

Analisis de las bases geneticas del color en trigo candeal

P. Roncallo^{1,2}, I. Garbus^{1,2}, A. Picca^{1,2}, V. Echenique^{1,2,4}, D.A. Carrera^{1,2}, G.L. Cervigni^{1,2},
R. Miranda^{2,3}

¹ CERZOS-CONICET. Camino de la Carrindanga Km 7, 8000 Bahía Blanca, Buenos Aires, ² Dpto. Agronomía (UNS), 8000 Bahía Blanca, Buenos Aires, ³ Asociación de Cooperativas Argentinas (A.C.A). Criadero de Cereales de Invierno. Cabildo, Buenos Aires, ⁴ E-mail: echeniq@criba.edu.ar

Roncallo P., I. Garbus, A. Picca, V. Echenique, D.A. Carrera, G.L. Cervigni, R. Miranda (2009) Análisis de las bases genéticas del color en trigo candeal.¹ Rev.Fac.Agron._Vol 108 (1): 9- 23.

El color es un carácter de calidad de gran importancia en trigo candeal. Este cereal es utilizado en la elaboración de pastas secas (vermicelli, spaghetti y macarroni) y frescas. El color amarillo brillante, requerido en los granos y productos de pasta, es el resultado de la presencia de pigmentos carotenoides del tipo xantofilas y su degradación por enzimas oxidativas, como lipoxigenasas (LPX), peroxidasas (POD) y polifenol oxidasas (PPO). Los pigmentos carotenoides cumplen una función antioxidante reduciendo el daño oxidativo en membranas biológicas por sustracción de radicales peróxido. Algunos pigmentos carotenoides, como el β -caroteno, son los mayores precursores dietarios de la vitamina A en humanos, y actúan previniendo enfermedades degenerativas y de la visión. La vía biosintética de los carotenoides esta altamente regulada, adjudicándose a la enzima fitoeno sintasa (PSY) un rol clave en la misma. Los pigmentos carotenoides y el color amarillo son caracteres cuantitativos que muestran, en la mayoría de los casos, una herencia transgresiva bidireccional, con evidencias de interacción genotipo-ambiente. Son altamente heredables y están controlados por más de un gen, con un efecto predominantemente aditivo. Estudios de mapeo han identificado QTLs (*Quantitative Traits Loci*) asociados a estos caracteres, que explicaron una gran parte de la variación fenotípica, entre ellos el de la enzima PSY y otras que degradan los pigmentos como LPX, PPO y POD. Los genes correspondientes han sido clonados y se desarrollaron marcadores génicos que podrían ser utilizados con éxito en la selección asistida en programas de mejoramiento.

Esta revisión busca mostrar un panorama de los avances realizados en el conocimiento de las bases genéticas que controlan el color de los granos en trigo candeal, ampliado especialmente durante la última década con el uso de métodos moleculares.

PALABRAS CLAVES: Trigo candeal, carotenoides, lipoxigenasas, QTLs, marcadores

Roncallo P., I. Garbus, A. Picca, V. Echenique, D.A. Carrera, G.L. Cervigni, R. Miranda (2009) Analysis of the genetic bases of color in durum wheat. Rev.Fac.Agron._Vol 108 (1): 9- 23.

Color is an important quality trait in durum wheat. This cereal is mainly used in the manufacture of dry (vermicelli, spaghetti and macarroni) and fresh pasta products. Bright yellow color, required in grains, semolina and pasta, results from the presence of carotenoid pigments like xanthophylls, and its degradation by oxidative enzymes, like lipoxigenases (LPX), peroxidases (POD) and polyphenol oxidases (PPOs). Carotenoids acts as antioxidants, reducing oxidative damage to biological membranes by subtraction of peroxide radicals. Some carotenoid pigments, like β -carotene, are the most important dietary precursors of vitamin A in humans, and help in preventing degenerative diseases and blindness. Carotenoid pathway is highly regulated, being the enzyme phytoene synthase (PSY) the limiting step in the biosynthesis. Carotenoid content and yellow color are quantitative traits that show, mostly, transgressive bidirectional inheritance, with evidence of genotype-environment interaction. These traits are highly heritable and are controlled by more than one gene with a predominant additive effect. QTLs (*Quantitative Traits Loci*) associated with these traits have been identified, explaining much of the phenotypic variation. Molecular markers linked to these QTLs are useful tools for MAS. Genes coding for enzymes involved in pigment pathways and degradation have been cloned and specific markers (STS) have been developed.

Recibido: 02/10/2008

Aceptado: 16/02/2009

ISSN 0041-8676, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP, Argentina

This review show the recent advances related to the genetic basis that control grain color in Durum wheat, specially focused in the molecular studies that allowed to increase this knowledge in the last ten years.

KEY WORDS: Durum wheat, carotenoids, lipoxygenases, QTL, markers

INTRODUCCION

El trigo tetraploide, *Triticum turgidum* ssp. *durum*, llamado comúnmente trigo fideo, duro o candeal se cultiva en áreas relativamente secas de países como India, Argentina, Rusia, en la cuenca mediterránea y en las grandes llanuras secas de Norteamérica y Australia. La sémola del trigo candeal es importante económica y nutricionalmente dado que constituye la materia prima para la fabricación de pastas. El trigo candeal presenta dos genomas, denominados A y B (AABB, $2n=4x=28$), que junto con la poliploidía hacen más difícil el estudio de herencia de los caracteres agronómicos, particularmente cuando éstos son de naturaleza cuantitativa. Muchas características dependen de dos o más genes que pueden estar posicionados en genomas distintos, demorando la construcción de mapas genéticos por medio de métodos convencionales. La obtención de materiales nulisómicos (carentes de un par de cromosomas) y monosómicos (carentes de un cromosoma) de trigo pan, *T. aestivum*, permitió la localización de genes en cromosomas específicos, tales como los relacionados con la resistencia a la roya del tallo, roya de la hoja y tallos macizos (Heyne & Livers, 1953; Larson, 1952). Este tipo de herramientas permitió realizar avances importantes en la genética de este cereal.

Sin embargo, el tamaño de los cromosomas, la poliploidía y las dificultades en la transformación genética demoraron los estudios de genómica, que debieron realizarse, fundamentalmente, a través del transcriptoma y de genómica comparativa.

Esta revisión busca mostrar un panorama de los avances realizados en el conocimiento de las bases genéticas que controlan el color de los granos en trigo candeal, ampliado especialmente durante la última década con el uso de métodos moleculares.

Relevancia económica

El trigo es el producto agrícola de mayor producción mundial correspondiendo el 95% al trigo pan. Casi la totalidad del 5% remanente es trigo candeal, y ocupa una superficie de aproximadamente 14-16 millones de hectáreas (Tróccoli et al., 2000). En la cosecha 2004/05 se llegó al record de producción mundial (aproximadamente 33 millones de toneladas), que cayó bruscamente en la cosecha siguiente (26 millones), debido principalmente al desaliento de siembra por las reservas acumuladas del año anterior, y a la gran sequía que afectó a los principales países productores. La importancia del candeal a nivel mundial es sustancialmente mayor en algunos países de la Unión Europea (Italia, España, Francia y Grecia); de América (Canadá, Estados Unidos, Méjico y Argentina); de África (Argelia, Marruecos y Túnez); Asia (India) y Australia; y otros como Rusia y Turquía (<http://www.fas.usda.gov>).

El uso principal de este cereal es la alimentación humana, siendo una de las fuentes más abundantes de energía y proteínas. El gran valor nutritivo del candeal se debe a su alto contenido de proteínas (12 -14%), aunque alcanza menores rendimientos que el trigo pan. El trigo candeal es utilizado principalmente para la elaboración de pastas secas (vermicelli, spaghetti y macarroni) y frescas. Existen otros productos como el cuscus, que se consume especialmente en el norte de África y el burgol, el frekeh y los chapatis que se elaboran con trigo entero y son muy populares en países de Medio Oriente, África, India y Pakistán (Patnaik & Khurana, 2001). En los países mediterráneos una gran parte de la cosecha de trigo candeal es dedicada a la preparación de pan (Quaglia, 1988; Blanco et al., 2004) y de postres (Seghezzo & Molfese, 1999). Sin embargo, el producto final por excelencia del candeal es la pasta en sus diferentes formas. Italia encabeza el ranking mundial de consumo de pastas secas por habitante/año, con un valor de 28 Kg/hab/año, seguido por Venezuela, Túnez, Suiza, USA, Chile, Grecia, Perú y, por último, Francia, Rusia y Argentina con un consumo promedio de 9 Kg/hab/año. En Argentina, la escasa disponibilidad de sémola de candeal, el alto precio y la baja calidad del trigo candeal durante los últimos años derivaron en el agregado de harina de trigo pan en la industria de pasta seca.

El desafío actual es desarrollar variedades de trigo candeal de buen rendimiento y alta calidad, para satisfacer las exigentes demandas de los mercados internacionales. El conocimiento de las bases genéticas que controlan el color ayudará en este sentido, permitiendo seleccionar con genes y marcadores para productos de mejor color de sémola y pasta.

Factores de calidad del trigo candeal

El trigo candeal posee características superiores para la elaboración de pasta de buena calidad. La dureza de su endosperma facilita la separación del germen de las capas externas del grano, incrementando el rendimiento de sémola. Los fideos hechos con sémola de trigo candeal tienen numerosas ventajas en el proceso de elaboración con respecto a los fabricados con trigo pan. En primer lugar se requiere menos agua para formar la masa, facilitando el secado y volviendo el producto más económico. Además, presenta mayor estabilidad en la cocción, debido fundamentalmente a la calidad del complejo de proteínas de reserva denominado gluten, en cuanto a elasticidad, adhesión y apariencia general. El contenido de pigmentos carotenoides es mayor en trigo candeal, otorgando el color amarillo característico a los fideos, muy apreciado por los consumidores.

El concepto de calidad en trigo candeal es complejo y está en permanente evolución en respuesta a avances tecnológicos de la molienda, a procesos secundarios y a las preferencias del mercado (Dexter & Marchylo, 2001). La calidad puede ser definida como la habilidad

de los granos de trigo o sémola para satisfacer los requerimientos específicos de los usuarios, que serán diferentes de acuerdo al lugar que ocupen en la cadena productiva.

En general, se considera que el contenido de proteína en el grano, la fuerza y elasticidad del gluten y el color son los principales factores involucrados en la calidad de la sémola de trigo candeal y que, en definitiva, redundan en las cualidades reológicas de la masa. El porcentaje de vitreosidad de los granos es también una característica importante. La industria fideera prefiere los granos vitreos debido a su correlación positiva con el porcentaje de proteína, el rendimiento de sémola y la calidad de cocción.

Mientras que la calidad del gluten, color de la sémola y cualidades reológicas de la masa están determinadas fundamentalmente por el genotipo, el contenido de proteína y la vitreosidad, resultan más afectadas por el ambiente (Tróccoli *et al.*, 2000).

Color, un importante factor de calidad

El desarrollo de cultivares con altos o bajos contenidos de pigmentos amarillos, dependiendo del producto final deseado, es un objetivo importante en los programas de mejoramiento de trigo (He *et al.*, 2007). El trigo candeal tiene normalmente un grano ámbar vitroso, que produce sémola amarilla y confiere, en consecuencia, un color amarillo brillante a la pasta (Tróccoli *et al.*, 2000; Elouafi *et al.*, 2001).

El color de la pasta resulta de la combinación de dos procesos: amarillamiento y amarronamiento. Los pigmentos carotenoides, principalmente xantofilas y compuestos flavonoides, son los responsables del color amarillo del grano de trigo y sus productos de molienda (sémola o harina) (Lepage & Sims, 1968; Miskelly, 1984). Sin embargo, el color amarillo no sólo depende de la presencia de pigmentos carotenoides, sino que es influenciado por factores como la tasa de extracción de sémola o harina (Matsuo & Dexter, 1980), las condiciones de procesado (Borrelli *et al.*, 2003) y la degradación oxidativa de pigmentos por enzimas lipoxigenasas (LPX) durante el amasado (Irvine & Winkler, 1950; Irvine & Anderson, 1953; Manna *et al.*,

1998; Borrelli *et al.*, 1999). El indeseable proceso de amarronamiento es atribuido a la acción de enzimas peroxidadas (POD) y polifenol oxidasas (PPO) (Laignelet *et al.*, 1972), presentes en el grano (Kobrehel *et al.*, 1972).

El color amarillo en la pasta puede lograrse también por agregado de otras sustancias. La incorporación de yemas de huevo a la sémola, harina o sus mezclas, da lugar a los denominados fideos con huevo o al huevo. Muchas veces la industria fideera refuerza el color amarillo, con el agregado de azafrán, β -caroteno natural o de síntesis, rocú o cúrcuma. Sin embargo, el color amarillo puede incrementarse a través del mejoramiento genético, seleccionando genotipos portadores de genes para alto contenido de pigmentos y baja actividad de enzimas oxidativas.

En Japón y sudeste de Asia, se requiere una harina coloreada cremosa para la elaboración de noodles a partir de trigo hexaploide (Mares & Campbell, 2001). En la producción tradicional de esta clase de fideos se utiliza una mezcla de sales alcalinas llamada Kansui, que favorece la disociación de flavonas desde los polisacáridos, aumentando la pigmentación amarilla y mejorando la textura del producto final (Kruger *et al.*, 1992). Sin embargo, en la producción comercial se utiliza una solución de hidróxido de sodio para incrementar el color amarillo que produce pérdida de elasticidad del gluten, resultando en una indeseable textura blanda (Terada *et al.*, 1981). Por esta razón, los programas de mejoramiento de noodles japoneses buscan incrementar los niveles de pigmento en la harina para disminuir la concentración de álcali requerida (Parker *et al.*, 1998). Por el contrario, en China los noodles se prefieren de color blanco brillante o cremoso, lo que direcciona el mejoramiento hacia la disminución del contenido de pigmentos en grano (He *et al.*, 2004). Esta misma meta se persigue en la elaboración de pan, que requiere harina de color blanco brillante, usándose benzoyl peróxido para eliminar defectos de color (Kruger & Reed, 1988; Black & Panozzo, 2004).

Tabla 1: Métodos utilizados en la determinación del color.

Table 1: Methods for color measurement

Técnica	Método	Unidades	Referencias
Extracción química de pigmentos	AACC N° 14-50	ppm	AACC
	ICC 152	ppm	ICC
	Métodos alternativos	ppm	Fares <i>et al.</i> , 1991; McCaig <i>et al.</i> , 1992; Mares & Campbell 2001; Santra <i>et al.</i> , 2003; Zhang <i>et al.</i> , 2005; Zhang <i>et al.</i> , 2009
Reflectancia de luz	Colorímetro Minolta	CIE L* 0 (negro puro) a 100 (blanco puro)	CIE L*a*b* (Commission Internationale de L'Eclairage, 1976) o escala HUNTER Lab, 1975, www.hunterlab.com
		CIE a* - 60 (verde puro) a + 60 (rojo puro)	
		CIE b* - 60 (azul puro) a + 60 (amarillo puro)	
Comparaciones visuales			Matz & Larsen, (1954); Walsh (1970)

MÉTODOS EMPLEADOS PARA LA DETERMINACIÓN DEL COLOR

Existen tres metodologías utilizadas para la evaluación del color en productos de molienda y pasta: a) comparaciones visuales con muestras estándar, b) extracción química de pigmentos seguida de determinaciones espectrofotométricas y c) mediciones por reflectancia de luz (Tabla 1).

En las mediciones por reflectancia de luz se utilizan colorímetros como el Minolta, definiéndose el color en términos de los valores estímulos primarios para luz roja, verde y azul (CIE L*a*b*).

Pigmentos carotenoides

Biosíntesis, composición química y función metabólica

Entre los pigmentos más comunes e importantes encontrados en la naturaleza están los carotenoides, compuestos liposolubles sintetizados por organismos fotosintéticos (bacterias, algas, plantas) y no fotosintéticos (bacterias, hongos). Hasta el momento se han identificado más de 600 carotenoides naturales (Ong & Tee, 1992). Los vertebrados no tienen la capacidad de sintetizarlos, por lo que deben incorporarlos a través de la dieta. El principal precursor de carotenoides esenciales como el retinal, retinol (vitamina A) y ácido retinoico (Ong & Tee, 1992; Britton, 1995) es el β -caroteno (Rosati et al., 2000; Ronen et al., 2000; Naik et al., 2003).

La cantidad de carotenoides en trigo pan es significativamente menor que en candeal, siendo la luteína el principal pigmento carotenoides junto a trazas de zeaxantina, α y β -caroteno, según el cultivar (Hidalgo et al., 2006; Leenhardt et al., 2006).

La función primaria del β -caroteno y la zeaxantina en las plantas es la protección contra la fotooxidación y la disipación del exceso de energía lumínica. La luteína es el carotenoide predominante en la captación de luz, presente en los cloroplastos de la mayoría de las plantas verdes (Cunningham & Gantt, 2001).

Aunque el esquema general de la biosíntesis de carotenoides se conoce desde hace más de tres décadas, la descripción molecular sólo fue posible con la identificación y clonación de los genes de las enzimas involucradas (Hirschberg, 2001). Actualmente se han clonado la mayoría de los genes que codifican para enzimas críticas involucradas en esta vía en plantas (Fraser & Bramley, 2004). La primera enzima involucrada es la fitoeno sintasa (PSY), que une dos moléculas de geranyl-geranyl pirofosfato para formar fitoeno (Cunningham & Gantt, 1998), seguida por la fitoeno desaturasa (PDS) que produce ζ -caroteno y la ζ -caroteno desaturasa (ZDS), cuyo producto es el licopeno (Albrecht et al., 1995; Bartley et al., 1999). El licopeno es el sustrato de dos ciclasas, la licopeno- ϵ -ciclasa (Lcy- ϵ) y la licopeno- β -ciclasa (Lcy- β), que catalizan la formación de diferentes carotenoides que, a través de subsecuentes modificaciones, dan lugar a la formación de luteína y/o carotenos (Fraser & Bramley, 2004). Este esquema general se mantiene en todos los organismos que producen este tipo de pigmentos (Sun et al., 1998; Rosati et al., 2000; Arrach et al., 2001). La enzima PSY sería el paso limitante (Lindgren et al., 2003; Cunningham & Gantt, 2001; Cunningham, 2002; Naik et al., 2003). Recientemente, fueron identificados

en arroz (*Oryza sativa* L.), maíz (*Zea mays* L.) y trigo pan, dos genes funcionales para esta enzima, *Psy-1* y *Psy-2* (Gallagher et al., 2004). Sin embargo, sólo *Psy-1* estaría relacionado con la acumulación de carotenoides durante la etapa de llenado de los granos. En el endosperma de maíces amarillos se han detectado mayores niveles de transcritos de *Psy-1* que en el endosperma de arroz blanco (Gallagher et al., 2004).

La identificación de los genes involucrados en la síntesis de carotenoides ha posibilitado la manipulación genética de esta vía en plantas (Ye et al., 2000; Dongliang et al., 2007). A pesar de que se han realizado varios ensayos exitosos en la ingeniería metabólica de carotenos en plantas cultivadas, el mayor problema aún sin resolver es cómo incrementar el flujo de precursores metabólicos hacia la síntesis de los carotenoides, sin afectar otras vías metabólicas relacionadas (Bottella-Pavia et al., 2004).

Valor nutricional y efectos sobre la salud

Existe un renovado interés en el estudio de los pigmentos en plantas por razones nutricionales relacionadas con sus propiedades antioxidantes (Miller et al., 1996) y su actividad pro-vitamina A (Graham & Rosser, 2000). La vitamina A es un factor esencial en procesos como la reproducción celular, el normal desarrollo del embrión y de los órganos de la visión (Zile, 1998) y su deficiencia es la mayor causa de muerte prematura en las naciones en desarrollo. Esta puede producirse a partir del β -caroteno dietario, obtenido de las frutas y vegetales (Mangels et al., 1993). Otros carotenoides pro-vitamina A incluyen el α -caroteno y la criptoxantina. Con el objetivo de mejorar las propiedades nutricionales, se incorporaron al arroz vía transformación, tres genes de la síntesis de β -caroteno, dando origen al llamado arroz dorado (Ye et al., 2000).

Los carotenoides reducen el daño oxidativo sobre las membranas biológicas. Actúan secuestrando radicales peróxido que están involucrados en ciertas enfermedades humanas y en los procesos de envejecimiento (Olson & Kobayashi, 1992; Rousseau et al., 1992; Van Poppel et al., 1993). La luteína intervendría en la prevención de la degeneración macular por envejecimiento (Olmedilla et al., 2001). Además, los carotenoides protegen a las células y organismos de los efectos perjudiciales de la luz y el aire (Krinsky, 1987). Estas propiedades ayudarían también a mantener la calidad de los alimentos (Frankel, 1989).

Distribución en el grano

Aunque el embrión es el lugar de mayor concentración de carotenoides en el grano de trigo, éste sólo comprende el 3-5% de la harina integral (Panfilii et al., 2004). El endosperma almidonoso posee una concentración menor de carotenoides pero representa el 80% del grano (Chen & Geddes, 1945; Kruger & Reed, 1988). En consecuencia, la concentración de carotenoides en el endosperma posee la mayor influencia sobre el valor total.

El tipo de pigmento también difiere en los distintos sectores del grano. El α - y β -caroteno y la zeaxantina están principalmente localizados en el embrión mientras

la luteína, el pigmento más abundante, está igualmente distribuido a través del grano (Panfili *et al.*, 2004). En los países menos desarrollados, la molienda a mano reemplaza a la molienda industrial y esto produce que partes del embrión se incluyan en la harina, incrementando la concentración de carotenoides. Sin embargo, el contenido de aceite de este tejido acelera el enranciamiento e incrementa el contenido de enzimas oxidantes, reduciendo el tiempo potencial de almacenamiento de la harina (Humphries *et al.*, 2004).

Genética del carácter

El color de los trigos cultivados es una característica cuantitativa (Moss, 1967), y por lo tanto difícil de manipular en los programas de mejoramiento debido a la influencia ambiental que sufre. Las variaciones en el brillo se deben principalmente a factores ambientales, mientras que el amarillamiento es afectado predominantemente por el genotipo (Irvine & Anderson, 1953) (<http://www.ag.ndsu.nodak.edu>).

El número y tipo de relación entre los genes involucrados en el contenido de pigmentos carotenoides aún no ha sido claramente determinado. Clarke *et al.* (2006) informan que el número de genes para pigmentos se encuentra entre 3 y 27, según los progenitores usados en los cruzamientos y los ambientes en que se llevó a cabo el análisis. Santra *et al.* (2005) concluyen que la herencia del contenido de β -caroteno está gobernada por al menos dos genes mayores y dos o tres genes menores con efectos modificatorios, observándose interacciones epistáticas aditiva x aditiva, aditiva x dominante y dominante x dominante en una de las cruces. Sin embargo, otros autores no encontraron evidencias de efectos génicos epistáticos (Lee *et al.*, 1976; Johnston *et al.*, 1983).

Los valores de heredabilidad informados para el contenido de carotenoides y valor b^* son moderados a altos (Braaten *et al.*, 1962; Bhatt & McMaster, 1976; Johnston *et al.*, 1983; Nachit *et al.*, 1995; Parker *et al.*, 1998; Mares & Campbell, 2001; Elouafi *et al.*, 2001; Santra *et al.*, 2005; Clarke *et al.*, 2006). Se han hallado evidencias de interacción genotipo x ambiente (Braaten *et al.*, 1962; Lee *et al.*, 1976; Johnston *et al.*, 1983). Aunque existe una leve preponderancia de efectos génicos aditivos, se observó también efectos no aditivos sobre la concentración de pigmentos (Lee *et al.*, 1976). Algunos estudios sugieren la presencia de genes mayores sobre los cromosomas 2A y 2B (Joppa & Williams, 1988). Por otro lado, el bajo contenido de pigmento fue heredado como carácter dominante en numerosas cruces (Braaten *et al.*, 1962; Bhatt & McMaster, 1976; Matuz & Beke, 1996; Santra *et al.*, 2005).

El análisis de la distribución de frecuencias para color amarillo (valor b^*) y contenido de carotenoides en las cruces, facilita la identificación de genotipos destacados y es de utilidad en la selección fenotípica. La herencia del contenido de pigmento amarillo demostró ser transgresiva bidireccional en trigo candeal (Bhatt & McMaster, 1976; Johnston *et al.*, 1983; Clarke *et al.*, 2006) y trigo pan (Parker *et al.*, 1998; Mares & Campbell, 2001). También se observó herencia transgresiva negativa en ambientes estresantes (Elouafi *et al.*, 2001; Santra *et al.*, 2005; Clarke *et al.*, 2006). La

segregación transgresiva se explica por la presencia de genes/QTLs de efecto antagónico en ambos parentales.

Efectos del ambiente

La literatura no es clara acerca del efecto del ambiente sobre la concentración de pigmentos en trigo. Se han observado mayores concentraciones en el grano en estaciones frías con alta humedad que en condiciones cálidas y secas (Mangels, 1932). También se han obtenido contenidos más elevados de pigmentos en cultivos bajo riego que en cultivos de secano (Güler, 2003). Asimismo, se ha establecido la existencia de interacción genotipo x ambiente (Lee *et al.*, 1976; Johnston *et al.*, 1983). El estrés ambiental, causado por déficit hídrico o altas temperaturas durante diferentes etapas del llenado del grano podría afectar la concentración y composición de los pigmentos. Sin embargo, en otros estudios se observó que la concentración de pigmentos durante el periodo de llenado del grano tiene una correlación positiva débil con la temperatura media, y negativa con la precipitación (Clarke *et al.*, 2006).

Las heladas ocurridas antes de la etapa de madurez fisiológica afectarían el contenido de pigmentos, probablemente debido a una menor actividad de las enzimas que intervienen en la síntesis de los mismos (Clarke *et al.*, 2006).

En general, tanto el peso hectolítrico como el peso de mil granos se correlacionan negativamente con la concentración de pigmentos (Whiteside *et al.*, 1934; Markley, 1937; Worzella, 1942; Álvarez *et al.*, 1999), probablemente, debido a un efecto de dilución por el incremento de otros constituyentes del grano (Clarke *et al.*, 2006). De hecho, la reducción en la concentración de pigmentos ha sido asociada a un *locus* en el cromosoma 5A, que está relacionado con el tamaño de los granos (Hessler *et al.*, 2002). Ambientes altamente productivos, incrementan el tamaño de los granos, lo que afectaría indirectamente el contenido de carotenoides.

La correlación entre localidades dentro del mismo año o en las mismas localidades pero en diferentes años, ha demostrado que el ambiente afecta diferencialmente la concentración de pigmentos (Clarke *et al.*, 2006). Sin embargo, este mismo estudio informó que la concentración relativa de pigmentos entre los genotipos provenientes de las diferentes cruces analizadas se mantuvo en todos los ambientes, por lo que no existiría interacción cruzada genotipo x ambiente.

PÉRDIDA DEL COLOR POR DEGRADACIÓN ENZIMÁTICA DE PIGMENTOS

Un elevado contenido de carotenoides en la sémola no garantiza un buen color de la pasta. Durante el procesamiento se produce la pérdida de pigmentos y, por consiguiente, del color amarillo de pasta, debido a la acción de enzimas oxidativas como lipoxigenasas (Irvine & Winkler, 1950; Irvine & Anderson, 1953), peroxidasas y polifenol oxidasas (Kobrehel *et al.*, 1972; Kobrehel & Gautier, 1974; Taha & Sagi, 1987). Otros factores relacionados con la pérdida de color son el contenido de proteína, que produce amarronamiento de la sémola (Walsh & Gilles, 1971; Matsuo *et al.*, 1972; Dexter & Matsuo, 1977; Taha & Sagi, 1986) y el

contenido de cenizas (Kobrehel & Gautier, 1974; Taha & Sagi, 1987), aunque su efecto es secundario (Borrelli et al., 1999).

Se ha demostrado que existe una distribución desigual en el grano de las enzimas oxidativas que afectan el color de la sémola (Rani et al., 2001). Los procesos tecnológicos de eliminación del salvado tienen un gran impacto sobre las actividades LPX, POD y PPO, principalmente localizadas en las capas externas del grano (Borrelli et al., 2008).

El estudio del efecto de diferentes condiciones de procesado sobre la actividad lipoxigenasa y peroxidasa en la masa, ha sido muy importante para confirmar el rol de estas enzimas en el color del producto final (Borrelli et al., 2003).

Lipoxigenasas

En las plantas, la vía de lipoxigenasas es uno de los cuatro sistemas enzimáticos de modificación oxidativa de ácidos grasos (Wu et al., 1997). Están involucradas en la síntesis de varias moléculas reguladoras tales como ácido abscísico, ácido jasmónico y ácido traumático (Leach & Mares, 2003). Estas enzimas catalizan la adición de moléculas de oxígeno a ácidos grasos poliinsaturados que contienen el sistema *cis*, *cis*-1,4 pentadieno, produciendo hidroperóxidos conjugados *cis*, *trans*-dieno. Los lípidos de los cereales son altamente insaturados y contienen ácido linoleico, ácido graso esencial usado en la producción de prostaglandinas (Hessler et al., 2002). Los radicales generados a partir de los ácidos grasos en los pasos intermedios de la peroxidación son responsables de la degradación oxidativa de pigmentos tales como β -caroteno, xantófilas y clorofilas (Siedow, 1991).

Existen diferencias significativas en la actividad LPX entre diferentes especies de trigo. El trigo pan posee una actividad 2,5 veces mayor que el trigo candeal, la que a su vez es tres veces mayor que la observada en el trigo Einkorn (*T. monococcum* ssp. *monococcum* L.) (Leenhardt et al., 2006). La actividad LPX en la sémola de trigo candeal se relaciona con la pérdida del contenido de β -caroteno en los productos de pasta (Borrelli et al., 1999). Esta relación también se observó en trigo pan y einkorn (Leenhardt et al., 2006). El procesado de la pasta es la principal fase responsable de la pérdida de pigmentos, registrándose disminuciones del 16,3% en sémola, mientras que un 7,9% se pierde inicialmente en la molienda. Una alta actividad LPX también puede afectar negativamente el aroma de los productos finales. Los hidroperóxidos producidos durante el amasado se transforman en compuestos volátiles, que alteran el sabor y el olor de la pasta (Siedow, 1991).

Muchos compuestos que actúan como antioxidantes fisiológicos son capaces de inhibir la actividad LPX (Lomniski et al., 1993). En sémola de trigo candeal el β -caroteno (Trono et al., 1999), α -tocopherol y el L-

ascorbato (McDonald, 1979; Frankel, 1989; Pastore et al., 2000) inhiben la hidroperoxidación del ácido linoleico y el blanqueo del β -caroteno. Adicionalmente, la pérdida de carotenoides se relaciona de manera inversa con su contenido inicial en sémola (Trono et al., 1999). También en soja el β -caroteno evita la formación de hidroperóxidos del ácido linoleico (Serpen & Gökmen, 2006; 2007). Este pigmento interrumpe la cadena de reacción en la etapa de comienzo de la hidroperoxidación del ácido linoleico, manteniendo a la enzima en su forma inactiva. Por lo tanto, un incremento de la cantidad de dichos antioxidantes, por agregado externo o a través de estrategias de mejoramiento, podría ser útil para reducir la pérdida de pigmentos que se produce durante el procesado de la pasta y mejorar así su calidad (Trono et al., 1999). También se produce una degradación de carotenoides en las etapas de secado de la pasta, evitable a través de modificaciones en los procesos tecnológicos de secado (Borrelli et al., 2003; Taha & Sagi, 1987).

Tres isoenzimas de LPX han sido aisladas y caracterizadas bioquímicamente en trigo, LPX-1, LPX-2 y LPX-3. Los primeros estudios identificaron a las isoenzimas LPX-2 y LPX-3, activas al pH de la masa, como las responsables primarias de la pérdida de carotenoides durante el procesado de la pasta, mientras que LPX-1 presenta actividad de blanqueo a pH alcalino (McDonald, 1979; Hsieh & McDonald, 1984). Utilizando líneas nuli-tetrasómicas, las mismas fueron asignadas a los cromosomas 4A (*Lpx-A1*), 4B (*Lpx-B1*), 4D (*Lpx-D1*), 5A (*Lpx-A2*), 5B (*Lpx-B2*), y 5D (*Lpx-D2*) (Hart & Langston, 1977). Estudios posteriores de mapeo en trigo tetraploide (Nachit et al., 2001) y hexaploide (Li et al., 1999) confirmaron estas localizaciones y demostraron que los genes *Lpx* están localizados en regiones colineares de trigo y cebada, sugiriendo que son ortólogos (Tabla 2).

En granos en desarrollo de cebada, se encontró un mayor nivel de transcritos de *Lox-A* y *Lox-C* en relación a *Lox-B* que presenta mayor actividad en granos germinados (Schmitt & van Mechelen, 1997; van Mechelen et al., 1999). En trigo candeal, el nivel de mRNA de *Lpx-1*, mostró alta correlación positiva con la actividad de LPX a pH alcalino y negativa con el contenido de β -caroteno y el valor b^* (Manna et al., 1998). En cultivares que presentan una alta actividad LPX, la expresión de *Lpx-1* y *Lpx-3* se mantiene prácticamente invariable durante el desarrollo del grano, mientras que, la expresión de *Lpx-1* es nula en los primeros estadios y la de *Lpx-3* disminuye en los estadios tardíos del grano, en aquellos cultivares con menor actividad LPX. No se observaron diferencias de expresión de *Lpx-2* entre cultivares, expresándose en todos los casos, de forma temprana en el desarrollo del grano (De Simone et al., 2008).

Tabla 2: Correspondencia de los genes *Lpx* para trigo y cebada.

Table 2: Correspondence between barley and wheat *Lpx* genes

Cebada			Trigo		
Gen	Isoenzima	Cromosoma	Gen	Isoenzima	Cromosoma
Lox-A	LOX-1	4HS	Lpx-1	LPX-1	4B
Lox C	LOX-2	5HL	Lpx-2	LPX-2	grupo 5
Lox B	no identificada	4HS	Lpx-3	LPX-3	4A

Peroxidasas

Las peroxidasas, junto con las LPX, están involucradas en la degradación de pigmentos, especialmente β -caroteno y luteína (Iori *et al.*, 1995; Fraignier *et al.*, 2000). Las PODs oxidan un gran número de compuestos a expensas del peróxido de hidrógeno (Dunford & Stillman, 1976). Están ampliamente distribuidas en plantas superiores e involucradas en muchas funciones fisiológicas (Espelie *et al.*, 1986). En los alimentos, su actividad causa un deterioro del sabor, textura y valor nutricional (Burnette, 1977), además del amarronamiento de la pasta (Fraignier *et al.*, 2000). En trigo candeal existen grandes diferencias varietales respecto de la composición y el nivel de actividad POD (Fraignier *et al.*, 2000).

La actividad POD es mayor en la fracción de salvado que en la harina del trigo pan y es muy estable durante las fases de extrusión y amasado de la pasta (Icard-Vernière & Feillet, 1999; Borrelli *et al.*, 2003). Adicionalmente, la actividad POD de trigo candeal se incrementa con el avance en el proceso de molienda, desde 1° al 3° quebrado de la sémola hasta la etapa de salvado fino y mediano. Estos datos sugieren que la capa de aleurona es particularmente rica en peroxidasas y muchas otras enzimas (Feillet *et al.*, 2000; Borrelli *et al.*, 2008). No está completamente esclarecida la participación de las POD en el color final de la pasta, fundamentalmente debido a que durante el procesado el contenido de peróxido de hidrógeno es escaso (Delcros *et al.*, 1998; Icard-Vernière & Feillet, 1999). No obstante esto, las PODs podrían tener una interesante participación en la expresión de color, al ser capaces de oxidar los pigmentos carotenoides (Borrelli *et al.*, 2003; 2008).

Polifenol oxidasas

Las polifenol oxidasas (PPO) catalizan la oxidación de compuestos fenólicos en presencia de oxígeno molecular. La actividad PPO del trigo candeal es más baja que la de otros tipos de trigo. Las enzimas PPO están activas durante el procesamiento de la pasta (Feillet *et al.*, 2000) y su actividad incrementa con el aumento de contaminación con salvado en la molienda. Se les adjudica un rol en el amarronamiento de la pasta, particularmente cuando la sémola se encuentra contaminada con las regiones más externas del grano (Feillet *et al.*, 2000). Numerosos estudios han indicado que altos niveles de PPO en el endosperma de trigo pan tiene efectos perjudiciales, causando decoloración de chapatis y noodles (Mares & Panozzo, 1999).

La actividad PPO es afectada tanto por el genotipo como por el ambiente. El análisis de este carácter reveló ser poligénica en dos poblaciones de RILs de trigo pan y monogénica en una tercera población (Demeke *et al.*, 2001). En trigo pan, se ha localizado un gen para PPO sobre el grupo cromosómico 2 (Jiménez & Dubcovsky, 1999; Udall, 1997; Anderson & Morris, 2001). Posteriormente se sugirió la presencia de al menos 6 genes *Ppo* (Jukanti *et al.*, 2004). Se estableció la secuencia genómica completa de dos de ellos, localizados sobre los cromosomas 2A y 2D y sus variantes alélicas fueron caracterizadas *in silico* y validadas experimentalmente. Un gen *Ppo* fue mapeado sobre el cromosoma 2DL (He *et al.*, 2007). Otros estudios sugieren la existencia de al menos cinco

genes *Ppo* asociados al grano en trigo hexaploide, tres en el candeal (cv. Langdon) y tres en *T. monococcum* (cv. DV92) (Massa *et al.*, 2007). La homología de secuencias de los genes *Ppo* ubicados sobre los cromosomas 2A y 2D fue más elevada (Massa *et al.*, 2007). Los niveles de transcriptos *Ppo* en granos en desarrollo de varios cultivares de trigo pan fueron positivamente correlacionados con actividad PPO de granos maduros (Anderson *et al.*, 2006; Jukanti *et al.*, 2006).

Existen marcadores basados en información de secuencias, asociados a los genes *Ppo* que se utilizaron con éxito en programas de mejoramiento asistidos de trigo para noodles (Sun *et al.*, 2005; He *et al.*, 2007). En trigo tetraploide, se ha mapeado un gen que confiere elevada actividad PPO sobre el brazo largo del cromosoma 2A (Simeone *et al.*, 2002; Watanabe *et al.*, 2006).

MARCADORES MOLECULARES Y MAPEO DE QTLS ASOCIADOS AL COLOR

Los estudios del color en trigo y sus productos derivados han crecido en complejidad en los últimos años. El uso de marcadores moleculares y estrategias como el mapeo de QTL han facilitado el estudio del modo de herencia y la forma en que el ambiente influye sobre estos caracteres. La selección indirecta utilizando marcadores ligados a QTLs es una alternativa que evita múltiples evaluaciones de ensayos replicados en años y localidades.

Al menos una decena de trabajos de mapeo de QTL asociados a color han sido publicados hasta la fecha, la mayoría de ellos relacionados a trigo pan. En uno de los primeros trabajos se utilizó una población de 150 líneas F4 recombinantes endocriadas derivada de trigo hexaploide (Schomburgk x Yarralinka) para el análisis del carácter color de harina, expresado como valor b^* (Parker *et al.*, 1998). Estos autores informaron tres *loci* asociados a color de harina, identificados mediante regresión simple, dos de ellos localizados en el cromosoma 7A y el restante en el 3A. Sin embargo, el mapeo por intervalos permitió detectar sólo el QTL sobre el 7A. El elevado porcentaje de la varianza fenotípica explicado por este QTL sugiere que controla en gran medida la herencia de este carácter. Posteriormente, un marcador AFLP ligado a este *locus* fue secuenciado (STS) y convertido en un marcador adecuado para su uso en selección asistida (MAS) (Parker & Langridge, 2000). Este marcador, designado *FC7* fue validado en otras poblaciones y actualmente es muy útil para seleccionar por color de la harina.

Un gran número de QTLs asociados al color de harina y de noodles ha sido identificado en 3 poblaciones de doble-haploides (DH) de trigo pan, Cranbrook x Halberd, Sunco x Tasman y CD87 x Katepwa (Mares & Campbell, 2001). En la primera población se detectaron QTL para valor b^* en harina sobre los cromosomas 3B, 5D, 7A, mientras que en la segunda, dichos QTL se localizaron sobre los cromosomas 3B, 4B, 5B y 7A. Las regiones identificadas sobre los cromosomas 3B y 7A en ambas poblaciones presentaron efecto aditivo y posición cromosómica similar. El QTL del 7A es probablemente el mismo que fuera localizado

previamente por Parker et al., (1998). Los QTL para b* de harina identificados en la población CD8 x Katepwa estuvieron localizados sobre los cromosomas 2D, 3A, 6A y 7B. Aunque no se encontraron QTL en el 7A fue hallado un QTL en una región homeóloga del cromosoma 7B. Dos QTLs fueron mapeados sobre los cromosomas 3B y 7A para contenido de xantofilas en una población derivada de Cranbrook x Halberd; estos dos QTL, coinciden posicionalmente con los que controlan el valor b* (Mares & Campbell, 2001).

Más recientemente, Kuchel et al., (2006) identificaron sobre el cromosoma 7B un QTL mayor para valor b* en una población DH derivada de la cruce de los cultivares hexaploides australianos 'Trident' y 'Molineux'. Este carácter mostró además estar correlacionado con proteína en harina. Esta misma región tuvo un efecto significativo sobre los valores L* y el a* del Minolta.

También se identificaron QTL asociados a los parámetros de color L* y b* de noodles alcalinos amarillos, sobre en una población DH de trigo pan (RL4452 x AC Domain) (McCartney et al., 2006). Estos QTL para L* se mapearon en regiones homeologas de los cromosomas 5B y 5D. Un QTL mayor fue hallado para el parámetro b* en el cromosoma 7AL, coincidiendo con otros QTL previamente informados para valor b* y contenido de pigmentos en poblaciones de trigo pan (Mares & Campbell, 2001).

El primer estudio de mapeo de QTLs para caracteres relacionados al color en trigo candeal se realizó utilizando una población de RILs, obtenida de la cruce entre Omrabi5 y *T. dicoccoides* 600545, retrocruzada con Omrabi5 (Elouafi et al., 2001). Este ensayo permitió identificar tres QTL en los cromosomas 7A y 7B con altos coeficientes de determinación y efecto ambiental débil. La localización de QTL sobre el grupo cromosómico 7 coincide con la obtenida en trigo pan para el carácter color amarillo (Parker et al., 1998) y pigmentos carotenoides en *Hordeum chilense* (Álvarez et al., 1998).

Se han identificado regiones genómicas asociadas a tres de las enzimas involucradas en la vía de biosíntesis de carotenoides, PSY, PSD y ZDS (Cenci et al., 2004). En el año 2007, Pozniak et al., localizaron el gen *Psy-1* en los cromosomas 7A (*Psy-1.7A*) y 7B (*Psy-1.7B*) y el *Psy-2* en los cromosomas 5A y 5B. El locus *Psy-1.7B* está asociado con la variación del color en el endosperma. El locus *Psy-1.7A* podría corresponder a QTLs para color amarillo identificados por otros investigadores (Elouafi et al., 2001; Cervigni et al., 2005).

El rol que cumple la enzima PSY en la biosíntesis de carotenoides y su efecto sobre el contenido de pigmentos en el grano fue posteriormente confirmado en cuatro publicaciones, dos realizadas en trigo candeal (Zhang & Dubcovsky, 2008; Patil et al., 2008) y dos sobre trigo pan (He et al., 2008; Zhang et al., 2008). El alelo de *Psy-1.7A* no mostró ser polimórfico en una población de RILs derivada del cruzamiento de Kofa x UC1113. Sin embargo, un marcador funcional co-dominante fue desarrollado usando el polimorfismo del *Psy-1.7B* (Zhang & Dubcovsky, 2008). Los resultados de este mismo trabajo sugieren la existencia de un locus adicional para el contenido de pigmentos en la región distal del cromosoma 7BL, ligado al marcador *Xbarc340-7B*. También para el trigo hexaploide fue

desarrollado un marcador funcional para el gen *Psy-1.7A* denominado YP7A (He et al., 2008). Dos QTL mayores fueron detectados para el contenido de pigmentos, CIE b* en harina y CIE b* en noodles sobre los cromosomas 1B y 7A (*Psy-1*) (Zhang et al., 2008). Nuestro grupo de trabajo evaluó una población de RILs (Kofa x UC1113) en los ambientes de Cabildo, Balcarce y Barrow en la campaña 2006/07, mapeándose QTLs para color amarillo (CIE b*) en harina, en los cromosomas 1B, 4A, 6A, 7A, 7BS, 7BL y en los cromosomas 4A, 5A, 6A, 7A, 7BS y 7BL para pigmentos carotenoides (Roncallo et al., 2008).

Introgresión de nuevos genes

Las preferencias de los consumidores en cuanto a color de la pasta han llevado a los investigadores a buscar e identificar nuevos genes capaces de incrementar el contenido de pigmentos o bajos niveles de actividad de las enzimas que los degradan. Los antecesores del trigo y las especies relacionadas de la tribu *Triticeae* constituyen una interesante fuente de genes para mejorar el contenido de pigmentos amarillos en trigo candeal.

La especie diploide *Hordeum chilense* Roem, extremadamente polimórfica, a nivel morfológico y bioquímico, posee un gran potencial para el mejoramiento de cereales cultivados por su alta tasa de hibridación con otros miembros de la tribu *Triticeae* (Martín et al., 2000). También es una fuente de genes de resistencia a estreses bióticos y abióticos y de calidad para el mejoramiento de trigo. El alto contenido de pigmentos carotenoides depende de genes localizados sobre el brazo alfa del cromosoma 7Hch, de especial interés para ser transferidos al trigo candeal.

Los tritordeos son líneas aneuploides derivadas de la cruce entre *H. chilense* Roem. Schult. y *T. turgidum* Desf. o *T. aestivum* (Martín & Sanchez-Monge Laguna, 1982). La línea HT621, de origen reciente, posee elevados niveles de carotenoides en el grano, que duplican los valores promedio encontrados en trigo candeal (Ballesteros et al., 2005), demostrando su alto potencial para el mejoramiento de este cereal a través de cruces interespecíficas.

Una estrategia que posibilitará la transferencia del brazo alfa del cromosoma 7 de *H. chilense* al trigo tetraploide es el desarrollo de un marcador CAP (basado en amplificación y corte por restricción) diagnóstico para la enzima PSY1, que permite distinguir el gen de *H. chilense* del de trigo candeal (Atienza et al., 2007a,b). Es posible que *Psy1* no sea el único gen responsable de las diferencias de color entre las distintas accesiones de *H. Chilense*. Sin embargo, la co-localización sobre los cromosomas 7A/7B/7Hch de *Psy1* y los QTLs para contenido de pigmento amarillo, sugieren que *Psy1* jugaría un rol importante en el contenido de carotenoides en semillas de tritordeos.

Lophopyrum ponticum es otra fuente de genes asociados a pigmentos carotenoides de utilidad en los programas de mejoramiento de trigo candeal. El segmento 7D.7E#1 de esta especie fue transferido a su homeólogo de trigo. Adicionalmente, el cromosoma 7E de *L. ponticum* porta un gen de resistencia a roya de la hoja ligado al gen Y de pigmento amarillo, que otorga elevados niveles de pigmentos. El gen Y codificaría una enzima más eficiente en las etapas tempranas de la vía

de biosíntesis de los carotenoides o un factor regulador que afecta varios pasos de la misma (Zhang *et al.*, 2005). Las nuevas líneas de trigo candeal con el segmento recombinante 7EL serán útiles como parentales en los programas de mejoramiento para incrementar el color amarillo.

Einkorn es un diploide ancestral del trigo que contiene elevados niveles de proteína y pigmentos amarillos (D'Egidio *et al.*, 1993; Borghi *et al.*, 1996; Corbellini *et al.*, 1999; Abdel-Aal *et al.*, 2002). Antes de ser reemplazado por los trigos poliploides más productivos, fue fundamental en la extensión de la agricultura y como recurso alimenticio importante por cientos de años (Nesbitt & Samuel, 1996). Un estudio comparativo del contenido de carotenoides en diferentes especies del género *Triticum* demostró que Einkorn posee el más alto nivel de luteína, con pequeñas cantidades de zeaxantina, isómeros de cis-luteína y β -caroteno (Abdel-Aal *et al.*, 2007), seguido por Khorasan (*T. turgidum ssp. turanicum*), Kamut (*T. turgidum ssp. turanicum*), Durum (*T. turgidum ssp. durum*), Emmer (*Triticum turgidum ssp. dicoccum*), mientras que el trigo pan (*T. aestivum ssp. aestivum*) presentó el menor contenido.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

El trigo y el arroz son los productos vegetales que aportan la mayor cantidad de calorías y proteínas *per cápita* en el mundo y, por lo tanto, son vehículos útiles para incrementar el aporte de nutrientes esenciales como los carotenoides. La concentración de carotenoides en trigo es pequeña comparada con la que se encuentra en frutos y vegetales. Sin embargo, un pequeño incremento en la concentración de carotenoides en productos elaborados con trigo, podría tener un impacto nutricional importante en aquellas poblaciones cuya ingesta de calorías depende del consumo de este cereal.

El mejoramiento del color en la sémola de trigo candeal y/o harina de trigo pan, se realiza comúnmente por métodos convencionales, utilizando mediciones colorimétricas (CIE Lab; Hunter, 1975). Es posible mejorar el color actuando sobre una combinación de factores genéticos y procesos tecnológicos. El conocimiento preciso de la base genética de aquellos factores que afectan el color (pigmentos carotenoides y enzimas oxidativas) y la utilización de marcadores ligados a genes/QTLs en la selección indirecta de genotipos superiores, sería de utilidad para lograr mayores ganancias genéticas del carácter.

Los genes involucrados en la vía de la biosíntesis de carotenoides son buenos candidatos para explicar algunas de las diferencias en el color del endosperma y la concentración de carotenoides entre cultivares de trigo. QTLs para color localizados sobre el grupo cromosómico 7, han sido consistentemente informados en un número importante de poblaciones de trigo tetraploide y hexaploide. Al mismo tiempo, se han desarrollado marcadores específicos para la enzima PSY de la biosíntesis de carotenoides y para las enzimas oxidativas LPX y PPO, que se incorporarán como herramientas de selección en los programas de mejoramiento.

En nuestro país el germoplasma elite de trigo durum se generó a partir de pocos cultivares llegados de países

del mediterráneo a principios del siglo XX, o más recientemente del CIMMYT. No se han conducido estudios de diversidad genética pero es posible que la variabilidad genética no sea muy alta. Generar esta información es fundamental, ya que revelaría la estructura genética del germoplasma y sería de gran utilidad para los fitomejoradores. Por otro lado, es posible ampliar la base genética del carácter introgresando genes de especies emparentadas. Con esta información adicional, sumada a la aplicación de nuevas tecnologías como MAS, es posible lograr programas de mejoramiento más eficientes y acelerar el lanzamiento de cultivares con mayor color, y rendimiento. El candeal recuperaría así su importancia en la zona triguera, posibilitando que nuestro país vuelva a poseer una posición destacada en su producción en el escenario mundial.

En la actualidad, la selección auxiliada por marcadores (MAS) es aplicada con mayor frecuencia en los programas de mejoramiento públicos y privados. En Australia se ha desarrollado un programa muy eficiente y en continua evolución, para acelerar el mejoramiento de trigo, considerándose al menos 19 genes/QTLs marcados (Eagles *et al.*, 2001). Programas similares se han implementado con éxito en Canadá y Estados Unidos. Ochenta proyectos MAS fueron completados y más de 300 programas adicionales de retrocruzamiento están intentando incorporar 22 genes diferentes de resistencia a plagas, enfermedades y 21 alelos que favorecen la producción de pan y la calidad de la pasta (Dubcovsky, 2004).

En Argentina, el Programa Nacional de Mejoramiento de Trigo del INTA utiliza MAS en no menos de 15 genes de resistencia a roya de la hoja, fusariosis de la espiga (Sumai 3) y diferentes marcadores asociados a calidad panadera, específicamente para gluteninas de alto peso molecular (*Glu-A*, *Glu-B1*, *Glu-D1*), gluteninas de bajo peso molecular (*Glu-A3* y *Glu-D3*), gliadinas (*Gli-A1* y *Gli-D1*) y secalininas, puroindolinas A y B (genes *Pin-a* y *Pin-b*), genes waxy de endosperma almidonoso (*Wx-A1* y *Wx-B1*) y susceptibilidad al prebrotado (gen *viviparous*, *Vp1*). También son utilizados marcadores para genes de vernalización (*Vrn-A1*, *Vrn-B1* y *Vrn-D1*), respuesta al fotoperíodo (*Ppd-D1*) y altura de planta (*Rht-1*, *Rht-2* y *Rht-8*) (Helguera, com. pers., 2008).

Recientemente, un proyecto financiado por la ANPCyT, junto con el INTA, el CONICET y tres Universidades Nacionales (UNS, FAUBA, UNRC) intenta aplicar herramientas de biotecnología para sumar competitividad y sustentabilidad a la cadena de trigo (PAE 37108), de manera de que el MAS se incorpore como estrategia de rutina en los programas de mejoramiento genético de trigo en un futuro cercano.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdel-Aal, E.-S.M., J.C. Young, I. Rabalski, P. Hucl, & J. Fregeau-Reid. 2007. Identification and Quantification of Seed Carotenoids in Selected Wheat Species. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 55: 787-794.
- Abdel-Aal, E.-S.M., J.C. Young, P.J. Wood, I. Rabalski, P. Hucl, D. Falk, & J. Fregeau-Reid. 2002.

- Einkorn: a potential candidate for developing high lutein wheat. *Cereal Chemistry* 79: 455–457.
- Adom, K. K., Sorrells, M. E. & Liu R. H.** 2003. Phytochemical profiles and antioxidant activity of wheat varieties. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 51: 7825–7834.
- Albrecht, M., A. Klein, P. Huguene, G. Sandmann, & M. Kuntz.** 1995. Molecular cloning and functional expression in *E. coli* of a novel plant enzyme mediating zeta-carotene desaturation. *FEBS Letters* 372: 199–202.
- Alvarez, J.B., L.M. Martin & A. Martin.** 1998. Chromosomal localization of genes for carotenoid pigments using addition lines of *Hordeum chilense* in wheat. *Plant Breeding* 117: 287–289.
- Alvarez, J.B., L.M. Martin & A. Martin.** 1999. Genetic variation for carotenoid pigment content in the amphiploid *Hordeum chilense* × *Triticum turgidum* conv. *durum*. *Plant Breeding* 118: 187–189.
- American Association of Cereal Chemists.** Approved Methods of the AACC. Tenth Edition, March 2000. Method 14-50, reapproval November 3, 1999.
- Anderson, J.V. & C.F. Morris.** 2001. An improved whole-seed assay for screening wheat germplasm for polyphenol oxidase activity. *Crop Science* 41: 1697–1705.
- Anderson, J.V., E.P. Fuerst, W.J. Hurkman, W.H. Vensel, & C.F. Morris.** 2006. Biochemical and genetic characterization of wheat (*Triticum spp.*) kernel polyphenol oxidases. *Journal of Cereal Science* 44: 353–367.
- Arrach, N., R. Fernandez-Martin, E. Cerda-Olmedo & J. Avalos.** 2001. A single gene for lycopene cyclase, phytoene synthase, and regulation of carotene biosynthesis in *Phycomyces*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. PNAS, February 13, 98(4), pp. 1687–1692.
- Atienza, S.G., C.M. Avila & A. Martin.** 2007a. The development of a PCR-based marker for PSY1 from *Hordeum chilense*, a candidate gene for carotenoid content accumulation in tritordeum seeds. *Australian Journal of Agricultural Research* 58: 767–773.
- Atienza, S.G., J. Ballesteros, A. Martin & D. Hornero-Mendez.** 2007b. Genetic variability of carotenoid concentration and degree of esterification among *Tritordeum* (×*Tritordeum Ascherson et Graebner*) and durum wheat accessions. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 55: 4244–4251.
- Ballesteros, J., M.C. Ramirez, S.G. Atienza & A. Martin.** 2005. Registration of HT621, a high carotenoid content *Tritordeum* germplasm line. *Crop Science* 45: 2662–2663.
- Bartley, G.E., P.A. Scolnik & P. Beyer.** 1999. Two *Arabidopsis thaliana* carotene desaturases, phytoene desaturase and zeta-carotene desaturase, expressed in *Escherichia coli*, catalyze a poly-cis pathway to yield pro-lycopene. *European Journal of Biochemistry* 259: 396–403.
- Bhatt, G.M. & G.J. McMaster.** 1976. Variation in pigment content of flour color in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) *Euphytica* 25(1): 685–691.
- Black, C.K. & J.F. Panozzo.** 2004. Accurate technique for measuring color values of grain and grain products using a visible-NIR instrument. *Cereal Chemistry* 8(14): 469–474.
- Blanco, A., R. Simeone, A. Cenci, A. Gadaleta, O.A. Tanzarella, E. Porceddu, S. Salvi, R. Tuberosa, G. Figliuolo, P. Spagnoletti, M.S. Roder & V. Korzun.** 2004. Extension of the Messapia x dicoccoides linkage map of *Triticum turgidum* (L.) *Theil*. *Cellular and Molecular Biology Letters* 9(3): 529–541.
- Borghi, B., R. Castagna, M. Corbellini, M. Heun & F. Salamini** 1996. Breadmaking quality of einkorn wheat (*Triticum monococcum* ssp. *monococcum*). *Cereal Chemistry* 73:208–214.
- Borrelli, G. M., A. M. De Leonardis, C. Fares, C. Platani & N. Di Fonzo.** 2003. Effects of modified processing conditions on oxidative properties of semolina dough and pasta. *Cereal Chemistry* 80(2): 225–231.
- Borrelli, G.M., A.M. De Leonardis, C. Platani, & A. Troccoli.** 2008. Distribution along durum wheat kernel of the components involved in semolina colour. *Journal of Cereal Science* (2008), doi:10.1016/j.jcs.2007.11.007, in press.
- Borrelli, G.M., A. Troccoli, N. Di Fonzo & C. Fares.** 1999. Durum wheat lipoxygenase activity and other quality parameters that affect pasta color. *Cereal Chemistry* 76 (3): 335–340.
- Botella-Pavia, P., O. Besumbes, A. Phillips Michael, L. Carretero-Paulet, A. Boronat & M. Rodriguez-Concepcion.** 2004. Regulation of carotenoid biosynthesis in plants: evidence for a key role of hydroxymethylbutenyl diphosphate reductase in controlling the supply of plastidial isoprenoid precursors. *The Plant Journal* 40: 188–199.
- Braaten, M.O., K.L. Lebsack & L.D. Sibbitt.** 1962. Intergeneration relations of physical properties of dough and carotenoid pigment content in durum wheat. *Crop Science* 2: 277–281.
- Britton, G.** 1995. Structure and properties of carotenoids in relation to function. *FASEB Journal* 9: 1551–1558.
- Burnette, F.S.** 1977. Peroxidase and its relationship to food flavour and quality: A review. *Journal of Food Science* 42: 1–6.
- Carrera, A., V. Echenique, W. Zhang, M. Helguera, F. Manthey, A. Schrage, A. Picca, G. Cervigni & J. Dubcovsky.** 2007. 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* 45 67–77.
- Cenci, A., S. Somma, N. Chantret, J. Dubcovsky & A. Blanco.** 2004. PCR identification of durum wheat BAC clones containing genes coding for carotenoid biosynthesis enzymes and their chromosome localization. *Genome* 47: 911–917.
- Cervigni, G., W. Zhang, A. Picca, A. Carrera, M. Helguera, F. Manthey, R. Miranda, J. Dubcovsky & V. Echenique.** 2005. QTL mapping for LOX activity and quality traits in durum wheat. *Proceedings of 7th international wheat conference*. SAGPYA/INTA. Mar del Plata, Argentina 27 de Noviembre–2 de Diciembre.
- Clarke, F.R., J.M. Clarke, T.N. Mccaig, R.E. Knox & R. M. Depauw.** 2006. Inheritance of yellow pigment concentration in seven durum wheat crosses. *Canadian Journal of Plant Science* 86: 133–141.
- Corbellini, M., S. Empilli, P. Vaccino, A. Brandolini, B. Borghi, M. Heun & F. Salamini.** 1999. Einkorn characterization for bread and cookie production in

- relation to protein subunit composition. *Cereal Chemistry* 76: 727-733.
- Cunningham, F.X. & E. Gantt.** 1998. Genes and enzymes of carotenoid biosynthesis in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 49: 557-583.
- Cunningham, F.X. & E. Gantt.** 2001. One ring or two? Determination of ring number in carotenoids by lycopene epsilon-cyclases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 98, pp. 2905-2910.
- Cunningham, F.X.** 2002. Regulation of carotenoid synthesis and accumulation in plants. *Pure and Applied Chemistry* 74:1409-1417.
- Chen, K.-T. & W.F. Geddes.** 1945. Studies on the wheat pigments. University of Minnesota, St Paul, MN.
- D'egidio, M.G., S. Nardi, & V. Vallega.** 1993. Grain, flour and dough characteristics of selected strains of diploid wheat, *Triticum monococcum L.* *Cereal Chemistry* 70: 298-303.
- De Simone, V., M. Petrarulo, V. Menzo, D.B.M. Ficco, A.M. De Leonardis, D. Trono, C. Riefolo, L. Cattivelli & P. De Vita.** 2008. Lipoxygenase activity and gene expression during grain-filling period In durum wheat. *Proceedings of International Symposium "From Seed To Pasta: The Durum Wheat Chain. Multidisciplinary approaches for a more sustainable and high-quality durum production"*. June 30 - July 3, 2008. Bologna, Italy. Poster session P.8.15.
- Delcros, J.F., L. Rakotozafy, A. Boussard, S. Davidou, C. Porte, J. Potus & J. Nicolas.** 1998. Effects of mixing conditions on the behavior of lipoxygenase, peroxidase, and catalase in wheat flour doughs. *Cereal Chemistry* 75: 85-93.
- Demeke, T., C.F. Morris, K.G. Campbell, G.E. King, J.A. Anderson & C. Hak-Gil.** 2001. Wheat polyphenol oxidase: distribution and genetic mapping in three inbred line populations. *Crop Science*. 41: 1750-1757.
- Dexter, J.E. & B.A. Marchylo.** 2001. Recent trends in durum wheat milling and pasta processing impact on durum wheat quality requirements. En: *International Workshop on Durum Wheat, Semolina, and Pasta Quality: Recent Achievements and New Trends*. Abecassis, J., Autran, J.-C. & Feillet, P., Eds. *Les Colloques No. 99.*, 2000 Nov. 27, Montpellier, France. *Institute National de la Recherche Agronomique, Montpellier, France*. pp. 139-164.
- Dexter, J.E. & R.R. Matsuo.** 1977. Influence of protein content on some durum wheat quality parameters. *Canadian Journal of Plant Science* 57: 717-727.
- Dongliang, Q., G. Diretto, R. Tavarza & G. Giuliano.** 2007. Improved protocol for agrobacterium mediated transformation of tomato and production of transgenic plants containing carotenoid biosynthetic gene CsZCD. *Scientia horticulturae* 112(2): 172-175.
- Dubcovsky, J.** 2004. Marker-assisted selection in public breeding programs: The wheat experience. *Genomics and Plant Breeding Symposium. Crop Science* 44: 1895-1898.
- Dunford, H.B. & J.S. Stillman.** 1976. On the function and mechanism of action of peroxidases. *Coordination Chemistry Reviews* 19: 187-251.
- Eagles, H.A., H.S. Bariana, F.C. Ogonnaya, G.J. Rebetzke, G.J. Hollamby, R.J. Henry, P.H. Henschke & M. Carter.** 2001. Implementation of markers in Australian wheat breeding. *Australian Journal of Agricultural Research* 52: 1349-1356.
- Elouafi, I., M.M. Nachit & L.M. Martin** 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: 255-261.
- Espelie, K.E., V.R. Franceschi, & P.E. Kolattukudy.** 1986. Immunocytochemical localization and time course of appearance of an anionic peroxidase associated with suberization in woundhealing potato tuber tissue. *Plant Physiology* 81: 487-492.
- Fares, C., C. Platani, G. Tamma & F. Leccese** 1991. Microtest per la valutazione del colore in genotipi di frumento duro. *Molini d'Italia, Anno XLII* 12: 19-21.
- Feillet, P., J.C. Autran & C. Icard-Vernière.** 2000. Mini Review, Pasta brownness: An assessment. *Journal of Cereal Science* 32(3): 215-233.
- Fraignier, M.P, N. Michaux-Ferriere & K. Kobrehel.** 2000. Distribution of peroxidase in durum wheat (*Triticum durum*). *Cereal Chemistry* 77: 11-17.
- Frankel, E.N.** 1989. The antioxidant and nutritional effects of tocopherol, ascorbic acid, and β -carotene in relation to processing of edible oils. En: *Nutritional Impact of Food Processing*. Somogyi, J.C. & Muller, H.R., Eds. *Bibliotheca Nutritio et Dieta*. Karger: Basel, Switzerland. Vol. 43, pp 297-312.
- Fraser, P.D. & P.M. Bramley.** 2004. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Prog Lipid Research* 43: 228-265
- Gallagher, C.E., Matthews, P.D., Li, F. & E.T. Wurtzel.** 2004. Gene duplication in the carotenoid biosynthetic pathway preceded evolution of the grasses. *Plant Physiology* 135: 1776-1783.
- Graham, R.D. & J.M. Rosser** 2000. Carotenoids in staple foods: Their potential to improve human nutrition. *Food Nutrition Bulletin*. 21: 404-409.
- Güler, M.** 2003. Irrigation effects on quality characteristics of durum wheat. *Canadian Journal of Plant Science* 83: 327-331.
- Hart, G.E. & P.J. Langston.** 1977. Chromosome location and evolution of isozyme structural genes in hexaploid wheat. *Heredity* 39: 263-277.
- He, X.Y., Z.H. He, L.P. Zhang, D.J. Sun, C.F. Morris, E.P. Fuerst & X.C. Xia.** 2007. Allelic variation of polyphenol oxidase (PPO) genes located on chromosomes 2A and 2D and development of functional markers for the PPO genes in common wheat. *Theoretical and Applied Genetic* 115:47-58.
- He, X.Y., Y.L. Zhang, Z.H. He, Y.P. Wu, Y.G. Xiao, C.X. Ma, & X.C. Xia.** 2008. Characterization of phytoene synthase 1 gene (*Psy1*) located on common wheat chromosome 7A and development of a functional marker. *Theoretical and Applied Genetic*. DOI 10.1007/s00122-007-0660-8.
- He, Z.H., J. Yang, Y. Zhang, K. Quail & R.J. Pena** 2004. Pan bread and dry white Chinese noodle quality in Chinese winter wheats. *Euphytica* 139: 257-267.
- Hentschel, V., K. Kranl, J. Hollmann, M.G. Lindhauer, V. Bohm & R. Bitsch.** 2002. Spectrophotometric determination of yellow pigment content and evaluation of carotenoids by high-performance liquid chromatography in durum wheat grain. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 50(23), 6663-6668.

- Hessler, T.G., M.J. Thomson, D. Benscher, M.M. Nachit & M.E. Sorrells.** 2002. Association of a lipoxigenase locus, Lpx-B1, with variation in lipoxigenase activity in durum wheat seeds. *Crop Science* 42: 1695–1700.
- Heyne, E.G. & W. Livers.** 1953. Monosomic analysis of leaf rust reaction, awnedness, winter injury and seed color in Pawnee wheat. *Agronomy Journal* 45: 54–58.
- Hidalgo, A., A. Brandolini, C. Pompei & R. Piscozzi** 2006. Carotenoids and tocals of einkorn wheat (*Triticum monococcum* ssp. *monococcum* L.) *Journal of Cereal Science* 44: 182–193.
- Hirschberg, J.** 2001. Carotenoid biosynthesis in flowering plants. *Current Opinion Plant Biology* 4: 210–218
- Hsieh, C.C. & C.E. McDonald.** 1984. Isolation of lipoxigenase isoenzymes from flour of durum wheat endosperm. *Cereal Chemistry* 61: 392–398.
- Humphries, J.M., R.D. Graham & D.J. Mares.** 2004. Application of reflectance colour measurement to the estimation of carotene & lutein content in wheat and triticale. *Journal of Cereal Science* 40: 151–159.
- Hunter, R.S.** 1975. Uniform color scales, Chapt. 8. The measurement of appearance. John Wiley & Sons, New York, pp 102–132.
- Icard-Vernière, C. & P. Feillet.** 1999. Effects of mixing conditions on pasta dough development and biochemical changes. *Cereal Chemistry* 76(4), 558–565.
- Iori, R., Cavalieri, B. & S. Palmieri.** 1995. Cathodic peroxidases of durum wheat flour. *Cereal Chemistry* 72: 176–181.
- Irvine, G.N. & C.A. Winkler.** 1950. Factors affecting the color of macaroni II. Kinetic studies of pigment destruction during mixing. *Cereal Chemistry* 27: 205–218.
- Irvine, G.N. & J.A. Anderson.** 1953. Variation in principal quality factors of durum wheats with a quality prediction test for wheat or semolina. *Cereal Chemistry* 30: 334–342.
- Jimenez, M. & J. Dubcovsky.** 1999. Chromosome location of genes affecting polyphenol oxidase activity in seeds of common and durum wheat. *Plant Breeding*. 118: 395–398.
- Johnston, R.A., J.S. Quick & J.J. Hammond.** 1983. Inheritance of semolina color in six durum wheat crosses. *Crop Science* 23: 607–610.
- Joppa, L.R. & N.D. Williams.** 1988. Langdon durum disomic substitution lines and aneuploids analysis in tetraploid wheat. *Genome* 30: 222–228.
- Jukanti, A.K., P.L. Bruckner & A.M. Fischer.** 2004. Evaluation of wheat polyphenol oxidase genes. *Cereal Chemistry* 81: 481–485.
- Jukanti, A.K., P.L. Bruckner & A.M. Fischer.** 2006. Molecular and biochemical characterisation of polyphenol oxidases in developing kernels and senescing leaves of wheat (*Triticum aestivum*). *Funct. Plant Biol.* 33: 685–696.
- Kobrehel, K., B. Laignelet & P. Feillet.** 1972. Relation entre les activités peroxydasiques et polyphenoloxidasiques des blés durs et le brunissement des pâtes alimentaires. *C. R. Academic Agriculture. Fr.* 14: 1099–1106.
- Kobrehel, K. & M.F. Gautier.** 1974. Variability in peroxidase isozymes in wheat and related species. *Canadian Journal of Botany* 52: 755–759.
- Krinsky, N.I.** 1987. Medical uses of carotenoids. En: *Carotenoids*. Krinsky, N.I., Mathews Roth, M.M. & Taylor, R.F., Eds. Plenum Publication, NewYork. pp.195–206.
- Kruger, J.E. & G. Reed.** 1988. Enzymes and colour. En: *Wheat: Chemistry and technology*. Pomeranz, Y. Ed. American Association of Cereal Chemists. vol II, pp. 441–487.
- Kruger, J.E., R.R. Matsuo & K. Preston.** 1992. A comparison of methods for the prediction of Cantonese noodle colour. *Canadian Journal of Plant Science* 72: 1021–1029.
- Kuchel, H., P. Langridge, L. Mosione, K. Williams & S.P. Jeveries.** 2006. The genetic control of milling yield, dough rheology and baking quality of wheat. *Theoretical and Applied Genetic* 112: 1487–1495.
- Laignelet, B., K. Kobrehel & P. Feillet.** 1972. Le probleme dela coloration des pâtes alimentaires. *Industries Agricoles et Alimentaires* 89: 413–427.
- Larson, R.I.** 1952. Aneuploid analysis of inheritance of solid stem in common wheat. *Genetics* 37: 597–598.
- Leach, R.C. & D.J. Mares.** 2003. Targeting the lipoxigenase gene of bread wheat (*Triticum Aestivum* L.). 53^o Australian Cereal Chemistry Conference, 7–10 September.
- Lee, J., Kaltsikes, P.J. & W. Bushuk.** 1976. The inheritance of lipoxidase activity and pigment content in durum wheat. *Theoretical and Applied Genetic* 47: 243–250.
- Leenhardt, F., B. Lyan, E. Rock, A. Boussard, J. Potus, E. Chanliaud & C. Remesy.** 2006. Genetic variability of carotenoid concentration, and lipoxigenase and peroxidase activities among cultivated wheat species and bread wheat varieties. *European Journal of Agronomy* 25: 70–176.
- Lepage, M. & R.P.A. Sims.** 1968. Carotenoid of wheat flour: Their identification and composition. *Cereal Chemistry* 45:600–604.
- Li, W.L., J.D. Faris, J.M. Chittoor, J.E. Leach, S.H. Hulbert, D.J. Liu, P.D. Chen & B.S. Gill.** 1999. Genomic mapping of defense response genes in wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 98(2): 226–233.
- Lindgren, L.O., K.G. Stalberg & A.S. Høglund.** 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.
- Lomniski, L., R. Bar-Natan, D. Sklan & S. Grossman.** 1993. The interaction between β -carotene and lipoxigenase in plant and animal systems. *Biochimica et Biophysica Acta* 1167: 331–338.
- Mangels, A.R., J.M. Holden, G.R. Beecher, M.R. Forman & E. Lanza.** 1993. Carotenoid content of fruits and vegetables: an evaluation of analytic data. *Journal Am. Diet. Association* 93: 284–296.
- Mangels, C. E.** 1932. Regional and seasonal variation in pigmentation of durum wheats. *Cereal Chemistry* 9: 485–490.
- Manna, F., G.M. Borrelli, D. Massardo, K. Wolf, P. Alfano, L. Del Giudice & N. Di Fonzo.** 1998. Differential expression of lipoxigenase genes among durum wheat cultivars. *Cereal Research Communication* 26: 23–30.

- Mares, D. & A. Campbell.** 2001 Mapping components of flour and noodle colour in Australian wheat. *Australian Journal of Agricultural Research* 52: 1297–1309.
- Mares, D.J. & J.F. Panozzo.** 1999. Impact of selection for low grain polyphenol oxidase activity on darkening in Asian noodles. En: 'Proceedings of the Ninth Assembly Wheat Breeding Society of Australia'. Williamson, P.; Banks, P.; Haak, I.; Thompson, J.; Campbell, A. (Eds.) pp. 32–33.
- Markley, M.C. & C.H. Bailey.** 1935. The nature of the pigments of the gasoline extracts of wheat. *Cereal Chemistry* 12: 33-39.
- Markley, M.C.** 1937. Variability in carotenoid pigment content of individual plants of *Triticum vulgare* and *Triticum durum*. *Cereal Chemistry* 14: 400–409.
- Martin, A. & E. Sanchez-Monge Laguna.** 1982. Cytology and morphology of the amphiploid *Hordeum chilense* x *Triticum turgidum* conv. *durum*. *Euphytica* 31:262–267.
- Martín, A., A. Cabrera, P. Hernández, M.C. Ramírez, D. Rubiales & J. Ballesteros.** 2000. Prospect for the use of *Hordeum chilense* in durum wheat breeding. En: Durum wheat improvement in the Mediterranean region: New challenges. Rojo, C., Nachit, M., DiFonzo N., & Arous, J. Eds. *Options Méditerranéennes*, Zaragoza. Vol. 40. ISBN: 2-85352-212-1.
- Massa, A.N., B. Beecher & C.F. Morris.** 2007. Polyphenol oxidase (PPO) in wheat and wild relatives: molecular evidence for a multigene family. *Theoretical and Applied Genetics* (doi: 10.1007/s00122-007-0514-4).
- Matsuo, R. R., J. W. Bradley & G. N. Irvine.** 1972. Effect of protein content on the cooking quality of spaghetti. *Cereal Chemistry* 49: 707-711.
- Matsuo, R.R. & J.E. Dexter.** 1980. Relationship between some durum wheat physical characteristics and semolina milling properties. *Canadian Journal of Plant Science* 60: 49–53.
- Matuz, J. & B. Beke.** 1996. Inheritance of quality traits in two durum wheat (*Triticum durum* Desf.) crosses. *Cereal Research Communication* 24: 203-210.
- Mccaig, T.N., J.G. Mcleod, J.M. Clarke & R.M. Depauw** 1992. Measurement of durum pigment with a near-infrared instrument operating in the visible range. *Cereal Chemistry* 69: 671-672.
- McCartney, C.A., D.J. Somers, O. Lukow, N. Ames, J. Noll, S. Cloutier, D.G. Humphreys & B.D. McCallum.** 2006. QTL analysis of quality traits in the spring wheat cross RL4452 x AC Domain. *Plant Breeding* 125: 565-575.
- Mcdonald, C.E.** 1979. Lipoyxygenase and lutein bleaching activity of durum wheat semolina. *Cereal Chemistry* 56: 84-89.
- Miller, N. J., J. Sampson, L.P. Candeias, P.M. Bramley & C.A. Rice-Evans** 1996. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Letters* 384: 240–242.
- Miskelly, D.M.** 1984. Flour components affecting paste and noodle colour. *Journal of Science Food Agriculture* 35: 463–471.
- Moss, H.J.** 1967. Yellow pigment content of some Australian flours. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.* 7: 463–464.
- Nachit, M.M., M. Baum, A. Lmpiglia & H. Ketata.** 1995. Studies on some grain quality traits in durum wheat in Mediterranean environments. Proceedings of Seminar on durum wheat quality grown in the Mediterranean regions, Zaragoza, Nov 1995. ICARDA/ CIHEAM/ CIMMYT. *Options Méditerranéennes Serie A*, 22: pp. 181-188.
- Nachit, M.M., I. Elouafi, M.A. Pagnotta, A. El Saleh, E. Iacono, M. Labhilli, A. Asbati, M. Azrak, H. Hazzam, D. Benscher, M. Khairallah, J-M. Ribaut, O.A. Tanzarella, E. Porceddu & M.E. Sorrells,** 2001. Molecular linkage map for an intraespecific recombinant inbred population of durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*). *Theoretical and Applied Genetic* 102: 177-186.
- Naik, P.S., A. Chanemougasoundharam, P.S.M. Khurana & G. Kalloo.** 2003. Genetic manipulation of carotenoid pathway in higher plants. *Current Science*. 85(10).
- Nesbitt, M. & D. Samuel.** 1996. From staple crop to extinction? The archaeology and history of the hulled wheats. Proceedings of the First International Workshop on Hulled Wheats. En: *Hulled Wheats*. Padulosi, S., Hammer, K. & Heller, J., Eds. *Castelvecchio Pascoli*, Tuscany, Italy, pp. 41–100.
- Olmedilla, B., F. Granada, I. Blanco, M. Vaquero & C. Cajigal.** 2001. Lutein in patients with cataracts and age-related macular degeneration: a long-term supplementation study. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81: 904–909.
- Olson, J.A. & S. Kobayashi.** 1992. Antioxidants in health and disease: overview. *Proc. Soc. Experimental Biol. Med.* 200: 245-247.
- Ong, A.S.H. & E.S. Tee.** 1992. Natural sources of carotenoids from plants and oils. *Meth. Enzymol.*, 213: 142-167.
- Panfilii, G., A. Fratianni & M. Irano.** 2004. Improved normal-phase high-performance liquid chromatography procedure for determination of carotenoids in cereals. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 52: 6373-6377.
- Parker, G.D. & P. Langridge.** 2000. Development of a STS marker linked to a major locus controlling flour colour in wheat. *Molecular Breeding* 6: 169–174.
- Parker, G.D., K.J. Chalmers, A.J. Rathjen & P. Langridge.** 1998. Mapping loci associated with flour colour in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetic* 97: 238–245.
- Pastore, D., D. Trono, L. Padalino, S. Simone, D. Valenti, N. Di Fonzo & S. Passarella.** 2000. Inhibition by α -tocopherol and L-ascorbate of linoleate hydroperoxidation and β -carotene bleaching activities in durum wheat semolina. *Journal of Cereal Science* 31: 41-54.
- Patil, R.M., M.D. Oak, S.A. Tamhankar, P. Sourdille & V.S. Rao,** 2008. Mapping and validation of a major QTL for yellow pigment content on 7AL in durum wheat (*Triticum turgidum* L. ssp. *durum*). *Molecular Breeding* DOI 10.1007/s11032-007-9147-1.
- Patnaik, D. & P. Khurana,** 2001. Wheat biotechnology: A minireview. Disponible en: <http://www.ejb.org/content/vol4/issue2/full/4/>. Último acceso: julio 2008. *Electronic Journal of Biotechnology* Vol 4, No2: 74-102
- Picca, A., P. Roncallo, A. Carrera, G. Cervigni & V.**

- Echenique.** 2008. Saturación de un mapa genético de trigo candeal y detección de QTL asociados a actividad de lipoxigenasas. *Phyton International Journal of Experimental Botany* 77: 175-188.
- Pozniak, C.J., R.E. Knox, F.R. Clarke & J.M. Clarke.** 2007. Identification of QTL & association of a phytoene synthase gene with endosperm colour in durum wheat. *Theoretical and Applied Genetic* 114: 525-537.
- Pshenichnikova, T.A., S.V. Osipova, M.D. Permyakova, T.N. Mitrofanova, V.A. Trufanov, U., Lohwasser, M. Röder & A. Börner.** 2008. Mapping of Quantitative Trait Loci (QTL) associated with activity of disulfide reductase and lipoxigenase in grain of bread wheat *Triticum aestivum* L. *Russian Journal of Genetics* 44(5): 567-574.
- Quaglia, G.B.** 1988. Other durum wheat products. En: *Durum wheat: Chemistry and technology*. Fabriani, G. & Lintas, C., Eds. American Association of Cereal Chemistry. St. Paul, MN. pp. 263-282.
- Rani, K.U., U.J.S. Prasada Rao, K. Leelavathi & P. Haridas Rao.** 2001. Distribution of enzymes in wheat flour mill streams. *Journal of Cereal Science* 34: 233-242.
- Roncallo P.F., G. Cervigni, A. Carrera, P. Akkiraju, P. Gómez, R. Miranda, M. Seghezzo, E. Molfese, L. Wehrhahne, C. Jensen, H. Bariffi, M. Helguera & V. Echenique.** 2008. QTLs Associated to Color in a RILs Mapping Population of Durum Wheat. *Proceedings of International Symposium "From Seed To Pasta: The Durum Wheat Chain. Multidisciplinary approaches for a more sustainable and high-quality durum production"*. June 30 - July 3, 2008. Bologna, Italy. Poster session P. 2.15.
- Ronen, G., L. Carmel-Goren, D. Zamir & J. Hirschberg.** 2000. An alternative pathway to β -carotene formation in plant chromoplast discovered by map-based cloning of Beta and old-gold color mutations in tomato. *Proceedings of the National Academy of Science*. 97(20), pp. 11102-11107.
- Rosati, C., R. Aquilani, S. Dharmapuri, P. Pallara, C. Marusic, R. Tavazza, F. Bouvier, B. Camara & G. Giuliano.** 2000. Metabolic engineering of β -carotene and lycopene content in tomato fruit. *The Plant Journal* 24(3): 413-419.
- Rousseau, E.J., A.J. Davison & B. Dunn.** 1992. Protection by β -carotene and related compounds against oxygen-mediated cytotoxicity and genotoxicity: implications for carcinogenesis and anticarcinogenesis. *Free Radical Biological Medicine* 13: 407-433.
- Santra, M., V.S. Rao & S.A. Tamhankar.** 2003. Modification of AACC procedure for measuring β -carotene in early generation durum wheat. *Cereal Chemistry* 80: 130-131.
- Santra, M., D.K. Santra, V.S. Rao, S.P. Taware & S.A. Tamhankar.** 2005. Inheritance of β -carotene concentration in durum wheat (*Triticum turgidum* L. ssp. *durum*). *Euphytica* 144: 215-221.
- Schmitt, N.F. & J.R. van Mechelen.** 1997. Expression of lipoxigenase isoenzymes in developing barley grains. *Plant Science* 128: 141-150.
- Seghezzo, M.L. & E. Molfese.** 1999. Trigo Candeal. Criterios para la evaluación de la calidad. *Publicación Miscelánea N° 2*. Seghezzo, M.L. y Molfese E. (eds). Chacra Experimental Integrada Barrow, INTA-Ministerio de Asuntos Agrarios de la Provincia de Buenos Aires.
- Serpen, A. & V. Gökmen** 2007. Effects of β -carotene on soybean lipoxigenase activity: kinetic studies. *European Food Research and Technology* 224(6): 743-748.
- Serpen, A. & V. Gökmen,** 2006. A proposed mechanism for the inhibition of Soybean lipoxigenase by β -carotene. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86: 401-406.
- Siedow, J.N.** 1991. Plant Lipoxigenase: structure and function. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 42: 145-188.
- Simeone, R., A. Pasqualone, M.L. Clodoveo & A. Blanco.** 2002. Genetic mapping of polyphenol oxidase in tetraploid wheat. *Cellular and Molecular Biology Letters* 7: 763-769.
- Sun, D.J., Z.H. He, X.C. Xia, L.P. Zhang, C.F. Morris, R. Appels, W.J. Ma & H. Wang.** 2005. A novel STS marker for polyphenol oxidase activity in bread wheat. *Molecular Breeding* 16: 209-218.
- Sun, Z., F.X. Jr. Cunningham. & E. Gantt.** 1998. Differential expression of two isopentenyl pyrophosphate isomerases & enhanced carotenoid accumulation in a unicellular chlorophyte. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 95, pp. 11482-11488.
- Taha, S.A. & F. Sagi.** 1986. Relationships between chemical composition of durum wheat semolina and quality. I. Total, soluble and insoluble protein. *Cereal Research Communications* 14: 259-266.
- Taha, S.A. & F. Sagi** 1987. Relationships between chemical composition of durum wheat semolina and macaroni quality. II. Ash, carotenoid pigments, and oxidative enzymes. *Cereal Research Communication* 15: 123-129.
- Terada, M., J. Minami & T. Yamamoto.** 1981. Rheological properties of dough made from flour exposed to gaseous ammonia. *Cereal Chemistry* 58: 101-105.
- Troccoli, A., G.M. Borrelli, P. De Vita, C. Fares & N. Di Fonzo.** 2000. Durum wheat quality: a multidisciplinary concept. *Journal of Cereal Science* 32: 99-113.
- Trono, D., D. Pastore & N. Di Fonzo.** 1999. Carotenoid dependent inhibition of durum wheat lipoxigenase. *Journal of Cereal Science* 29: 99-102.
- Udall, J.** 1997. Important alleles for noodle quality in winter wheat as identified by molecular markers. M.S. Thesis, University of Idaho, Moscow, ID.
- van Mechelen, J.R., R.C. Schuurink, M. Smits, A. Graner, A.C. Douma, N.J.A. Sedee, N.F. Schmitt & B.E. Valk** 1999. Molecular characterization of two lipoxigenases from barley. *Plant Molecular Biology* 39: 1283-1298.
- Van Poppel, G., S. Spanhaak & T. Ockhuizen.** 1993. Effect of β -carotene on immunological indexes in healthy male smokers. *American Journal of Clinical Nutrition* 57: 402-407.
- Walsh, D. E. & K. R. Gilles.** 1971. The influence of protein composition on spaghetti. *Cereal Chemistry* 48: 544-554.
- Watanabe, N., A.S.M.G. Masum Akond & M.M. Nacht.** 2006. Genetic mapping of the gene affecting polyphenol oxidase activity in tetraploid durum wheat. *Journal of Applied Genetic* 47(3): 201-205.

Whiteside, A.G.O., J. Edgar & C.H. Goulden. 1934. The influence of environment on the carotenoid content of hard red spring wheat. *Cereal Chemistry* 11: 615–624.

Worzella, W.W. 1942. Inheritance and interrelationship of components of quality, cold resistance, and morphological characters in wheat hybrids. *Journal of Agricultural Research* 65: 501–520.

Wu, Y., P.B. Schwarz, D.C. Doehlert, L.S. Dahleen & R.D. Horsley. 1997. Rapid separation and genotypic variability of barley (*Hordeum vulgare* L.) lipoxygenase isoenzymes. *Journal of Cereal Science* 25: 49-56.

Ye, X., S. Al-Babili, A. Klott, J. Zhang, P. Lucca, P. Beyer & I. Potrykus. 2000. Engineering the provitamin A (β -carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. *Science* 287: 303–305.

Zhang, W. & J. Dubcovsky. 2008. Association between allelic variation at the Phytoene synthase 1

gene and yellow pigment content in the wheat grain. *Theoretical and Applied Genetic* DOI 10.1007/s00122-007-0697-8.

Zhang, W., A.J. Lukaszewski, J. Kolmer, M.A. Soria, S. Goyal & J. Dubcovsky. 2005. Molecular characterization of durum and common wheat recombinant lines carrying leaf rust resistance (*Lr19*) and yellow pigment (Y) genes from *Lophopyrum ponticum*. *Theoretical and Applied Genetic* 111: 573–582.

Zhang, Y., Y. Wu, Y. Xiao, Z. He, Y. Zhang, J. Yan, Y. Zhang, X. Xia & C. Ma. 2008. QTL mapping for flour and noodle colour components and yellow pigment content in common wheat. *Euphytica* DOI 10.1007/s10681-008-9744-z

Zile, M.H. 1998. Vitamin A and embryonic development: an overview. *The Journal of Nutrition* 128: 455–458.