

patv

AA

## Identificação de Proteínas de Armazenamento em Progenitores de Trigo

Luiz Alberto Cogrossi Campos<sup>1</sup>, Mariana Souza Costa<sup>2</sup>, Ligia Tiemi Otani<sup>3</sup>, Carlos Roberto Riede<sup>4</sup>, Juarez Campolina Machado<sup>5</sup>

### Resumo

Vários trabalhos têm demonstrado que a composição específica do endosperma está controlada geneticamente, resultando assim, o grande interesse de identificar os polímeros que contêm boa qualidade da farinha para a panificação, com o objetivo de combiná-los em novos cultivares comerciais. A qualidade de panificação da farinha do trigo (*Triticum aestivum* L.) é um caráter complexo e dependente de fatores genéticos, efeitos ambientais e de manejo agrônomico. As proteínas são os componentes mais importantes do grão de trigo na definição da qualidade de panificação e as gluteninas e gliadinas, são as responsáveis pela formação do glúten, conferindo a viscoelasticidade da massa. Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi identificar as proteínas de armazenamento em progenitores do Bloco de Cruzamento de trigo do IAPAR no intuito de melhorar a qualidade de panificação e comercial de novos cultivares. Na análise dos 17 progenitores de trigo, foram identificados onze alelos diferentes, com a predominância das subunidades 2\* (52,9%), 7+9 (35,3%) e 5+10 (64,7%) nos loci *Glu-1A*, *Glu-1B* e *Glu-1D* respectivamente. Na análise do gel de gliadina, constatou-se que a translocação de centeio (1A/1R) estava presente em 23,5% das amostras, e a translocação (1B/1R) em 5,9% das cultivares. Considerando o conjunto total de amostras, pode-se observar que houve predominância de índices altos, que representam alta força de glúten associadas à qualidade para panificação.

### Introdução

O melhoramento da qualidade representa uma oportunidade de agregar valor de mercado aos produtos agrícolas. No caso do trigo, em face do comércio internacional, existe uma forte interação entre qualidade e preço (Wrigley, 1994).

A fabricação de pães em escala comercial é uma das maiores utilizações da farinha de trigo. Portanto, as cultivares desenvolvidas deve ter o potencial de produzir uma farinha que confira ao produto final as características de crescimento, textura, sabor e coloração desejadas e, ainda, que apresente adequação ao processo mecânico de preparo.

Entre os caracteres que influem marcadamente na qualidade de panificação, encontram-se o teor de proteína e a variação tanto qualitativa, em termos da composição de subunidades, como quantitativa, em relação às diferentes frações protéicas que compõem o glúten, especialmente as gluteninas (Moonen et al., 1982; Brunori et al., 1989).

As subunidades de alto peso molecular (HMW-GS) estão associadas à alta qualidade de panificação em função de serem principais determinantes da elasticidade da massa. Payne et al (1981), analisando progenitores de cruzamentos de variedades de trigo comum, relacionou a composição de HMW-GS com volume de sedimentação de SDS da farinha. Ele mostrou que os alelos responsáveis pela produção das subunidades de HMW apresentam efeito diferencial na qualidade do glúten. Como exemplo dessa variação de alelos, observou-se que o locus *Glu-D1* que pode produzir alternativamente os pares de subunidades 5+10 (associados à boa qualidade panificação) e as subunidades 2+12 (associada com qualidade panificação inferior). Tal resultado tem sido confirmado por meio de diversos trabalhos, como o realizado por Branlard e Dardevet (1985), onde foi

<sup>1</sup> Pesquisador voluntário do IAPAR, Instituto Agrônomico do Paraná, CP: 481, Londrina, PR, CEP 86001-970. E-mail: [cogrossi@iapar.br](mailto:cogrossi@iapar.br)

<sup>2</sup> Mestranda em Engenharia e Tecnologia em Alimentos (Unesp), Avenida Paraná, 132-A, Londrina, PR, 86020-360. E-mail: [marianasouza.costa@yahoo.com.br](mailto:marianasouza.costa@yahoo.com.br)

<sup>3</sup> Estagiária Pibic, Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Rua Araraquara, 215, Londrina, PR, 86062570. E-mail: [ligiaotani@hotmail.com](mailto:ligiaotani@hotmail.com)

<sup>4</sup> Pesquisador voluntário do IAPAR, Instituto Agrônomico do Paraná, Londrina, PR, CEP 86001-970. E-mail: [crriede@iapar.br](mailto:crriede@iapar.br)

<sup>5</sup> Pesquisador da EMBRAPA Gado de Leite, Rua Eugênio do Nascimento, 610 - Dom Bosco, Juiz de Fora - MG, CEP 36038-330. E-mail: [juarez@cnppl.embrapa.br](mailto:juarez@cnppl.embrapa.br)

SP 5400  
P 170

demonstrado que parâmetros de alveografia W (força de glúten) e P (tenacidade) e valor de sedimentação de Zeleny foram correlacionados positivamente com as subunidades 7+9 e 5+10, e negativamente com as bandas 2+12. Ainda, neste mesmo trabalho a subunidade 1 foi correlacionada com o W e a subunidade 2\* e 17+18 com extensibilidade (L).

De forma a determinar relações entre estrutura e funcionalidade, é necessário utilizar técnicas para avaliar tanto a estrutura das proteínas de trigo quanto às propriedades funcionais. Separações por SDS-PAGE são determinadas pelo peso molecular, onde o gel de poliacrilamida é uma matriz porosa que pode ser utilizada para separar proteínas com base na carga ou tamanho (Muratt et al, 2009).

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, principalmente, pela fração das 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 proteínas de armazenamento em progenitores do Bloco de Cruzamento de trigo do IAPAR no intuito de melhorar a qualidade de panificação e comercial de novos cultivares.

## Material e Métodos

A avaliação das subunidades protéicas foi realizada utilizando eletroforese em gel de poliacrilamida na presença de dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE). Para a obtenção da farinha foram macerados três grãos de cada genótipo. As proteínas de reserva do trigo foram extraídas segundo o método descrito por Peña (2002). O tempo de corrida do gel foi de 19 horas a uma intensidade de 12,5 mA por gel, sob refrigeração a 15°C. As análises foram realizadas em 17 progenitores de trigo no Centro Internacional de Melhoramento de Milho e Trigo (CIMMYT) em El Batán, no México.

A leitura das bandas representativas das gluteninas de alto peso molecular expressas no gel foi realizada pela comparação com as bandas das cultivares padrão previamente determinadas para os alelos conhecidos. Os escores do Índice de Glutenina (IG) foram estabelecidos através da soma dos valores atribuídos as diferentes composições de subunidades de glutenina de alto peso molecular de cada *locus* (*Glu-1A*, *Glu-1B* e *Glu-1D*) presente no trigo hexaplóide.

## Resultados e Discussão

A técnica SDS-PAGE, baseada na eletroforese em gel de poliacrilamida na presença do dodecil sulfato de sódio, permite que variantes alélicas do *locus Glu-1* sejam facilmente detectadas. Em um programa de melhoramento visando à qualidade tecnológica de trigo, tal ferramenta é utilizada para seleção dos alelos de gluteninas de alto peso molecular mais favoráveis (Embrapa Trigo, 2000).

Na análise das gluteninas de alto peso molecular (Figura 1), foram identificados onze alelos diferentes, sendo três correspondentes ao *locus Glu-1A*, cinco ao *Glu-1B*, e três ao *Glu-1D*. Destes, as subunidades predominantes nos genótipos analisados foram 2\* no *locus Glu-1A*, 7+9 e 17+18 no *locus Glu-1B* e 5+10 no *locus Glu-1D*.

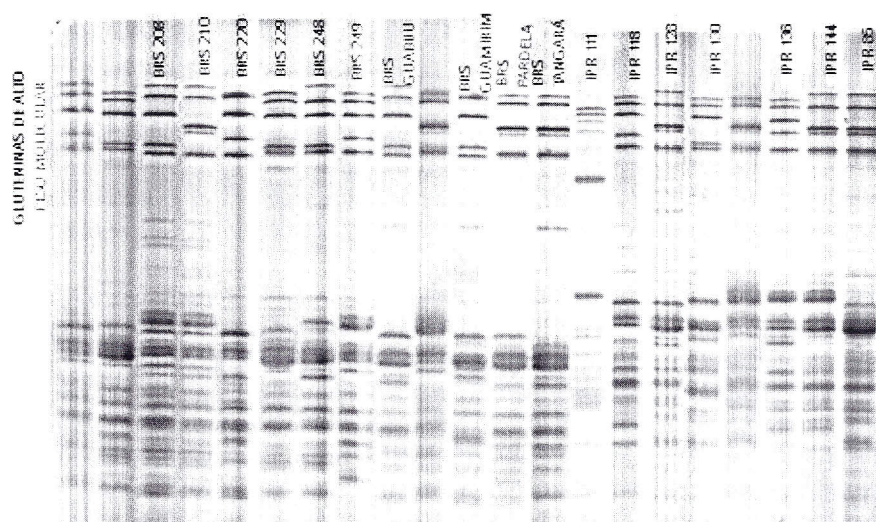


Figura 1 – Perfil eletroforético das subunidades de gluteninas de alto peso molecular de 17 genótipos de trigo.

Nos resultados obtidos (Tabela 1), verificou-se que no cromossoma 1A, houve prevalência das subunidades 1 e 2\*, somando juntas 94,1% das amostras. 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 1D, observou-se prevalência do par de subunidades 5+10 em relação a 2+12, com percentuais de 64,7% e 29,4%, respectivamente. O *locus Glu-1D* pode produzir os pares de subunidade 5+10, associadas à alta qualidade de panificação e o par de subunidades 2+12, associado à qualidade de panificação inferior. Estes resultados foram corroborados por Eagles et. al. (2002) e Branlard e Dardevet (1985), os quais demonstraram que a força do glúten está correlacionada positivamente com as subunidades 7+9 e 5+10, e negativamente com as bandas 2+12.

Composição de subunidades de glutenina de alto peso molecular, presença de translocação de centeio, índice de glutenina e força de glúten (W) dos genótipos de trigo.

| Genótipos          | Locus         |               |               | Translocação de Centeio | Índice de Glutenina | W   |
|--------------------|---------------|---------------|---------------|-------------------------|---------------------|-----|
|                    | <i>Glu-A1</i> | <i>Glu-B1</i> | <i>Glu-D1</i> |                         |                     |     |
| BRS 208            | 1             | 7+9           | 2+12          | -                       | 7                   | 287 |
| BRS 210            | 1             | 17+18         | 2+12          | -                       | 8                   | 303 |
| BRS 220            | 2*            | 7+8           | 2+12          | 1A/1R                   | 8                   | 262 |
| BRS 229            | 2*            | 7+9           | 5+10          | -                       | 9                   | 237 |
| BRS 248            | 1             | 7+9           | 5+10          | -                       | 9                   | 221 |
| BRS 249            | 2*            | 7+8           | 5+10          | 1A/1R                   | 10                  | 259 |
| BRS GUABIJU        | 1             | 7+9           | 2+12          | -                       | 7                   | 309 |
| BRS GUAMIRIM       | 2*            | 7+9           | 2+12          | -                       | 7                   | 309 |
| BRS PARDELA        | 2*            | 17+18         | 5+10          | 1A/1R                   | 10                  | 343 |
| BRS TANGARA        | 2*            | 17+18         | 5+10          | 1A/1R                   | 10                  | 312 |
| IPR 111 -TRITICALE | N             | 6+8/7+8       | T2            | -                       | 4                   | -   |
| IPR 118            | 2*            | 7+8           | 5+10          | 1B/1R                   | 7                   | 318 |
| IPR 128            | 1             | 17+18         | 5+10          | -                       | 10                  | 282 |
| IPR 130            | 2*            | 7+9           | 5+10          | -                       | 9                   | 303 |
| IPR 136            | 2*            | 13+16         | 5+10          | -                       | 10                  | 360 |
| IPR 144            | 1             | 17+18         | 5+10          | -                       | 10                  | 279 |
| IPR 85             | 1             | 17+18         | 5+10          | -                       | 10                  | 374 |

De acordo com a Instrução Normativa nº38, de 30 de novembro de 2010, entre os progenitores analisados neste trabalho, 52,9% são classificados como Trigo Melhorador ( $W < 300$ ) e 41,2% como Trigo Pão ( $W > 220$ ).

Comparando-se a combinação de subunidades de gluteninas de alto peso molecular das cultivares com a classificação comercial do trigo, verificou-se que entre os Trigos Melhoradores ( $W > 300$ ): no genoma A, a subunidade 1 está presente em 33,3% e a subunidade 2\* em 66,7% dos genótipos; no genoma B as combinações predominantes foram 17+18 (44,4%), seguido do par de subunidades 7+9 (33,3%) e 7+8 (11,1%) e 13+16 (11,1%); e no genoma D a combinação 5+10 foi a predominante em 66,7% das cultivares, além da presença da combinação 2+12 em 33,3% das amostras.

Entre as cultivares classificadas como Trigo Pão ( $W > 220$ ), no genoma A, a subunidade 1 foi a predominante em 57,1% das amostras, e a subunidade 2\* em 42,9% dos genótipos. No genoma B a combinação 7+9 foi predominante em 42,9% das amostras, seguido de 7+8 (28,6%) e 17+18 (28,6%). Por fim, no genoma D a combinação 5+10 obteve maior percentual de aparição (71,4%), seguido da subunidade 2+12 em 28,6% dos genótipos.

A cultivar IPR 111 apresentou bandas com escore fraco (N/6+8/7+8/T2). Esse resultado era esperado por se tratar de um triticales, que é proveniente de um cruzamento entre trigo e centeio, o que afeta negativamente a qualidade do grão.

Na análise do gel de gliadina (Figura2), constatou-se que a translocação de centeio (1A/1R) estava presente em 23,5% das amostras, e a translocação (1B/1R) em 5,9% das cultivares. A presença da translocação 1B/1R constitui fator positivo no que se refere à resistência a doenças e a insetos, porém negativo em relação à qualidade de panificação, principalmente por aumentar a viscosidade da massa (Zheng et al, 2009).

Considerando o conjunto total de amostras, o índice 10 foi predominante em 41,2% das amostras, o índice 9 esteve presente em 17,6% das amostras, 11,8% das amostras apresentou o índice 8, 17,6% das amostras apresentou índice 7 e apenas 5,9% apresentou índice 4. Aparentemente o escore acumulado, com base na presença de alelos determinados pelo método SDS-PAGE está sendo alvo de seleção nos programas de melhoramento de cultivares de trigo, observando nesse a predominância de índices altos, que representam alta força de glúten associadas à qualidade para panificação.

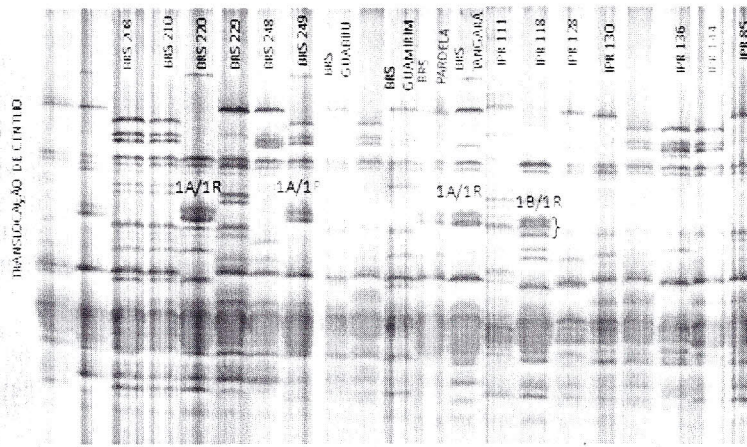


Figura 2- Translocção de centeio (1A/1R e 1B/1R) em 17 progenitores de trigo.

### Agradecimentos

À Fundação Meridional de Apoio à Pesquisa Agropecuária; e ao CIMMYT.

### Referências

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

Branlard G and Dardevet M (1985) Diversity of grain proteins and bread wheat quality. I. Correlation between gliadin bands and flour quality characteristics. **J. Cereal Sci.**, v.3, p.329-343.

Brunori A et al (1989) Bread-making quality indices in *Triticum aestivum* progenies: implications in breeding for better bread wheat. **Plant Breeding**. Berlin, v.102, p.222-231.

Eagles HA et al (2002) Estimation and utilization of glutenin gene effects from the analysis of unbalanced data from wheat breeding programs. **Aust J Agric Res**. v.53, p. 367-377.

EMBRAPA (2001). **Marcadores protéicos - gliadinas e gluteninas de alto e baixo peso molécula**. Disponível em: <[http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p\\_do03\\_3.htm](http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_do03_3.htm)> Acesso em: 22/05/2011.

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.

Moonen JHE, Scheepstra A, Graveland A (1982) Use of the SDS - sedimentation test and SDS - polyacrylamide gel electrophoresis for screening breeder's samples of wheat for bread-making quality. **Euphytica**, Dordrecht, v.31, n.2, p.677-690.

Muratt et al.(2009) **Otimização de protocolos de extração de proteínas para eletroforese bidimensional.**

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.

Peña, R J (2002) Wheat for bread and other foods. In: Curtis, B. C.; Rajaram, S. and Macpherson G. H. (eds.). Bread wheat improvement and production. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Rome. p. 483-542.

Wrigley, CW (1994) Developing better strategies to improve grain quality for wheat. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v.45, p.1-17.

Zheng, S et al (2009) Association analysis reveals effects of wheat glutenin alleles and rye translocations on dough mixing properties. **J Cereal Sci** v. 50, p. 283-290.