свързани с Gli-1 локуса (Jackson et al., 1983).

Проучванията показват, че силата на глутена е в пряка зависимост от неговия γ -глиадинов състав, според който твърдата пшеница се разделя на две групи - от глютен тип γ -45 и тип γ -42. Глиадин γ -45 се асоциира със силен глютен и висок варилен потенциал, докато γ -42 глиадин с по-слаб глютен и ниско кулинарно качество (Bushuk & Zillman, 1978; Damidaux et al., 1978, 1980; Kosmolak et al., 1980; Autran et al., 1982; Feillet, 1984; Payne et al., 1984; Taha & Sâgi, F., 1987b; Petrova et al., 2003). Намерена е корелация между SDS-седиментационните обеми и присъствието на глиадинови фракции в реда: γ -45 > γ -43,5 > γ -42 (Liu et al., 1996). Petrova et al. (2003) установяват γ -глиадиновия електрофоретичен тип на глутена на наличните за времето български сортове твърди пшеници, отразяващ генетично заложения им кулинарен потенциал. Направеният сравнителен анализ на свойствата на протеина/глутена на пшениците показва, че сортовете от γ -45 глиадинов тип (повреда от житна дървеница (ПЖД) = 3,5%) се отличават със силни протеин/глютености характеристики - високи SDS-седиментационни обеми (средно 49 cm³), много добри реологични свойства на мокрия глютен (75 идк ед.), висок процент на неразтворимите протеини (27,2-29,3%) и стабилни теста от фаринографския анализ. SDS-седиментационната стойност на пшениците от тип γ -42, при сравнимо ниво на дефектиране от житна дървеница (3,1%) е два пъти по-ниска (24 cm³). Средната стойност на компресибилитета (109 идк ед.) съответства на слаб глютен, а фаринографските им теста са вискозни и нееластични. Гама-45 и γ -42 глиадините като генетични маркери съответно за силен и слаб глютен обуславят практическото приложение на А-PAG електрофорезния анализ за селекция на твърди пшеници със силен глютен. Скринингът за генотипове от γ -45 глиадинов тип според Clarke et al. (1993, 1998) се извършва в ранните етапи на селекционните програми, като на F2 поколение броят на популациите намалява до 44% и е със същата ефективност, както ако се приложи на F4.

Гама 45 глиадиновият тип глютен има широк спектър за сила - от средно силен и разтеглив до изключително силен и неразтеглив (Pogna et al., 1990; Edwards et al., 2001). Електрофоретични изследвания, насочени към изясняването на причината за варирането на глютеността

на твърди пшеници от γ -45 тип установяват, че γ -глиадините са само генетичен маркер за функционалността на друга фамилия протеини - глутенините с ниска молекулна маса (LMW) (Pogna et al., 1990). LMW са отговорни за разликите във вискоеластичността на глутена и съответно на реологичните свойства на сварените макаронени изделия. В твърдата пшеница са описани два типа LMW - LMW-1 и LMW-2. LMW-1 се свързват с γ -42 глиадин, а LMW-2 – с γ -45 глиадин (Payne et al., 1984; Autran et al., 1987; Feillet et al., 1989; Kobrehel & Alary, 1989; Liu et al., 1996; Sissons et al., 2005, Sissons, 2008; Yildirim et al., 2011; Kendal, 2014). Вече се знае, че ефектът на по-добрата сила на твърди пшеници от γ -45 генотип се дължи на LMW-2, и че те са причината за високо кулинарно качество (Pogna et al., 1988; Kovacs et al. 1995; Masci et al., 2000; Sissons et al., 2005; Sissons, 2008; Yildirim et al., 2011). LMW-1 глутенините се срещат в две форми: LMW-1, които се свързват с γ -42 глиадин и LMW-1', свързани с γ -глиадин *null*. LMW-2 глутенините се срещат в три форми: LMW-2, LMW-2' (свързани с γ -45 глиадин) и LMW-2* (свързани с γ -44 глиадин). Редица автори правят връзка между силата на глутена в зависимост от типа нискомолекулни глутенини, както следва: LMW-2 = LMW-2' > LMW-2* > LMW-1 = LMW-1' (Carrillo et al., 1990; Rojo et al., 2005). Доказателството, че LMW-2 генотип има по-високо кулинарно качество от LMW-1 генотип (с γ -42 глиадини) е безспорно, но няма доказателство, че по-силният LMW-2 генотип изявява по-добро кулинарно качество от по-слабия LMW-2' генотип (Marchylo et al., 2001; Dexter, 2008). Независимо от широкото вариране на силата на глутена, при равно протеиново съдържание, сортовете от LMW-2 формат изявяват сравнимо кулинарно качество. Някои глутенинови субединици с висока молекулна маса (HMW) също влияят на кулинарното качество на тестените изделия, но с по-малък ефект. Докладва се, че HMW субединици 7+8 допринасят за по-високи SDS седиментационни стойности и по-добри вискоеластични свойства на глутена в сравнение с HMW 6+8 и 20 (Boggini et al., 1989 1994, 1995; Pogna et al., 1990; Palumbo et al., 2000; Pena, 2000).

Като цяло повечето локуси, свързани с резервните протеини се характеризират с множествен ализъм. Глиадиновите алели кодират

от един до осем компонента, наследяващи се заедно, поради което се наричат глиадинови блокове. Компонентите, кодирани от LMW алелите на глутениновите субединици също са сложни и включват от един до осем компонента (Varzakas et al., 2014).

СЪСТОЯНИЕ НА ИЗСЛЕДВАНИЯТА, СВЪРЗАНИ С ИЗПОЛЗВАНЕ НА МАС В СЕЛЕКЦИОННИТЕ ПРОГРАМИ ПО КАЧЕСТВО НА ЗЪРНТО

Досега в световните селекционни програми са използвани основно биохимични маркери, но те имат редица недостатъци: малък брой локуси покриват ограничена част от целия геном; използват се токсични съединения като акриламид и редуциращи агенти; прилагането им отнема много време и е необходимо да има опитен персонал за идентифициране на глутениновите субединици. Едно допълнително предимство на молекулните маркери е, че те могат да се прилагат върху листа в по-ранен етап от развитието на растенията, преди узряването на семената (Varzakas et al., 2014). Според Abdel-Hady et al. (2007) надеждността и ефективността на MAS се повишава при съвместно използване на молекулни и биохимични маркери. През последните години започва успешно да се прилага и MAS за подобряване качеството на пшеницата.

Pagnotta et al. (1995) първи предполагат, че молекулните маркери могат да различават алелите на HMW и LMW глутенините, осигурявайки много по-удобен инструмент за бърз генетичен анализ. D'Ovidio & Anderson (1994) заявяват, че в някои случаи ДНК маркерите за алелен състав на HMW глутенините доказано превъзхождат биохимичните маркери (електрофореза (SDS-PAGE)). Uthayakumaran et al. (2006) демонстрират, че MAS за състава на HMW глутенините е много важен инструмент за селекционните програми по пшеница, тъй като информацията относно хлебопекарните качества може да бъде получена в най-ранните етапи от селекционния процес и линиите с незадоволително качество да бъдат бракувани. Според Zhang et al. (2011) молекулната маркерна система е полезна за широкомащабна идентификация на LMW глутенините в сортове обикновена пшеница и за подбор

на желани гени за подобряване на качеството на приготвяния хляб. Освен това разработването на PCR-базирания метод би могъл да се използва не само за характеризиране на LMW глутениновите генни фамилии, но и за определяне на техния принос за качеството на пшеницата.

През последните години са разработени много функционални маркери, свързани с различни гени: глутенини, полифенолоксидаза (PPO) и фитоеен синтазата (PSY), които могат да улеснят използването на MAS в селекционните програми по качество при пшеницата в т.ч. и при твърдата. Въпреки това, поради полигенния характер на много качествени показатели и необходимостта от оценка на ефекта на средата върху тях, откриването на молекулни маркери, свързани с определена фенотипна изява е само предварителна стъпка към създаване на специализирана маркерно - асистирана селекция за подобряване на културните растения (Suprayogi et al., 2009).

Разработени са ДНК маркери, чрез които могат да се различават различните алели на Glu-1, Glu-3 и Gli-1 локусите (Liang et al., 2010; Saito et al., 2010). На разположение са и маркери за индивидуалните алели на Glu-A3 и Glu-B3 локусите, а мултиплексна PCR може да се използват за едновременен скрининг на определени комбинации от алели (Liu et al., 2008). По-подробен преглед на маркерите (включително последователности на праймери) за повече алели на Glu локуси и други качествени гени могат да бъдат намерени в публикациите на Liu et al. (2012).

Въпреки наличието на голям брой маркери точните ефекти на отделните алели върху качествата на пшеницата са трудни за определяне, тъй като те могат да бъдат повлияни от генетичния произход, околната среда и взаимодействията между тях (Zhang et al., 2011). Освен това алелите могат да имат както адитивни ефекти, така и епистатни взаимодействия (Wan et al., 2009).

Няколко проучвания са посветени на идентифицирането на кандидат-гени, участващи в контрола на съдържанието на жълти пигменти в зърното (YPC), който е основен показател, определящ качеството на зърното при твърдата пшеница. Един от най-добре проучените гени е генът, който насочва метаболизма към синтеза на каротеноиди и кодира синтеза на ензима фитоеен (PSY). Фитоеен синтаза (PSY) катализира

димеризацията на две молекули геранил-геранил пирофосфат до фитоеен и се счита за ензим, ограничаващ скоростта на акомулиране на каротеноиди в семената (Lindgren et al., 2003). Почти 50 различни алели са идентифицирани при различни видове пшеница в Psy-A1 и Psy-B1 локусите. Гените, кодиращи PSY са отнесени към групите на 7 хромозома от Pozniak et al. (2007), по-специално Psy-B1 локуса, ко-сегрегиран с QTL на хромозома 7B, който демонстрира асоциация между позицията на този ген и част от фенотипното вариране за цвят на ендосперма. По подобен начин, Psy-A1 алелът, разположен върху хромозома 7A, показва ко-доминантен маркер, основан на полиморфизми между два Psy-A1 хаплотипа, което обяснява 20-28% от фенотипното вариране на YPC в различни среди (He et al., 2008).

Основният проблем, свързан с прилагане на MAS е липсата на тясна връзка между съществуващите маркери и интересувания ни ген. Поради това е необходимо да бъдат идентифицирани тясно свързани (за предпочитане <2 cM) и/или фланкиращи кодоминантни маркери (<5 cM от двете страни на генния локус) (Biradar et al., 2004). Според Sönmezoglu et al. (2010) молекулярният отбор с фланкиращи маркери в желанния регион е много по-надежден. В своето проучване Frisch et al. (1999) определят оптималните разстояния между използваните маркери и гените от интерес чрез MAS поддържано беккросиране (обратно кръстосване), като успяват да прехвърлят минимална част от генома на донора. Техният подход може да увеличи ефективността на подпомогнатото от маркери беккросиране чрез намаляване на необходимия брой индивиди и точки от данни за маркери.

Независимо от това, че досега са разработени голям брой молекулни маркери и големите потенциални предимства при използването им в селекционните програми за бърз отбор на желани рекомбинантни генотипове, все още броят на публикациите, в които се докладва за успешно прилагане на маркерно-асистираната селекция за ускоряване на селекционния процес при пшеницата е ограничен. Най-често MAS е използвана за скрининг на гени, свързани с устойчивостта към болести, като целта е да се пирамидизират тези гени или да се отберат устойчиви генотипове, за да се избегне комплицирания

фенотипен скрининг. Налице са съобщения за бързо и ефективно прехвърляне на гени за устойчивост към икономически важни болести, като жълта и кафява ръжда и брашнеста мана в нови сортове пшеница с помощта на MAS (Yildirim et al., 2004; Yildirim, 2005).

Обичайно в селекционните програми маркерно-асистираната селекция (MAS) се прилага заедно с метода на обратното кръстосване (беккросиране). Обратното кръстосване (бек-крос=backcrossing) е селекционен метод, позволяващ прехвърляне (интрогресия) на желани признаци или генетичен материал от донорно растение в генома на елитен културен генотип (рекурентен родител). Обикновено се провежда негативен фенотипен или генотипен отбор по нежелани гени, идващи от донорния родител. Sönmezoglu et al. (2010) успяват да прехвърлят важни гени, свързани с качеството на зърното при твърдата пшеница (γ -глиадин 45 и LMW-2 глутенини) в турски високодобивен сорт с незадоволително качество с помощта на беккросна стратегия, комбинирана с MAS и за кратко време да създадат селекционни линии с подобро качество. Yldirim et. al. (2019) успешно прехвърлят локусите на Gli-B1 и Glu-B3, кодиращи γ -глиадин 45 и LMW-2 глутенини в 2 турски сорта твърда пшеница, като създават линии с подобро качество на глутена, доказано от по-високите им SDS-седиментационни стойности. Неочаквано за авторите подобрените линии се характеризират и с по-високи протеинови стойности спрямо родителските генотипове.

У нас изследванията, свързани с използване на ДНК-маркери в селекционните програми по пшеница за отбор на желани рекомбинантни генотипове с повишени качествени показатели на зърното са все още ограничени.

Извършен е молекулярен анализ на 24 генотипа твърда пшеница с различно съдържание на каротен с цел установяване на полиморфизма в един от гените за фитоеен синтеза върху хромозома 7A, показваща асоциация със съдържанието на каротен при хексаплоидната пшеница (Taneva, 2019).

Едновременно прехвърляне на различни локуси, отговорни за качеството на глутена и съдържанието на жълти пигменти в българските генотипове твърда пшеница, които като цяло се характеризират с по - слаб тип глутен и по-

ниско съдържание на каротеноиди е ефективен подход за генетичното им подобряване. Но пак от друга страна е сериозно селекционно предизвикателство, което може да бъде разрешено по-лесно при прилагане на съвременни методи, базирани на молекулни маркери. Обединяването на досегашните фенотипни с нови биохимични и молекулни изследвания може да доведе до бързо и ефективно подобряване на качеството при тази важна продоволствена култура. В тази връзка през 2019 г. в ИПК – Чирпан стартира изпълнението на проект, финансиран от ФНИ, насочен към прилагане на маркерно асистирана селекция за създаване на селекционни линии твърда пшеница с подобрена сила на глутена и по-високо съдържание на каротеноиди. За изпълнение на поставената цел се прилага комбинация от традиционни селекционни методи като хибридизация и обратно кръстосване и съвременни биохимични и молекулни маркери, чрез които се проследява прехвърлянето на важни генни региони, кодиращи протеините γ -45 глиадин и LMW-2 глутенин (свързани с посилен глутен) в хибридният потомства. Направен е подбор на подходящи молекулни маркери, тясно свързани с двата локуса Gli-B1 (кодиращ γ -глиадин 45) и Glu-B3 (кодиращ LMW-2 глутенин). Подбрани са генотипове, съдържащи едновременно двата локуса Gli-B1 и Glu-B3, които са включени в хибридизация с високодобивни, но със слаб глутен български сортове.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Работата на селекционерите във връзка с подобряването на признаците, определящи качеството на зърното е свързана с редица трудности, които могат да бъдат преодоленни чрез използване на маркерно-асистирана селекция (MAS).

Маркерно - асистираната селекция позволява отбор на генотипове с ценни агрономически признаци чрез използване на молекулни маркери, тясно свързани с конкретен признак, а не директен отбор на генотиповете според фенотипната изява на съответния признак. Прилагането на MAS позволява получаването на информация за качествените показатели в най-ранните етапи от селекционния процес и бракуване на линиите с незадоволително качество.

Досега в световните селекционни програми по качество на зърното са използвани основно биохимични маркери, но те имат редица недостатъци. Надеждността и ефективността на MAS се повишава при съвместно използване на молекулни и биохимични маркери. През последните години са разработени много функционални маркери, свързани с различни гени: глутенини, полифенолоксидаза (PPO) и фитоен синтазата (PSY), които могат да улеснят използването на MAS в селекционните програми по качество при пшеницата.

Едновременното прехвърляне на различни локуси, отговорни за качеството на глутена и съдържанието на жълти пигменти е ефективен подход за генетичното подобряване на твърдата пшеница, който може да бъде реализиран чрез използване на комбинация от традиционни селекционни методи като хибридизация и обратно кръстосване със съвременни биохимични и молекулни маркери.

Благодарности: Тази работа е подкрепена от Фонд „Научни изследвания“ по договор № КП-06-М36/3, 2019.

ЛИТЕРАТУРА

- Abdel-Hady, M.S., & Naggar M.H.** (2007). Wheat Genotypic Variation and Protein Markers in Relation with in Vitro Selection for Drought Tolerance. *Journal of Applied Sciences Research*, 3(10), 926-934.
- Autran, J. C., Damidaux, R., & Jeanjean, M. F.** (1982). Bestimmung des genetisch-bedingten «Teigwaren-Koch potentials» von Durumweizensorten anhand von Electropherogrammen von Gluten-proteinen. *Getreide Mehl und Brot*, 36, 29-35.
- Autran, J. C., Laignelet, B., & Morel, M. H.** (1987). Characterization and quantification of low molecular weight glutenins in durum wheats. *Biochimie*, 69(6-7), 699-711.
- Battenfield, S. D., Guzmán, C., Gaynor, R. C., Singh, R. P., Peña, R. J., Dreisigacker, S., ... & Poland, J. A.** (2016). Genomic selection for processing and end-use quality traits in the CIMMYT spring bread wheat breeding program. *The plant genome*, 9(2), plantgenome2016-01.
- Biradar, S. K., Sundaram, R. M., Thirumurugan, T., Bentur, J. S., Amudhan, S., Shenoy, V. V., ... & Sarma, N. P.** (2004). Identification of flanking SSR markers for a major rice gall midge resistance gene Gm1 and their validation. *Theoretical and applied genetics*, 109(7), 1468-1473.
- Boggini, G., & Pogna, N. E.** (1989). The breadmaking quality and storage protein composition of Italian durum wheat. *Journal of cereal science*, 9(2), 131-138.
- Boggini, G., Tusa, P., & Pogna, N. E.** (1994). Qualità panificatoria di genotipi di grano duro a composizione proteica atipica. *Tecnica Molitoria*, 8, 825-835.
- Boggini, G., Tusa, P., & Pogna, N. E.** (1995). Bread making quality of durum wheat genotypes with some novel glutenin subunit compositions. *Journal of Cereal Science*, 22(2), 105-113.
- Blanco, A., Simeone, R., & Gadaleta, A.** (2006). Detection of QTLs for grain protein content in durum wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 112(7), 1195-1204.
- Bushuk, W., & Zillman, R. R.** (1978). Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. I. Apparatus, method and nomenclature. *Canadian journal of plant science*, 58(2), 505-515.
- Carrillo, J. M., Vazquez, J. F., & Orkellana, J.** (1990). Relationship between gluten strength and glutenin proteins in durum wheat cultivars. *Plant breeding*, 104(4), 325-333.
- Clarke, J. M., Howes, N. K., McLeod, J. G., & DePauw, R. M.** (1993). Selection for Gluten Strength in Three Durum Wheat Crosses. *Crop science*, 33(5), 956-958.
- Clarke, J. M., Marchylo, B. A., Kovacs, M. I. P., Noll, J. S., McCaig, T. N., & Howes, N. K.** (1998). Breeding durum wheat for pasta quality in Canada. *Euphytica*, 100(1), 163-170.
- Clarke, J. M.** (2005). Durum Wheat Improvement in Canada. *Durum Wheat Breeding*, Volume 2, Chapter 30, p. 921.
- Damidaux, R., Autran, J. C., Grignac, P., & Feillet, P.** (1978). Relation applicable en srlection entre l'6lectrophorrgramme des gliadines et les proprirtrs visco-6lastiques du gluten de Triticum durum Desf. *CR Acad. Sci. D*, 287, 701-704.
- Damidaux, R., Autran, J. C., & Feillet, P.** (1980). Gliadin electrophoregrams and measurements of gluten viscoelasticity in durum wheat. *Cereal Foods World*, 25, 754-756.
- Davies, J., Berzonsky, W. A., Leach, G. D.** (2006). A comparison of marker-assisted and phenotypic selection for high grain protein content in spring wheat. *Euphytica*, 152(1), 117-134.
- Dechev, D.** (2004). Stability and interaction of durum wheat genotypes with the conditions of the years in terms of gluten and protein content in the grain. *Bulgarian Journal of Crop Science*, 41, 248-251 (Bg).
- D'Egidio, M. G., Mariani, B. M., Nardi, S., & Novaro, P.** (1993). Viscoelastograph measures and total organic matter test: Suitability in evaluating textural characteristics of cooked pasta. *Cereal Chemistry*, 70, 67-72.
- Dexter, J. E.** (2008). The history of durum wheat breeding in Canada and summaries of recent research at the Canadian Grain Commission on factors associated with durum wheat processing. ICC conference, Istanbul, Turkey, 24-27, April, 2008. <http://www.grainscanada.gc.htm>.

- Di Fonzo, N., Ravaglia, S., De Ambrogio, E., Blanco, A., & Troccoli, A.** (2005). Durum Wheat Improvement in Italy. *Durum Wheat Breeding*, Volume 2, Chapter 27, p. 825.
- D'ovidio, R., & Anderson, O. D.** (1994). PCR analysis to distinguish between alleles of a member of a multigene family correlated with wheat bread-making quality. *Theoretical and Applied Genetics*, 88(6-7), 759-763.
- Dubcovsky, J.** (2004). Marker-Assisted Selection in Public Breeding Programs. The Wheat Experience. *Crop Science*, 44(6), 1895-1898.
- Edwards, N. M., Dexter, J. E., & Scanlon, M. G.** (2001). The use of rheological techniques to elucidate durum wheat dough strength properties. *ICHEAP-5*, 2, 825-830.
- Elias, E. M., & Manthey, F. A.** (2005). Durum Wheat Breeding at North Dakota State University. *Durum Wheat Breeding*, Volume 2, Chapter 31, p. 939.
- Elouafi, I., Nachit, M. M., & Martin, L. M.** (2001). Identification of a microsatellite on chromosome 7B showing a strong linkage with yellow pigment in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. durum). *Hereditas*, 135(2-3), 255-261.
- Feillet, P.** (1984). The biochemical basis of pasta cooking quality. Its consequences for durum wheat breeders. *Sci. Aliments*, 4, pp. 551-566.
- Feillet, P., Ait-Mouh, O., Kobrehel, K., & Autran, J. C.** (1989). The role of low molecular weight glutenin proteins in the determination of cooking quality of pasta products: An overview. *Cereal Chem*, 66(1), 26-30.
- Frisch, M., Bohn, M., & Melchinger, A.** (1999). Minimum Sample Size and Optimal Positioning of Flanking Markers in Marker-Assisted Backcrossing for Transfer of a Target Gene. *Crop Science*, 39(4), 967-975.
- Goutam, U., Kukreja, S., Tiwari, R., Chaudhury, A., Gupta, R. K., Dholakia, B. B., & Yadav, R.** (2013). Biotechnological approaches for grain quality improvement in wheat: present status and future possibilities. *Australian Journal of Crop Science*, 7(4), 469-483.
- He, X. Y., Zhang, Y. L., He, Z. H., Wu, Y. P., Xiao, Y. G., Ma, C. X., & Xia, X. C.** (2008). Characterization of phytoene synthase 1 gene (*Psy1*) located on common wheat chromosome 7A and development of a functional marker. *Theoretical and Applied Genetics*, 116(2), 213-221.
- Jackson, E. A., Holt, L. M., & Payne, P. I.** (1983). Characterization of high molecular weight and low molecular weight glutenin subunits of wheat endosperm by two-dimensional electrophoresis and the chromosomal localization of their controlling genes. *Theoretical and Applied Genetics*, 66, 29-37.
- Joppa, L. R., Khan, K., & Williams, N. D.** (1983). Chromosomal location of genes for gliadin polypeptides in durum wheat *Triticum turgidum* L. *Theoretical and Applied Genetics*, 64, 289-293.
- Kendal, E.** (2014). Characterization of durum wheat (*Triticum durum* desf) cultivars in term of gliadin and glutenin protein composition. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, 4(3), 174-176.
- Kobrehel, K., & Alary, R.** (1989). The role of a low molecular weight glutenin fraction in the cooking quality of durum wheat pasta. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 47(4), 487-500.
- Kosmolak, F. G., Dexter, J. E., Matsuo, R. R., Leisle, D. & Marchylo, B. A.** (1980). A relationship between durum wheat quality and gliadin electrophoregrams. *Canadian Journal of Plant Science*, 60, 427-432.
- Kovacs, M. I. P., Howes, N. K., Leisle, D., & Zawistowski, J.** (1995). Effect of two different low molecular weight glutenin subunits on durum wheat pasta quality parameters. *Cereal Chemistry*, 72(1), 85-87.
- Liang, D., Tang, J., Pena, R.J., Singh, R., He, X., Shen, X. et al.** (2010). Characterization of CIMMYT bread wheats for high- and low-molecular-weight glutenin subunits and other quality related genes with SDS-PAGE, RP-HPLC and other molecular markers. *Euphytica*, 172, pp. 235-250.
- Lindgren, L. O., Stalberg, K. G., & Hoglund, A. S.** (2003). Seed-specific overexpression of an endogenous *Arabidopsis* phytoene synthase gene results in delayed germination and increased levels of carotenoids, chlorophyll, and abscisic acid. *Plant Physiology*, 132, 779-785.
- Liu, C.Y., Shepherd, K.W., & Rathjen, A. J.** (1996). Improvement of durum wheat pastamaking and breadmaking qualities. *Cereal Chem.*, 73(2), 155-166.
- Liu, S., Chao, S., & Anderson, J. A.** (2008). New DNA markers for high molecular weight glutenin subunits in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 118(1), 177.
- Liu, Y., He, Z., Appels, R., & Xia, X.** (2012). Functional markers in wheat: current status and future prospects. *Theoretical and Applied Genetics*. 125(1), 1-10.
- Marchylo, B.A., Dexter, J. E., Clarke, F. R., Clarke, J. M., & Preston, K. R.** (2001). Relationships among bread-making quality, gluten strength, physical dough properties, and pasta cooking quality for some Canadian durum wheat genotypes. *Can. J. Plant Sci.* 81(4), pp. 611-620.
- Masci, S., D'Ovidio, R., Lafiandra, D. & Kasarda, D. D.** (2000). A 1B-coded low-molecular-weight glutenin subunit associated with quality in durum wheats shows strong similarity to a subunit present in some bread wheat cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 100, 396-400.
- Olmos, S., Distelfeld, A., Chicaiza, O., Schlatter, A. R., Fahima, T., Echenique, V., & Dubcovsky, J.** (2003). Precise mapping of a locus affecting grain protein content in durum wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 107(7), 1243-1251.
- Pagnotta, M.A., Nevo, E., Beiles, A., & Porceddu, E.** (1995). Wheat storage proteins: glutenin diversity in wild emmer, *Triticum dicoccoides* in Israel and Turkey. 2. DNA diversity detected by PCR. *Theoretical and Applied Genetics*, 91, pp. 409-414.
- Palumbo, M., Spina, A., & Boggini, G.** (2000). Agronomic and bread-making characteristics of durum wheat genotypes deriving from interspecific hybridisation with

- bread wheat. *Durum wheat improvement in the Mediterranean region, new challenge. CIHEAM, Zaragoza. Options Mediterraneennes A*, 40, 515-518.
- Payne, P. I., Jackson, E. A., & Holt, L. M.** (1984). The association between γ -gliadin 45 and gluten strength in durum wheat varieties: a direct causal effect or the result of genetic linkage?. *Journal of cereal science*, 2(2), 73-81.
- Patil, R. M., Oak, M. D., Tamhankar, S. A., Sourdille, P., & Rao, V. S.** (2008). Mapping and validation of a major QTL for yellow pigment content on 7AL in durum wheat (*Triticum turgidum* L. ssp. durum). *Molecular Breeding*, 21(4), 485-496.
- Peña, R. J.** (2000). Durum wheat for pasta and bread-making. Comparison of methods used in breeding to determine gluten quality-related parameters. *Durum Wheat Improvement in the Mediterranean Region: New Challenges, Serie A: Séminaires Méditerranéennes*, 40, 423-430.
- Petrova, I., Belcheva, L., & Velkov, B.** (2003). Investigation of durum wheat protein / gluten properties depending on AL-PAG electrophoretic profile of gliadins. *Bulgarian Journal of Crop Science*, 40, pp. 107-112 (Bg).
- Petrova, I., Mikhalkova, N., & Bozhilov, B.** (2009). A new generation of Bulgarian durum wheat. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 42(1), 17-23 (Bg).
- Petrova, I.** (2013a). Comparative analysis of the technological quality of new Bulgarian varieties of durum wheat. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 46(5-6), pp. 3-15 (Bg).
- Petrova, I., Ivanova, S., Mikhalkova, N., & Markov, P.** (2013). A Technological Assessment of a New Winter Durum Wheat Variety Mirela. *Plant Science*, 50, 12-16 (Bg).
- Petrova, I., Alexandrova, E., Marinova, G., & Bachvarov, V.** (2015). Trends in the varietal development of durum wheat in Bulgaria. Scientific papers of the University of Food Technologies - Plovdiv, volume LXII, pp. 91-95, CD (Bg).
- Pogna, N., Lafiandra, D., Feillet, P. & Autran, J. C.** (1988). Evidence for a direct causal effect of low molecular weight subunits of glutenins on gluten viscoelasticity in durum wheats. *J. Cereal Sci.*, 7, 211-214.
- Pogna, N.E., Autran, J.C., Mellini, F., Lafiandra, D. & Feillet, P.** (1990). Chromosome 1B-encoded gliadins and glutenin subunits in durum wheat: genetics and relationship to gluten strength. *J. Cereal Sci.*, 11, pp. 15-34.
- Pozniak, C. J., Knox, R. E., Clarke, F. R., & Clarke, J. M.** (2007). Identification of QTL and association of a phytoene synthase gene with endosperm colour in durum wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 114, pp. 525-537.
- Roselló, M., Royo, C., Álvaro, F., Villegas, D., Nazco, R., & Soriano, J. M.** (2018). Pasta-making quality QTLome from Mediterranean durum wheat landraces. *Frontiers in plant science*, 9, 1512.
- Royo, C.** (2005). Durum Wheat Improvement in Spain. *Durum Wheat Breeding*, Volume 2, Chapter 28, p. 883.
- Royo, C., Nachit, M. M., Di Fonzo, N., Araus, J. L., Pfeiffer, W. H., Slafer, G. A., Eds.** (2005). *Durum Wheat Breeding: Current Approaches and Future Strategies*. The Haworth Press Inc. Philadelphia, PA, USA, Volume 1, Chapter 12, p. 361.
- Ruiz, M., Vázquez, J., & Carrillo, J.** (2005). "Genetic bases of grain quality," in *Durum wheat breeding: current approaches and future strategies*, eds C. Royo, M. M. Nachit, N. Di Fonzo, J. Araus, W. Pfeiffer, & G. Slafer (New York, NY: Food Products Press), pp. 349-378.
- Saito, M., Vrinten, P., & Nakamura, T.** (2010). DNA markers for identifying waxy mutations and improving noodle quality in wheat. *Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ*, 44(2), 109-115.
- Singh, N. K., Shepherd, K. W., & Cornish, G. B.** (1991). A Simplified SDS-PAGE Procedure for Separating. *Journal of cereal science*, 14, 203-208.
- Sissons, M. J., Egan, N. E., & Gianibelli, M. C.** (2005). New insights into the role of gluten on durum pasta quality using reconstitution method. *Cereal Chemistry*, 82(5), 601-608.
- Sissons, M.** (2008). Role of durum wheat composition on the quality and pasta and bread. *Food. Global science books*, pp. 75-90.
- Sönmezoğlu, Ö.A., Yıldırım, A., Güleç, E., Kandemir, N., Sayaslan, A., & Koyuncu, M.** (2010). Molecular Breeding of Selçuklu-97 Durum Wheat Cultivar for Some Genes Affecting Pasta Quality. *Journal of Applied Biological Sciences* 4(2), 51-55.
- Suprayogi, Y., Pozniak, C. J., Clarke, F. R., Clarke, J. M., Knox, R. E., & Singh, A. K.** (2009). Identification and validation of quantitative trait loci for grain protein concentration in adapted Canadian durum wheat populations. *Theoretical and applied genetics*, 119(3), 437-448.
- Taneva, K.** (2019). Study of durum wheat and tetraploid species genotypes for grain quality traits. Dissertation, Chirpan, Bulgaria.
- Taha, S. A., & Sâg, F.** (1987b). Quality of durum wheat (*Triticum durum* Desf.): Grouping of varieties according to their gluten strength, cooking behavior and gliadin composition. *Cereal Research Communication*, 15, pp. 281-286.
- Uthayakumaran, S., Listiohadi, Y., Baratta, M., Batey, I. L., & Wrigley, C. W.** (2006). Rapid identification and quantitation of high-molecular-weight glutenin subunits. *Journal of Cereal Science*, 44(1), 34-39.
- Varzakas, T., Kozub, N., & Xynias, I. N.** (2014). Quality determination of wheat: genetic determination, biochemical markers, seed storage proteins—bread and durum wheat germplasm. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(14), 2819-2829.
- Wan, Y., Underwood, C., Toole, G., Skeggs, P., Zhu, T., Leverington, M., ... & Shewry, P. R.** (2009). A novel transcriptomic approach to identify candidate genes for grain quality traits in wheat. *Plant biotechnology journal*, 7(5), 401-410.

- Würschum, T., Leiser, W.L., Kazman, E., & Longin, C. F. H.** (2016). Genetic control of protein content and sedimentation volume in European winter wheat cultivars. *Theor Appl Genet*, 129, pp.1685-1696.
- Young, N. D.** (1999). A cautiously optimistic vision for marker-assisted breeding. *Molecular breeding*, 5(6), 505-510.
- Yıldırım, A., Karadağ, Y., Sakin, M. A., Gökmen, S., Kandemir, N., Akkaya, M. S., & Yıldırım, F.** (2004). Transfer of stripe rust resistance gene Yr26 to Turkish wheats using microsatellite markers. *Cereal Research Communications*, 32(1), 25-30.
- Yıldırım, A.** (2005). Molecular marker facilitated pyramiding of resistance genes for fungal diseases of wheat. In *Workshop on Genomics and Marker Assisted Selection (MAS) in Plant Breeding* (pp. 3-7).
- Yıldırım, A., Eserkaya Gulec, T., Sayaslan, A., Koyuncu, M., Ateğ Sonmezoglu, O., & Kandemir, N.** (2011). Molecular and biochemical screening of Turkish durum wheat landraces for γ -gliadin and LMW-glutenin proteins associated with pasta-cooking quality. *Turkish Journal of Field Crops*, 16(2), 220-224.
- Yıldırım, A., Sönmezoğlu, Ö.A., Sayaslan, A., Kandemir, N., & Gökmen, S.** (2019). Molecular breeding of durum wheat cultivars for pasta quality. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 11(1), 15-21.
- Zhang, X., Liu, D., Yang, W., Liu, K., Sun, J., Guo, X., ... & Zhang, A.** (2011). Development of a new marker system for identifying the complex members of the low-molecular-weight glutenin subunit gene family in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 122(8), 1503-1516.