

pat

Identificação das Subunidades de Gliadina e Gluteninas de Alto e Baixo Peso Molecular em Genótipos de Trigo

Mariana Souza Costa¹, Luiz Alberto Cogrossi Campos², Lígia Tiemi Otani³, Deoclécio Domingos Garbuglio⁴ e Juarez Campolina Machado⁵

Resumo

As gluteninas e gliadinas são fatores importantes para a qualidade de panificação do trigo e a relação de proporção entre essas proteínas determina as diferentes características do glúten dos diversos tipos de trigo. O objetivo do presente trabalho foi identificar as subunidades de gliadina e gluteninas de alto e baixo peso molecular em genótipos de trigo. Foram analisados 70 genótipos de trigo participantes do bloco de cruzamento de 2010 do IAPAR. A análise de eletroforese na presença do dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) foi realizada no Laboratório de Qualidade de Trigo do Centro Internacional de Melhoramento de Milho e Trigo (CIMMYT). Na análise das subunidades de gluteninas de alto peso molecular, foram identificados nove alelos diferentes, três que correspondem ao *locus Glu-1A*, quatro ao *Glu-1B*, e dois ao *Glu-1D*. Verificou-se que 44,3% dos genótipos apresentam translocação de centeio, sendo 22,9% do tipo 1A/1R e 21,4% do tipo 1B/1R. Nas subunidades do *locus Glu-A3* foram identificados seis alelos diferentes, no *locus Glu-B3* seis diferentes alelos e no *locus Glu-D3* três alelos. Comparando as subunidades do *Glu-B3* com a classificação comercial do trigo, verificou-se que entre os genótipos classificados como Melhoradores e Pão, houve a predominância do alelo *b*, que indica alta força de glúten e tenacidade. Nos trigos classificados para uso doméstico, observou-se predominância do alelo *f*, que indica menor força de glúten e menor extensibilidade. Constatou-se que o escore do *Glu-B3* correlacionou-se significativamente com a força de glúten (W), destacando a importância da identificação e influência das gliadinas na força do glúten do trigo.

Introdução

O melhoramento genético de trigo visa melhorar a qualidade do banco de germoplasma para que seja possível desenvolver trigos com força de glúten e extensibilidade adequadas para a produção de produtos panificáveis. Como evidenciado por Mandarinó (1993), os teores de gluteninas e gliadinas são fatores importantes para a qualidade de panificação do trigo e a relação de proporção entre essas proteínas determina as diferentes características do glúten dos diversos tipos de trigo. As proteínas de reserva do trigo são classificadas em gluteninas de alto e baixo peso molecular, responsáveis pela elasticidade; e as gliadinas, de peso similar as gluteninas de baixo peso molecular, que são responsáveis pelas características de extensibilidade da massa (Embrapa, 2000).

Um elevado conteúdo de proteínas não é, por si só, indicativo de boa qualidade, visto que a qualidade de panificação além de ser resultante do somatório de vários fatores, depende da composição e da interação das principais proteínas de glúten (gluteninas e gliadinas). Assim, para uma qualidade ser representativa, deve haver combinação ideal entre quantidade e qualidade de proteínas presentes no trigo.

As subunidades de proteínas podem ser analisadas por meio de eletroforese, na qual separações por SDS-PAGE são determinadas pelo peso molecular. O dodecil sulfato sódio (SDS) é um detergente aniônico que envolve as cadeias polipeptídicas, desnaturando-as e conferindo carga negativa proporcional ao seu comprimento. Sob condições eletroforéticas, espécies iônicas correm através da matriz gélica, com as moléculas maiores sendo mais demoradas que as moléculas menores. O resultado desta ação é a separação das proteínas e assim seus pesos moleculares aparentes podem ser determinados por comparação com padrões de proteínas de conhecido peso molecular (Shewry; Lookhart, 2003).

Os padrões eletroforéticos de alto peso molecular permitem prever a qualidade de panificação de um genótipo de trigo. Desse modo, é amplamente aceito que a qualidade industrial de trigo é determinada,

1 Mestranda em Engenharia e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Estadual Paulista (Unesp), Rua Cristóvão Colombo, 2204. E-mail: marianasouza.costa@yahoo.com.br

2 Pesquisador voluntário do IAPAR, Instituto Agronômico do Paraná, CP: 481, Londrina, PR, CEP 86001-970. E-mail: cogrossi@iapar.br

3 Estagiária PIBIC, Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Rua Araraquara, 215 CEP 86062570. E-mail: lgiotani@hotmail.com

4 Pesquisador do IAPAR, Instituto Agronômico do Paraná, CP: 481, Londrina, PR, CEP 86001-970. E-mail: ddearbuglio@iapar.br

5 Pesquisador da EMBRAPA Gado de Leite, Rua Eugênio do Nascimento, 610 - Dom Bosco, Juiz de Fora - MG, CEP 36038-330. E-mail: juarez@cnpgl.embrapa.br

SP5399
P.170

principalmente, pelos alelos dos locos que codificam as proteínas do glúten do grão, revestindo-se de grande importância prática a identificação desses alelos (Brammer, 2000). Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi identificar as subunidades de gliadina e gluteninas de alto e baixo peso molecular em 70 genótipos de trigo e verificar a existência da correlação dos escores, obtidos das subunidades, com a força de glúten (W).

Material e Métodos

Foram analisados 70 genótipos de trigo participantes do bloco de cruzamento de 2010 do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR). Para a obtenção da farinha, foram macerados três grãos de cada genótipo. As proteínas de reserva do trigo (glutenina e gliadina) foram extraídas e aplicadas em géis de eletroforese na presença do dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), segundo o método descrito por Peña, 2002. As análises foram realizadas no Laboratório de Qualidade de Trigo do Centro Internacional de Melhoramento de Milho e Trigo (CIMMYT).

Os escores do Índice de Glutenina (IG) foram estabelecidos através da soma dos valores atribuídos as diferentes composições de HMW-GS de cada *locus* (*Glu-1A*, *Glu-1B* e *Glu-1D*) presente no trigo hexaplóide conforme classificação estabelecida por Payne (1981), com ajustes no escore no caso da amostra apresentar translocação de centeio (Zanatta et al., 2002). Os escores das subunidades de gliadinas foram estabelecidos de acordo com estudo realizado por Branlard (2001).

A partir do escore obtido para cada genoma determinou-se o índice de glutenina geral (IG) e os escores obtido nas subunidades de gliadinas foram determinados os percentuais de frequência. Por fim, obtiveram-se as correlações entre as variáveis estudadas.

Resultados e Discussão

No presente trabalho foram identificados nove alelos diferentes, três que correspondem ao *locus Glu-1A*, quatro ao *Glu-1B*, e dois ao *Glu-1D*. Nos resultados obtidos, observou-se a prevalência das subunidades 1 e 2* no cromossomo 1A, estando presente em 27,1% e 68,6% respectivamente das cultivares e somando juntas 95,7% em relação às cultivares sem amplificação de subunidade (N). As subunidades 1 e 2* são descritas como importantes fontes de qualidade, enquanto o alelo Nulo é classificado de baixo valor qualitativo (Huang; Jin; Liu, 2008).

No cromossomo 1B, verificou-se maior variabilidade entre os resultados, apresentando em ordem decrescente de número de aparições: 7+9 (40,0%), 7+8 (34,3%), 17+18 (20,0%) e 13+16 (5,7%), o que aponta uma prevalência da subunidade 7+9, embora ela não pertença ao grupo com maior escore. A distribuição das subunidades de *Glu-B1* pode indicar que apesar do sistema de escore determinar diferenças entre as subunidades encontradas, elas não possuem impacto tão expressivo na qualidade quanto os outros genomas e, por isso, não tem sido alvo de seleção de cultivares.

Para o cromossomo 1D, comprovou-se a alta prevalência do par de subunidades 5+10 em relação a 2+12, com percentuais de 75,7% e 24,3%, respectivamente. As subunidades 5+10 são citadas como responsáveis pela alta qualidade de panificação.

Segundo Peña, Gonzalez-Santoyo e Cervantes (2004), para minimizar o desenvolvimento de trigos com glúten fraco em novos cruzamentos, deve-se reduzir a frequência do alelo nulo no *locus Glu-A1*, das subunidades 7, 6+8, 20, 20+20 e 13+19 no *Glu-B1* e das combinações 3+12 e 4+12 no *Glu-D1*, pois essas subunidades estão associadas a um glúten com propriedades inferiores.

Comparando as subunidades de gluteninas de alto peso molecular com a classificação comercial do trigo, observou-se que na classe melhorador houve a predominância no genoma A da subunidade 2* (65,4%), no genoma B teve a alta prevalência do par de subunidades 17+18 com 30,8%, e no genoma D a subunidade 5+10 (80,8%). Já nos trigos classificados como pão, no genoma A também houve a prevalência da subunidade 2* (67,9%), no genoma B os pares de subunidades 7+9 (42,9%) e 7+8 (42,9%) prevaleceram e no genoma D o par de subunidades 5+10 (71,4%).

Considerando os genótipos analisados, observou-se que 44,3% apresentaram translocação de centeio, sendo 22,9% do tipo 1A/1R e 21,4% do tipo 1B/1R. A presença da translocação constitui fator positivo no que se refere à resistência à pragas, porém negativo em relação à qualidade tecnológica de panificação principalmente por aumentar a viscosidade da massa (Zanatta et al, 2002).

Os escores estão sendo utilizados como método de seleção de cultivares de trigo dentro dos programas de melhoramento. Sendo que, o escore 10 associado à maior qualidade industrial foi obtido em 37,1% das amostras e o escore 3 que está associado à baixa qualidade, foi obtido em 1,4% das amostras, ocorrendo uma maior prevalência de trigos com característica de melhor qualidade industrial.

Nas subunidades do *locus Glu-A3* foram identificados seis alelos diferentes, no *locus Glu-B3* seis diferentes alelos e no *locus Glu-D3* três alelos. Pode-se observar que no *locus Glu-A3* houve a presença das seguintes subunidades: *c* (61,43%), *f* (12,86%), *d* (10,0%), *e* (7,14%), *b* (5,71%), e *g* (2,86%). De acordo com Branlard et al (2001), os alelos *d* e *f* possuem maior força de glúten e extensibilidade em relação ao alelo *e*.

No *locus Glu-B3*, houve a presença das subunidades *b* (32,86%), *f* (14,29%), *h* (12,86%), *g* (10,0%), *i* (4,29%) e (1,43%). Entre estes alelos, o *b* se classifica como tendo uma boa força de glúten, seguido dos alelos *g*, *i* e *f*, por ordem decrescente de força. Já com relação à extensibilidade, o alelo *i*, seguido de *b*, *g* e *f* apresentam farinhas com características mais extensivas, observando que o alelo *i* apresenta uma menor força de glúten, porém uma maior extensibilidade.

Já no *locus Glu-D3*, houve a prevalência do alelo *b* (64,29%), sendo que este é superior aos outros alelos com relação a força de glúten. O alelo *a* esteve presente em 25,71% do material, estando correlacionado com uma força de glúten superior aos demais e o alelo *c*, presente em 10,0% dos genótipos, apresenta uma menor relação com força de glúten.

Comparando as subunidades do *Glu-B3* com a classificação comercial do trigo, verificou-se que entre os genótipos classificados como Melhoradores, houve a predominância do alelo *b* em 48,0% das amostras. Esse alelo indica alta força de glúten segundo Branlard et al (2001), além de alta tenacidade.

Entre os trigos classificados como Pão, observou-se também a presença do alelo *b* na maior parte dos genótipos (28,6%), verificando assim a relação com alta força de glúten destas amostras. Nos trigos classificados para uso doméstico, observou-se predominância do alelo *f*, que segundo estudos realizados, indica menor força de glúten e menor extensibilidade.

Na análise de correlação entre as variáveis estudadas (Figura 1), constatou-se que o índice de glutenina obteve correlação significativa com o escore dos *loci Glu-A1*, *Glu-B1* e *Glu-D1*, sendo explicado pelo fato do índice de glutenina ser dependente do escore individual de cada locus.

Tabela 1 – Correlação entre as variáveis estudadas.

	<i>GLU-A1</i>	<i>GLU-B1</i>	<i>GLU-D1</i>	IG	<i>GLU-A3</i>	<i>GLU-B3</i>	<i>GLU-D3</i>	W
<i>GLU-A1</i>	1							
<i>GLU-B1</i>	-0,03	1						
<i>GLU-D1</i>	0,21	0,08	1					
IG	0.39**	0.47**	0.47**	1				
<i>GLU-A3</i>	0,17	-0,06	0,08	-0,001	1			
<i>GLU-B3</i>	0,23	-0,15	-0,06	-0,11	0,07	1		
<i>GLU-D3</i>	0,12	-0,05	-0,05	-0,19	-0,14	-0,01	1	
W	0,02	-0,26*	0,15	-0,16	0,08	0.32**	0,16	1

**,* : Significativo a 1 e 5% de probabilidade, pelo teste t.

Verificou-se que o escore do *Glu-B3* correlacionou-se positivamente ($r= 0.32^{**}$) com a força de glúten (W), destacando a importância da identificação e influência das gliadinas (que são correspondentes do *Glu-B3*) na força do glúten do trigo. Oury et al. (2009) destacou a importância da identificação das subunidades presentes no *Glu-B3*, pois estes respondem a mesma relação existente nas subunidades de gluteninas de baixo peso molecular (*GluA3* e *Glu-D3*) com a qualidade tecnológica do trigo, principalmente com a força do glúten.

Referências

Brammer, S. P.(2000) **Marcadores Moleculares: Princípios Básicos e uso em programas de melhoramento genético vegetal**. Passo Fundo: Embrapa Trigo.

Branlard, et al. (2001) Genetic diversity of wheat storage proteins and bread wheat quality. **Euphytica**. v.119, p.59–67.

EMBRAPA. **Marcadores protéicos - gliadinas e gluteninas de alto e baixo peso molécula**. Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_do03_3.htm> Acesso em: 22/05/2010.

Huang B, Jin L, Liu J (2008) Identification and characterization of the novel gene GhDBP2 encoding a DRE-binding protein from cotton (*Gossypium hirsutum*). *Journal of Plant Physiology*. v. 165, p.214-223.

Mandarino, J. M. G. (1993) **Aspectos importantes para a qualidade do trigo**. Londrina: EMBRAPA – CNPSo, p.8 – 23.

Oury, F. et al. (2009) The prediction of bread wheat quality: joint use of the phenotypic information brought by technological tests and the genetic information brought by HMW and LMW glutenin subunits. *Euphytica.*, 1:87-109.

Peña, R.J.; Gonzalez-Santoyo, H.; Cervantes, F. (2004) Relationship between Glu-D1/Glu-B3 allelic combinations and bread-making quality-related parameters commonly used in wheat breeding. In **The gluten proteins**. Edited by D. Lafandra, S. Masci, and R. D'Ovidio. Royal Society of Chemistry, Cambridge, U.K. p. 156–157.

Payne PI et al (1981) Correlations between the inheritance of certain high-molecular-weight subunits of glutenin and bread-making quality in progenies of six crosses of bread wheat. *J. Sci. Food Agric.*, 32: 51-60.

Shewry, P. R.; Lookhart, G. L. (2003). **Wheat Gluten Protein Analysis**. AACCC International: St. Paul, MN.

Zanatta et al. **Uso de marcadores proteicos na seleção de trigo (*Triticum aestivum* L. *Em. Thell.*) com qualidade tecnológica superior na EMBRAPA trigo**. Rio Grande do Sul, 2002. Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_co85.htm> Acesso em: 15/09/10.