



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

---

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y  
PRODUCTIVIDAD**

**GENÉTICA**

**FACTORES GENÉTICOS Y BIOQUÍMICOS QUE AFECTAN  
LA FUERZA Y EXTENSIBILIDAD DEL GLUTEN DEL  
TRIGO**

**NAYELLI HERNÁNDEZ ESPINOSA**

**T E S I S**  
**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE**

**MAESTRA EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO**

**2011**

---

La presente tesis titulada: **FACTORES GENÉTICOS Y BIOQUÍMICOS QUE AFECTAN LA FUERZA Y EXTENSIBILIDAD DEL GLUTEN DEL TRIGO** realizada por la alumna: **NAYELLI HERNÁNDEZ ESPINOSA**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS  
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD  
GENÉTICA  
CONSEJO PARTICULAR**

CONSEJERO:



---

**DR. AMALIO SANTACRUZ VARELA**

DIRECTOR DE TESIS:



---

**DR. ROBERTO JAVIER PEÑA BAUTISTA**

ASESOR:



---

**DR. IGNACIO BENITEZ RIQUELME**

Montecillo, Texcoco, Estado de México, abril de 2011.

# FACTORES GENÉTICOS Y BIOQUÍMICOS QUE AFECTAN LA FUERZA Y EXTENSIBILIDAD DEL GLUTEN DEL TRIGO

Nayelli Hernández Espinosa, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2011

Con el objetivo de examinar la influencia de la composición de sub-unidades de glutenina de alto (G-APM) y bajo (G-BPM) peso molecular y la distribución de sus principales fracciones, la monomérica (rica en gliadina, PM), la polimérica soluble (rica en glutenina soluble, PPS) y la polimérica insoluble (rica en glutenina insoluble, PPI) sobre parámetros de calidad (mixógrafo, alveógrafo y mixolab), se evaluaron líneas recombinantes resultantes de cruzamientos entre la variedad Avocet como progenitor materno común y seis líneas experimentales contrastantes en calidad. En el locus *Glu-A1* la presencia de la subunidad 1 se relacionó con mayor fuerza de gluten y en el locus *Glu-D1* la sub-unidad 5+10 indujo mayor fuerza y extensibilidad. Las combinaciones 1 7+8 5+10, 1 17+18 5+10 y 2\* 17+18 5+10 mostraron mayor influencia positiva sobre parámetros de fuerza y extensibilidad de masa que el resto de combinaciones encontradas. El análisis de regresión demostró valores de predicción mayores a 30 % para los parámetros FLRPRO, MIXTD, %Tq/min y W con base en las fracciones proteicas. La fracción PM mostró correlaciones significativas con parámetros de extensibilidad de la masa (SDS-S y P/L), mientras que PPI correlacionó con parámetros de fuerza de gluten (MIXTD, %T y W). La determinación de la distribución de fracciones proteicas de G-APM y G-BPM, aunada a pruebas predictivas rápidas (FLRPRO y SDS-S) constituyen una importante herramienta para asistir la selección por calidad en el fitomejoramiento del trigo

**Palabras Clave:** Trigo harinero, propiedades visco-elásticas, proteínas monoméricas, proteína polimérica insoluble

# GENETIC AND BIOCHEMICAL FACTORS AFFECTING GLUTEN STRENGTH AND EXTENSIBILITY OF THE WHEAT AFFECT

Nayelli Hernández Espinosa, M.S.

Colegio de Postgraduados, 2011

In order to examine the influence of the subunit composition of high (HMW) and low (LMW) molecular weight glutenins, and distribution of the main protein fractions, monomeric (gliadin-rich, MP), soluble polymeric (soluble glutenin-rich, SPP) and insoluble polymeric (insoluble glutenin-rich, IPP) over end-use quality parameters (as determined through mixograph, alveograph and mixolab equipment), a set of recombinant lines derived from crosses between Avocet variety as common female parent and six lines contrasting in quality were evaluated. At locus *Glu-A1* the presence of subunit 1 was related to larger gluten strength and at locus *Glu-D1* subunit 5+10 induced both larger strength and extensibility. Combinations 1 7+8 5+10, 1 17+18 5+10 and 2\* 17+18 5+10 showed higher positive influence on parameters associated to dough strength and extensibility than the rest of the existing combinations. Regression analysis demonstrated prediction values larger than 30 % for parameters FLRPRO, MIXTD, %Tq/min and W based on protein fractions. The MP fraction showed significant correlation coefficients with dough extensibility parameters (SDS-S and P/L), while IPP significantly correlated with gluten strength parameters (MIXTD, %Tq, and W). Determination of distribution of HMW and low LMW glutenin protein fractions,, along with some rapid predictive tests (FLRPRO and SDS-S) represent a powerful tool in assisted selection for quality in wheat breeding.

**Key Words:** Bread wheat, visco-elastic properties, monomeric protein, insoluble polymeric protein.

## **AGRADECIMIENTOS**

A todos los miembros del consejo revisor por su esfuerzo y constancia en diferentes reuniones, también a sus recomendaciones y revisiones para presentar una investigación importante en forma.

A todos los integrantes del Laboratorio de Calidad de Trigo del CIMMYT por su trabajo arduo y concienzudo, además de su completa colaboración como equipo en el desarrollo de diferentes investigaciones persiguiendo un noble objetivo.

## **DEDICATORIAS**

A mi familia, por estar siempre a mi lado, ser mi apoyo y el pilar más fuerte que ha formado el carácter y la decisión que fomenta la superación en mi vida.

A mis amigos por estar a mi lado y representar un constante apoyo en mi vida.

A toda clase de personas que pueda beneficiarse de esta investigación al usarla para el desarrollo y el beneficio de otros

## CONTENIDO

	Página
<b><u>I. INTRODUCCIÓN GENERAL</u></b> .....	<b>1</b>
<u>1.1 Objetivos</u> .....	<b>3</b>
<u>1.2 Hipótesis</u> .....	<b>3</b>
<b><u>II. CONTRIBUCIÓN DE COMBINACIONES DE GLUTENINAS A LAS CARACTERISICAS DEL GLUTEN EN POBLACIONES RECOMBINANTES DE TRIGO</u></b> .....	<b>4</b>
<u>2.1 Resumen</u> .....	<b>5</b>
<u>2.2 Summary</u> .....	<b>6</b>
<u>2.3 Introducción</u> .....	<b>7</b>
<u>2.4 Materiales y Métodos</u> .....	<b>9</b>
<u>2.5 Resultados y Discusión</u> .....	<b>11</b>
<u>2.6 Conclusiones</u> .....	<b>21</b>
<u>2.7 Bibliografía</u> .....	<b>22</b>
<b><u>III. DISTRIBUCIÓN DE FRACCIONES DE PROTEÍNA Y SU CONTRIBUCIÓN A LAS CARACTERÍSTICAS DE CALIDAD DE TRIGO..</u></b>	<b>25</b>
<u>3.1 Resumen</u> .....	<b>26</b>

<a href="#"><u>3.2 Summary</u></a> .....	27
<a href="#"><u>3.3 Introducción</u></a> .....	28
<a href="#"><u>3.4 Materiales y Métodos</u></a> .....	30
<a href="#"><u>3.5 Resultados y Discusión</u></a> .....	33
<a href="#"><u>3.6 Conclusiones</u></a> .....	43
<a href="#"><u>3.7 Bibliografía</u></a> .....	44
<b><a href="#"><u>IV. DISCUSIÓN GENERAL</u></a></b> .....	47
<b><a href="#"><u>V. CONCLUSIONES GENERALES</u></a></b> .....	52
<b><a href="#"><u>VI. LITERATURA CITADA GENERAL</u></a></b> .....	54

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>		<b>Página</b>
<b>2.1</b>	Valores para cada parámetro por familia, valores promedio, mínimos y máximos, y alelos de gluteninas presentes	<b>12</b>
<b>2.2</b>	Cuadrados medios del análisis de varianza de los diferentes loci con los alelos encontrados, para los parámetros de calidad evaluados.	<b>14</b>
<b>2.3</b>	Comparación de medias de parámetros evaluados para cada uno de los alelos de gluteninas encontrados en las seis poblaciones.	<b>18</b>
<b>2.4</b>	Comparación de medias de los parámetros evaluados para cada uno de los grupos genotípicos de gluteninas de alto peso molecular encontrados en las poblaciones.	<b>19</b>
<b>2.5</b>	Comparación de medias de los parámetros evaluados agrupando grupos genotípicos encontrados dentro de cada población	<b>20</b>
<b>3.1</b>	Amplitud de valores obtenidos para cada uno de los parámetros analizados	<b>34</b>
<b>3.2</b>	Amplitud de proporciones de las fracciones de proteína extraídas	<b>35</b>
<b>3.3</b>	Coefficientes de correlación de Pearson entre parámetros de calidad y proporciones de proteína.	<b>36</b>
<b>3.4</b>	Análisis de regresión simple y múltiple de las fracciones de proteína extraída contra los parámetros de calidad evaluados.	<b>37</b>
<b>3.5</b>	Comparación de medias por locus en las fracciones de proteína extraída.	<b>38</b>

<b>3.6</b>	Correlaciones entre parámetros evaluados y las fracciones de proteína extraídas, agrupado por variantes alélicas (* $P \leq 0.05$ , ** $P \leq 0.01$ )	<b>41</b>
<b>3.7</b>	Correlaciones entre parámetros de calidad y fracciones de proteína analizada por combinación alélicas.	<b>42</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
<b>3.1</b>	Diagrama de flujo de las etapas involucradas en el fraccionamiento de proteínas	<b>32</b>

## I. INTRODUCCIÓN GENERAL

A nivel mundial, el trigo es el cereal más utilizado para la alimentación humana por su alto valor energético, mayor contenido de proteína con respecto a otros cereales (maíz y arroz) y por sus características de procesamiento únicas. Representa uno de los cereales que más se utiliza como materia prima para elaborar una gran diversidad de alimentos procesados y otros productos no alimentarios (Peña *et al.*, 2007).

Las proteínas de reserva del grano de trigo, conocidas en su conjunto como gluten, interactúan y contribuyen con importantes propiedades visco-elásticas como fuerza y extensibilidad de masa, haciendo posible la elaboración de diversos alimentos bajo diferentes condiciones de manufactura. La fuerza y la extensibilidad del gluten se definen principalmente por la cantidad y la calidad de sus componentes, de manera preponderante gliadinas y gluteninas, incluyendo combinaciones de sub-unidades específicas de gluteninas de alto peso molecular (G-APM), gluteninas de bajo peso molecular (G-BPM) y gliadinas (Weegels *et al.*, 1996).

Desde el punto de vista de su composición química, las gluteninas y gliadinas constituyen 80 % de la proteína total del gluten (*Triticum aestivum* L.) de las cuales las gluteninas representan el 60 % y las gliadinas el 40 % (Payne *et al.*, 1984). Las gluteninas son proteínas poliméricas presentes en el endospermo y formadas por dos principales grupos de cadenas polipeptídicas llamadas subunidades de alto (APM) y bajo peso molecular (BPM), las cuales se mantienen unidas por puentes disulfuro (Gupta *et al.*, 1992). Las gliadinas, también conocidas como proteínas monoméricas por sus agregados simples de polipéptidos, son proteínas de reserva presentes en el endospermo, se componen de las sub-unidades  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\omega$ -gliadinas y se caracterizan por su solubilidad a diferentes concentraciones de alcohol (Shewry *et al.*, 2002).

Recientemente se han observado líneas de trigo que poseen las mismas combinaciones de gluteninas, pero características de visco-elasticidad contrastantes (Martínez-Cruz *et al.*, 2010). Diversas investigaciones han sugerido que la influencia genotípica de los progenitores utilizados en una cruce, el ambiente y la composición de las proteínas (efecto individual de los alelos así como sus combinaciones) en su conjunto afectan la variabilidad y la expresión total en las características y las propiedades de calidad de las líneas estudiadas (Branlard *et al.*, 2001; De la O *et al.*, 2010; Martínez-Cruz *et al.*, 2010). En este contexto, es necesario generar conocimiento más puntual sobre la influencia de las diferentes sub-unidades de gluteninas en las características de calidad panadera, que permita manipular de forma más eficaz las diferentes propiedades viscoelásticas del trigo.

Las proteínas presentes en el grano de trigo así como las diferentes interacciones con otros factores (cruza, ambiente ó combinación de alelos) contribuyen parcialmente a definir las características visco-elásticas y la calidad de panificación del trigo. Son escasos los estudios que se han realizado sobre el comportamiento de las variaciones alélicas dentro del genoma del trigo para las fracciones de proteína. De la O *et al.* (2010) reportaron que el genotipo y el ambiente tienen efecto sobre las fracciones de glutenina y gliadina y su relación con características de calidad. Es necesario, por lo tanto, investigar otros factores que permitan entender mejor el complejo comportamiento de la calidad industrial del trigo. Por lo anterior, se plantean los siguientes objetivos e hipótesis.

## **1.1 Objetivos**

### **Objetivos generales**

- Explorar el efecto de la proporción de fracciones de proteínas de gluten (gliadina, glutenina soluble y glutenina insoluble) sobre las características de fuerza y extensibilidad del trigo.
- Examinar la posible relación de las variaciones alélicas de gluteninas de alto y bajo peso molecular con la distribución de las proteínas del gluten y las propiedades visco-elásticas del mismo.

### **Objetivos particulares**

- Determinar la composición genética de líneas recombinantes de cruzas entre progenitores contrastantes en calidad, y su relación con la reología y las gluteninas de alto y bajo peso molecular.
- Examinar la posible relación entre variaciones alélicas de G-APM, G-BPM y gliadinas sobre la distribución de la proteína polimérica soluble e insoluble (gliadina, glutenina soluble y glutenina insoluble) y sobre la fuerza y extensibilidad de la harina del trigo y su calidad de panificación.

## **1.2 Hipótesis**

Existe diversidad alélica en las diferentes líneas recombinantes, la cual se refleja en distintas fracciones de gliadina, glutenina soluble y glutenina insoluble, lo que a su vez confiere variabilidad en las propiedades reológicas, susceptible de ser seleccionada e incorporada en programas de mejoramiento genético.

**II. CONTRIBUCIÓN DE COMBINACIONES DE GLUTENINAS A LAS  
CARACTERISICAS DEL GLUTEN EN POBLACIONES RECOMBINANTES DE  
TRIGO<sup>1</sup>**

---

<sup>1</sup> Capítulo enviado para su posible publicación como artículo científico en la Revista Fitotecnia Mexicana

## 2.1 Resumen

Las características visco-elásticas del gluten son influenciadas en gran parte por combinaciones de sub-unidades de glutenina que contribuyen a la fuerza y extensibilidad de las masas de panificación, y consecuentemente a la calidad panadera del trigo harinero (*Triticum aestivum*). Para determinar el efecto de diferentes combinaciones de gluteninas sobre las características visco-elásticas, se analizaron 210 líneas procedentes de poblaciones recombinantes resultantes de seis cruzamientos entre la variedad Avocet como progenitor materno común y las líneas experimentales Attila, Pastor, Amadina, Parula, Tonichi y Pavón. El material genético fue cultivado bajo riego en Cd. Obregón, Sonora. Se analizó la composición de gluteninas de alto (GAPM) y bajo (GBPM) peso molecular y se estimó el efecto de cada variante alélica y de combinaciones alélicas sobre las características reológicas de la masa utilizando el mixógrafo, alveógrafo y mixolab. Dentro del locus *Glu-A1* la presencia de la subunidad 1 se relacionó con mayor fuerza de gluten; en *Glu-B1* las subunidades 7+8 y 17+18 produjeron efectos similares sobre parámetros de calidad, y en el locus *Glu-D1* la sub-unidad 5+10 indujo mayor fuerza y extensibilidad. En las seis poblaciones se encontraron 12 combinaciones de gluteninas entre los loci *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1*. Las combinaciones 1 7+8 5+10, 1 17+18 5+10 y 2\* 17+18 5+10 mostraron mayor influencia positiva sobre parámetros asociados con fuerza y extensibilidad de masa que el resto de las combinaciones encontradas. Las variaciones en gluteninas de APM y BPM explican parcialmente las diferencias en características del gluten. Para mejorar la calidad del trigo de forma más eficiente es necesario investigar otros factores asociados con el gluten que también contribuyen a las variaciones de calidad panadera, sobre todo cuando se observan diferencias en características reológicas de masas que poseen la misma combinación de gluteninas.

**Palabras Clave:** Calidad industrial, propiedades visco-elásticas, proteínas de reserva, trigo harinero

## 2.2 Summary

The visco-elastic properties of the gluten are largely influenced by glutenin sub-units combinations that contribute to enhanced dough strength and extensibility in the bread-making process, and consequently to the end-use quality of the wheat (*Triticum aestivum*). A set of 210 recombinant inbred lines from six different crosses having a common female parent (Avocet) and the experimental lines Attila, Pastor, Amadina, Parula, Tonichi and Pavón as male parents were analyzed to determine the effect of different glutenin combinations on the visco-elastic properties. The lines were grown under irrigation in Cd. Obregón, Sonora. The protein composition was analyzed for both high (HMW) and low (LMW) molecular weight glutenins, and the effect of each allelic variant and allelic combinations on the rheological characteristics was evaluated using the mixograph, alveograph and mixolab equipment. At the *Glu-A1* locus the presence of subunit 1 was related to a larger gluten strength; At locus *Glu-B1* subunits 7+8 and 17+18 produced similar effects on quality parameters while at locus *Glu-D1* subunit 5+10 induced larger strength and extensibility. Twelve glutenin combinations were found throughout the six populations at loci *Glu-A1*, *Glu-B1* and *Glu-D1*. Combinations 1 7+8 5+10, 1 17+18 5+10 and 2\* 17+18 5+10 showed higher positive influence on parameters associated with dough strength and extensibility than the rest of the combinations. Variations in HMW and LMW glutenins partially explain the differences of gluten characteristics. Thus, in order to improve the quality of the wheat in a more efficient way it is necessary to investigate other factors associated to the gluten that also contribute to variations of bread-making quality, especially when differences are observed in rheological characteristic in doughs possessing the same glutenin combination.

**Key Words:** Industrial quality, visco-elastic properties, storage proteins, bread wheat.

### 2.3 Introducción

Las proteínas de reserva del grano de trigo, conocidas en su conjunto como gluten, interaccionan y contribuyen con importantes propiedades visco-elásticas, como fuerza y extensibilidad de masa, hacen posible la elaboración de diversos alimentos bajo diferentes condiciones de manufactura. La fuerza y la extensibilidad del gluten se definen principalmente por la cantidad y la calidad de sus componentes, de manera preponderante gliadinas y gluteninas, incluyendo combinaciones de sub-unidades específicas de gluteninas de alto peso molecular (G-APM), gluteninas de bajo peso molecular (G-BPM) y gliadinas (Weegels *et al.*, 1996).

Las proteínas del gluten se encuentran bajo control genético y representan del 80 al 85% del total de las proteínas del trigo (Weegels *et al.*, 1996). Las G-APM son codificadas por genes en los *loci Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1* localizados en el brazo largo de los cromosomas 1A, 1B y 1D, respectivamente (Payne *et al.*, 1984), mientras que las G-BPM son codificadas por genes en los *loci Glu-A3*, *Glu-B3* y *Glu-D3*, localizados en el brazo corto de los cromosomas 1A, 1B, y 1D respectivamente (Weegels *et al.*, 1996). Los loci *Glu-3* y *Gli-1*, los cuales poseen genes que controlan la presencia de las variantes de las  $\omega$ -gliadinas, están fuertemente ligados (Luo *et al.*, 2001), lo cual complica la determinación de los efectos individuales de los alelos de G-BPM y  $\omega$ -gliadinas (Martínez *et al.*, 2007).

Diversas investigaciones confirman la importancia de algunas variantes alélicas dentro de los loci *Glu-1* y de algunas combinaciones de subunidades específicas de gluteninas en la definición de la visco-elasticidad de una masa y parámetros de calidad de panificación (Weegels *et al.*, 1996; De la O *et al.*, 2006; Martínez *et al.*, 2007). En general, trigos que combinan las subunidades 2\* con 17+18 ó 7+8 y con 5+10, poseen fuerza de gluten y calidad panadera aceptable (De la O *et al.*, 2006; Martínez *et al.*, 2007); sin embargo, también es posible encontrar genotipos de trigo con las combinaciones de G-APM

indicadas y con pobre calidad panadera, así como combinaciones de G-APM conocidas como inferiores y buena calidad panadera (De la O *et al.*, 2006; Martínez *et al.*, 2007). Este hecho, no permite seleccionar trigos de buenas características reológicas y calidad panadera con sólo un análisis de la composición de G-APM; por lo tanto, es necesario determinar los efectos de las subunidades de G-BPM de manera individual y en combinación con las G-APM. Existen pocos estudios donde se determina el efecto de las combinaciones diversas de las gluteninas de APM con BPM. He *et al.* (2005) indican que 1, 7+8, 5+10 con *Glu-A3 d*, es una combinación que podría contribuir al mejoramiento de la calidad del gluten. Flæte y Uhlen (2003) sugieren que las interacciones entre los alelos de gliadinas y de G-BPM con los alelos de G-APM influyen directamente en las características de fuerza de gluten.

Recientemente se han observado líneas de trigo que poseen las mismas combinaciones de gluteninas, pero características de visco-elasticidad contrastantes (Martínez *et al.*, 2010). Diversas investigaciones han sugerido que la influencia genotípica de los progenitores utilizados en una cruce, el ambiente y la composición de las proteínas (efecto individual de los alelos así como sus combinaciones) en su conjunto afectan la variabilidad y la expresión total en las características y las propiedades de calidad de las líneas estudiadas (Branlard *et al.*, 2001; De la O *et al.*, 2010; Martínez-Cruz *et al.*, 2010;).

En este contexto, es necesario generar conocimiento más puntual sobre la influencia de las diferentes sub-unidades de gluteninas en las características de calidad panadera, que permita manipular de forma más eficaz las diferentes propiedades viscoelásticas del trigo en los programas de fitomejoramiento que tienen como objetivo generar variedades de trigo con tipos de calidad de procesamiento y usos más específicos; por lo tanto, el objetivo del presente trabajo es determinar la composición de sub-unidades de G-APM y G-BPM y la relación de gluteninas de APM con parámetros de calidad específicos en líneas recombinantes de trigo.

## **2.4. Materiales y Métodos**

### **Material vegetal**

Se analizaron 210 líneas procedentes de 6 cruzas. Las cruzas comprendieron a la variedad Avocet como progenitor materno común, combinada con las líneas experimentales Attila, Pastor, Amadina, Parula, Tonichi y Pavón. Las poblaciones fueron contrastantes en *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* y *Glu-B3*, teniendo en común para las G-BPM *Glu-A3c* y *Glu-D3b*. El material fue cultivado bajo riego en Cd. Obregón Sonora en el ciclo 2005-2006.

### **Determinación alélica y de propiedades reológicas**

La determinación alélica de gluteninas de APM y BPM se efectuó con base en la separación de subunidades en gel de acrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE, por sus siglas en inglés) utilizando el método descrito por Peña *et al.* (2004) y la nomenclatura para G-APM de Payne y Lawrence (1983), y de G-BPM de Jackson *et al.*, (1996) y Branlard *et al.*, (2001). Todos los análisis se realizaron en el Laboratorio de Química y Calidad de Cereales del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). Muestras de 500 g de grano, previamente acondicionadas a niveles de humedad entre 14 y 16%, de acuerdo con la dureza del grano, fueron molidas en un molino Brabender Quadrumat Jr (C. W. Brabender OHG, Germany), para obtener harina refinada sobre la cual fueron evaluados los parámetros de calidad.

La dureza y la humedad del grano fueron estimados por espectroscopía de reflectancia en el espectro infrarrojo cercano (NIRS, por sus siglas en inglés; NIRSystems 6500, FOSS Dinamarca), siguiendo el método oficial AACC 39-70A (AACC, 2000). El contenido de proteína en harina (FLRPRO) se estimó usando espectrofotometría NIRS en el equipo INFRATEC 1255 (FOSS-TECATOR, Dinamarca). El volumen de sedimentación (FLRSDS) se obtuvo usando 1 g de harina refinada con la metodología descrita por Peña *et al.* (1990). Las propiedades de desarrollo de masa se determinaron con el mixógrafo de

Swanson (National Mfg., USA) mediante el método 54-40A (AACC, 2000) usando 35 g de harina refinada. Del mixograma se obtuvieron los parámetros tiempo de desarrollo de la masa (MIXTD) y el torque al tiempo de desarrollo expresado en %Tq/min, se define como el trabajo necesario para poder incorporar el agua con la harina y lograr el desarrollo óptimo de la masa (Walker y Walker, 2001). Adicionalmente, se utilizó el equipo Mixolab de Chopin (Trippette & Renaud, Francia) para determinar propiedades de desarrollo de la masa: tiempo de desarrollo (TD-Mxlb), estabilidad al sobreamasado (Est-Mxlb), torque C1 y C2 (Tq C1, Tq C2), relacionados con la calidad de gluten. Se usó un protocolo con base en las recomendaciones del fabricante, pero con modificaciones en la velocidad de desarrollo de masa (200 rpm) y en la temperatura de calentamiento (6°C/min). Las propiedades de fuerza y extensibilidad de la masa se determinaron en el alveógrafo Chopin (Trippette & Renaud, Francia) con el método 54-30A (AACC, 2000) usando una muestra de 60 g de harina refinada; se determinaron tanto la fuerza general del gluten ( $W \times 10^{-4}$  J) como la relación tenacidad/extensibilidad (P/L).

### **Análisis estadístico**

En una agrupación general, incluyendo los parámetros de todas las líneas, se determinaron amplitudes de valores mínimos, promedios y máximos; se efectuó un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparación de medias de Tukey ( $\alpha= 0.05$ ) con el programa estadístico SAS versión 9.0 (Statistical Analysis System software. SAS Institute, Cary, NC). Con un análisis comparativo se determinó el efecto individual de todos los alelos de los loci *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* y *Glu-B3* sobre las características de calidad; se determinó el efecto del grupo genotípico de acuerdo con las variantes alélicas en cada loci, para cada una de las seis poblaciones estudiadas.

## 2.5 Resultados y Discusión

En el Cuadro 1 se presentan valores mínimos, promedios y máximos de las líneas de cada una de las seis cruzas analizadas, así como los alelos encontrados en las líneas de dichas cruzas. Se trata de poblaciones contrastantes, con gran amplitud de valores en fuerza, extensibilidad y diferentes características de gluten. Los resultados muestran, que dentro de un cruzamiento existe una gran variabilidad en calidad asociada entre otros factores, a la capacidad recombinatoria de los progenitores involucrados en el cruzamiento, y al hecho de que en la mayoría de las poblaciones se encontraron variantes alélicas para cada locus *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* y *Glu-B3* (Cuadro 1).

Al analizar las líneas con base en las variaciones alélicas de cada locus y sin considerar los cruzamientos que les dieron origen, (Cuadro 2) se observa que para el locus *Glu-A1* con las variantes alélicas 0, 1 y 2\*, existen diferencias significativas y altamente significativas para %Tq/min, Est-Mxlb, FLRSDS, MIXTD, W y P/L, es decir, aún dentro del locus *Glu-A1* la presencia de un alelo específico, modifica tanto la fuerza como la extensibilidad del gluten. El caso opuesto fue para las variantes alélicas de *Glu-B1* (7+8 y 17+18) mismas que no presentaron diferencias sobre la mayoría de las características de calidad. Esto último concuerda con lo reportado por De la O *et al.* (2006), quienes encontraron que en trigos de suaves a semi duros, las subunidades 7+8 y 17+18 tienen efectos similares sobre la calidad de panificación y contenido de proteína.

Las variaciones alélicas del locus *Glu-D1* (Cuadro 2) presentan en su mayoría diferencias altamente significativas, por tanto, se infiere que cada una contribuye de manera importante a la definición de fuerza y extensibilidad de gluten. Al respecto, Espitia *et al.* (2008) reportaron que la subunidad de G-APM 5+10 tiene una mayor influencia sobre la fuerza del gluten que la variante alélica 2+12.

**Cuadro 2.1.** Valores para cada parámetro por familia, valores promedio, mínimos y máximos, y alelos de gluteninas presentes.

Parámetros		Líneas de cruza de Avocet × progenitor masculino indicado					
		Attila	Pastor	Amadina	Parula	Tonichi	Pavón
FLRPRO (%)	Min	8.6	8.1	9.5	8.9	7.9	8.8
	Prom	9.7	9.6	10.3	11.1	9.6	10.4
	Max	11.2	11.3	11.3	13.2	10.8	12.0
FLRSDS (mL)	Min	7.5	8.0	8.5	7.8	8.3	8.3
	Prom	10.0	10.7	10.6	9.9	10.6	10.3
	Max	15.3	16.5	12.3	13.8	13.3	12.3
MIXTD (min)	Min	1.0	1.2	1.1	1.4	1.4	1.4
	Prom	2.2	2.7	2.5	2.0	2.7	2.1
	Max	3.0	4.4	4.2	3.0	4.8	3.6
%Tq/min	Min	36.1	79.5	88.3	59.5	52.0	55.1
	Prom	87.0	111.7	125.0	86.0	104.6	87.9
	Max	120.7	176.9	186.8	126.1	187.9	142.4
TD-Mxlb (min)	Min	0.5	0.5	1.3	0.9	1.3	0.5
	Prom	1.8	2.4	2.1	1.7	2.7	1.6
	Max	4.0	4.3	3.3	3.6	5.3	5.3
Est-Mxlb (min)	Min	1.3	1.7	2.2	1.1	2.2	1.2
	Prom	2.4	3.4	2.8	2.2	3.8	2.2
	Max	4.7	4.9	3.5	5.7	5.9	3.9
TqC1 (Nm)	Min	0.7	0.8	0.9	0.7	0.6	0.7

	Prom	1.2	1.2	1.3	1.4	0.9	1.4
	Max	1.8	1.9	1.7	1.9	1.8	2.2
	Min	0.2	0.3	0.4	0.3	0.2	0.4
TqC2 (Nm)	Prom	0.5	0.6	0.67	0.6	0.4	0.6
	Max	0.88	0.9	0.9	0.9	0.6	0.9
	Min	55.3	114.5	186.0	166.0	163.0	149.0
W (x 10 <sup>-4</sup> J)	Prom	180.4	272.4	315.6	269.0	255.4	230.0
	Max	302.5	433.0	494.0	328.0	368.0	327.0
	Min	0.4	0.6	1.1	0.9	0.6	0.8
P/L	Prom	1.1	1.6	1.7	1.7	1.2	1.6
	Max	3.2	4.5	2.4	2.8	2.2	3.6
	<i>Glu-A1</i>	0, 2*	0, 1	0, 1	0, 2*	0, 1	0, 2*
Complejo <i>Glu-1</i>	<i>Glu-B1</i>	7+8	7+8, 17+18	7+8	7+8	7+8	7+8, 17+18
	<i>Glu-D1</i>	2+12, 5+10	2+12, 5+10	2+12, 5+10	2+12	2+12, 5+10	2+12, 5+10
Complejo <i>Glu-3</i>	<i>Glu-B3</i>	<i>h, b</i>	<i>g, b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>h, b</i>	<i>h, b</i>

**FLRPRO:** Proteína en harina; **FLRSDS:** Sedimentación en harina; **MIXTD:** Tiempo de desarrollo de la masa (Mixógrafo); **%Tq/min:** Torque al tiempo de desarrollo; **TD-Mxlb:** Tiempo de desarrollo (Mixolab); **Est-Mxlb:** Estabilidad de la masa (Mixolab); **W:** Fuerza general del gluten (Alveógrafo); **P/L:** Relación tenacidad/extensibilidad (Alveógrafo).

En cuanto al locus *Glu-B3* (alelos *b, h, g*), éste contribuye con variantes alélicas que ejercen efectos diferenciales significativos sobre todo los parámetros de fuerza de gluten; aunque por sí solas, *Glu-B3b*, *Glu-B3h*, y *Glu-B3g*, no mostraron tener efectos diferenciales sobre la extensibilidad del gluten (P/L). He *et al.* (2005) estudiaron el efecto de los alelos *b*,

*d*, *f* y *j* encontrando diferencias entre estas variantes alélicas de *Glu-B3*, con efectos sobresalientes sobre la calidad de panificación del alelo *Glu-B3b*.

**Cuadro 2.2.** Cuadrados medios del análisis de varianza de los diferentes loci con los alelos encontrados, para los parámetros de calidad evaluados.

Parámetro	Loci con sus alelos			
	<i>Glu-A1</i> 0, 1 y 2*	<i>Glu-B1</i> 7+8 17+18	<i>Glu-D1</i> 2+12 5+10	<i>Glu-B3</i> <i>b, h, g</i>
FLRPRO	0.09	0.06	0.01 **	0.68
FLRSDS	0.01*	0.01 **	0.93	0.01 **
MIXTD	0.01 *	0.15	7.85e-13 **	0.01 **
%Tq/min	1.29e-06 **	0.18	0.01 **	7.18e-05 **
TD-Mxlb	0.01*	0.40	5.19e-06 **	0.04 *
Est-Mxlb	7.98e-09 **	0.62	3.31e-07 **	0.01 **
Tq C1	0.05 **	0.62	0.15	0.63
Tq C2	0.14	0.35	0.77	0.19
W	0.01*	0.03 *	1.913e-07 **	1.05e-05 **
P/L	0.01 *	0.58	0.01 **	0.05

**FLRPRO:** Proteína en harina; **FLRSDS:** Sedimentación en harina; **MIXTD:** Tiempo de desarrollo de la masa (Mixógrafo); **%Tq/min:** Torque al tiempo de desarrollo; **TD-Mxlb:** Tiempo de desarrollo (Mixolab); **Est-Mxlb:** Estabilidad de la masa (Mixolab); **W:** Fuerza general del gluten (Alveógrafo); **P/L:** Relación tenacidad/extensibilidad (Alveógrafo).

\* P ≤ 0.05, \*\* P ≤ 0.01.

El Cuadro 3 muestra la comparación de medias para variaciones alélicas dentro de cada locus *Glu-1* y *Glu-B3*, considerando todas las líneas evaluadas y sin considerar el cruzamiento que dio origen al genotipo que posee la variación alélica analizada. Para *Glu-A1* se observa que la presencia de 2\*, a pesar de asociarse con mayor cantidad de proteína, en general produjo menores valores de fuerza de gluten que cuando el alelo 1 estuvo presente. Las subunidades 1 y 2\* no mostraron diferencias significativas con relación al P/L. Para algunos parámetros, la subunidad 2\* no presentó diferencias significativas con la presencia del alelo nulo. Estos resultados confirman lo reportado por Espitia *et al.* (2008) quienes observaron que en presencia del alelo 1 se obtiene un mayor volumen de pan y valores altos

de W; sin embargo, contradice lo obtenido por Martínez *et al.* (2007) que encontraron efectos similares para 1 y 2\*. Los resultados contrastantes podrían deberse tanto a los genotipos analizados como a las condiciones de cultivo de los materiales evaluados en el presente estudio (riego) y el de Martínez *et al.* (2007), quienes evaluaron trigos de temporal, bajo condiciones de temporal.

Para el locus *Glu-B1*, se observa que los alelos 7+8 y 17+18 sólo presentan un efecto de diferencias significativas para FLRSDS y W, para los demás parámetros existió un efecto similar sobre la calidad, lo cual confirma y reivindica lo encontrado en los análisis de varianza. En el caso del locus *Glu-D1*, el alelo 5+10 indujo menor contenido de proteína, mayor fuerza de gluten, mayor tenacidad que 2+12. Branlard *et al.* (2001) reportaron mayor fuerza de gluten para la subunidad 5+10 y en concordancia con esto, Luo *et al.* (2001) recomendaron la incorporación de 5+10 por producir altos volúmenes de sedimentación y mejor calidad de panificación.

En el locus *Glu-B3* se observaron diferencias entre las subunidades *Glu-B3b* y *Glu-B3g* sólo para FLRSDS y MIXTD. Luo *et al.* (2001) mostraron que la posesión del alelo *Glu-B3b* representa una buena alternativa por incrementar ligera y relativamente las características de calidad de las harinas de panificación. El alelo *Glu-B3h* en general presentó menores valores para los parámetros asociados con fuerza de gluten, y mayor extensibilidad de gluten (P/L) que las subunidades *Glu-B3b* y *Glu-B3g*, lo cual está de acuerdo con lo reportado por Martínez-Cruz *et al.* (2010), quienes encontraron que la presencia del alelo *h* se asocia con un gluten de mejor extensibilidad. Los alelos *Glu-B3b* y *Glu-B3g*, actúan con relativa similitud en cuanto a efectos, los cuales se asocian con valores de fuerza de gluten tanto en el mixógrafo, en el Mixolab y el alveógrafo, coincidiendo con Meng *et al.* (2007), quienes recomiendan al alelo *Glu-B3 g* como mejorador de fuerza de la masa.

Entre las seis poblaciones analizadas se encontraron 12 grupos genotípicos con combinaciones de diferentes alelos en *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* (Cuadro 4). La comparación de medias reveló que las combinaciones 1 7+8 5+10, 1 17+18 5+10 y 2\* 17+18 5+10 tuvieron la mayor influencia positiva sobre parámetros asociados con fuerza y extensibilidad. He *et al.* (2005) reportaron que la combinación 1 7+8 5+10 y *Glu-A3d* podría contribuir a mejorar la calidad del gluten y la panificación. Espitia *et al.* (2008) encontraron que las combinaciones 2\* 17+18 5+10 y 1 17+18 5+10 se asocian con efectos positivos sobre la fuerza del gluten y consecuentemente sobre la calidad panadera, ya que son determinantes en la expresión de las características viscoelásticas del gluten. Martínez *et al.* (2007) mencionan que las sub-unidades 17+18 y 5+10 ejercen un efecto positivo en las propiedades viscoelásticas de la masa y el volumen de pan.

En el Cuadro 5 se presenta una comparación entre los grupos genotípicos (combinaciones alélicas) encontrados dentro de cada familia. En la craza Avocet-Attila 2\* 7+8 5+10 mostró las mejores características de fuerza y extensibilidad en toda la población. En Avocet-Pastor 1 17+18 2+12 y 1 17+18 5+10 fueron las combinaciones más destacadas, tanto por buenas características de fuerza como por la mejor extensibilidad dentro de la familia. Avocet-Parula no presentó diferencias en sus grupos genotípicos, a pesar de ello 2\* 7+8 2+12 presentó los mejores valores para parámetros de fuerza de gluten y menor tenacidad. En Avocet-Tonichi la combinación 1 7+8 5+10 resultó ser la mejor, y para el caso de Avocet-Pavón 2\* 17+18 5+10 sobresalió ligeramente de las demás al balancear sus características de fuerza y extensibilidad.

El estudio de las proteínas presentes en el grano de trigo así como de las diferentes interacciones con ellas (cruza, ambiente ó combinación de alelos) contribuyen parcialmente a definir las características visco-elásticas y la calidad de panificación del trigo. Es necesario, por lo tanto, investigar otros factores que permitan entender mejor el complejo

comportamiento de la calidad industrial del trigo. Sapirstein y Fu (1998) encontraron que la fracción rica en glutenina está fuertemente asociada con la extensibilidad de las masas, mientras que Uthayakumaran *et al.* (1999) mostraron que la variación en la proporción glutenina/gliadinas contribuye al incremento o disminución del tiempo de mezclado, extensibilidad y volumen de pan. De manera general puede afirmarse que la caracterización de G-APM y G-BPM, el análisis de sus combinaciones y el efecto de éstas dentro de sus cruza, tiene un gran potencial como herramienta en fitomejoramiento para agilizar la selección y realizar cruzamientos dirigidos a fin de obtener genotipos de calidad de acuerdo con su uso y demanda específica. Sería relevante determinar si los materiales estudiados en este trabajo presentan diferencias en la distribución de las proteínas del gluten (gliadinas y gluteninas), que estén relacionadas con los contrastes en calidad observados en líneas originadas de una misma cruza y con la misma composición de G-APM y G-BPM. El siguiente paso entonces, sería determinar si existen variaciones en la distribución de gliadinas, gluteninas solubles y gluteninas insolubles y ver cómo afecta cada una de estas a la fuerza y la extensibilidad de la masa.

**Cuadro 2.3.** Comparación de medias de parámetros evaluados para cada uno de los alelos de gluteninas encontrados en las seis poblaciones.

Parámetro	Alelos de G-APM							Alelos de G-BPM		
	0 (nulo)	1	2*	7+8	17+18	2+12	5+10	<i>b</i>	<i>h</i>	<i>g</i>
FLRPRO	9.92 ab	9.66 b	10.03 a	9.80 b	10.07 a	10.03 a	9.68 b	9.90 a	9.89 a	9.74 a
FLRSDS	10.07 b	10.69 a	10.40 ab	10.15 b	10.88 a	10.33 a	10.34 a	10.21 b	10.15 b	11.11 a
MIXTD	2.32 b	2.89 a	2.22 b	2.43 a	2.59 a	2.17 b	2.83 a	4.12b	2.15 a	2.76 a
%Tq/min	94.80 b	115.39 a	90.93 b	98.27 a	104.41 a	88.83 b	113.08 a	101.85 a	84.51 b	110.63 a
TD-Mxlb	1.90 b	2.77 a	1.95 b	2.14 a	2.27 a	1.88 b	2.52 a	2.23 ab	1.86 b	2.41 a
Est- Mxlb	2.76 b	3.57 a	2.47 b	2.94 a	2.86 a	2.59 b	3.33 a	2.99 a	2.44 b	3.34 a
Tq C1	1.23 a	1.06 b	1.24 a	1.17 a	1.22 a	1.21 a	1.14 a	1.16 a	1.22 a	1.19 a
Tq C2	0.54 a	0.48 b	0.52 ab	0.51 a	0.54 a	0.51 a	0.52 a	0.53 a	0.51 a	0.57 a
W	233.11 b	279.81 a	217.27 b	236.43 b	261.60 a	219.17 b	272.67 a	252.93 a	196.01 b	260.55 a
P/L	1.60 a	1.36 b	1.31 b	1.44 a	1.48 a	1.33 b	1.61 a	1.48 a	1.28 b	1.59 a

**FLRPRO:** Proteína en harina; **FLRSDS:** Sedimentación en harina; **MIXTD:** Tiempo de desarrollo de la masa (Mixógrafo); **%Tq/min:** Torque al tiempo de desarrollo; **TD-Mxlb:** Tiempo de desarrollo (Mixolab); **Est-Mxlb:** Estabilidad de la masa (Mixolab); **W:** Fuerza general del gluten (Alveógrafo); **P/L:** Relación tenacidad/extensibilidad (Alveógrafo).

Medias con la misma letra dentro de cada columna, son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05)

**Cuadro 2.4.** Comparación de medias de los parámetros evaluados para cada uno de los grupos genotípicos de gluteninas de alto peso molecular encontrados en las poblaciones.

Parámetro	Grupos genotípicos de gluteninas de alto peso molecular											
	0 7+8	0 7+8	0 17+18	0 17+18	1 7+8	1 7+8	1 17+18	1 17+18	2* 7+8	2* 7+8	2*	2* 17+18
	2+12	5+10	2+12	5+10	2+12	5+10	2+12	5+10	2+12	5+10	17+18	5+10
FLRPRO	10.10ab	9.49b	10.17ab	10.02ab	9.69ab	9.45b	9.78ab	10.02ab	10.13ab	9.62b	10.70a	10.15ab
FLRSDS	10.13b	9.63b	10.20b	10.63ab	10.21b	10.36b	11.19ab	12.15a	10.40b	10.29b	10.82ab	10.41b
MIXTD	2.04cd	2.62abc	2.24cd	2.72abc	2.41cd	3.33a	2.63abc	3.30ab	2.05cd	2.54bc	1.72d	2.45cd
%Tq/min	82.42cd	107.42abc	89.36cd	110.21abc	97.6cd	130.75a	107.07abc	129.92ab	87.35cd	99.04bcd	71.97d	97.71bcd
TD-Mxlb	1.70cd	2.17cd	1.77cd	2.06cd	2.20cd	3.25ab	2.48abc	3.34a	1.84cd	2.13bcd	1.16d	2.46abc
Est-Mxlb	2.47bc	3.30ab	2.26bc	2.91abc	3.22ab	4.01a	3.18ab	3.78a	2.28bc	2.92abc	1.93c	2.55bc
Tq C1	1.20ab	1.16ab	1.34ab	1.36ab	1.08ab	1.06ab	1.10ab	0.96b	1.30ab	1.13ab	1.47a	1.11ab
Tq C2	0.51ab	0.53ab	0.56ab	0.66a	0.48ab	0.50ab	0.50ab	0.43b	0.54ab	0.51ab	0.54ab	0.46ab
W	206.40b	248.48ab	209.67b	297.07a	254.48ab	305.33a	261.85ab	298.56a	202.67b	234.15ab	192.50b	254.29ab
P/L	1.41ab	1.70ab	1.45ab	2.07a	1.33ab	1.59ab	1.15b	1.12b	1.28ab	1.18b	1.15b	1.42ab

**FLRPRO:** Proteína en harina; **FLRSDS:** Sedimentación en harina; **MIXTD:** Tiempo de desarrollo de la masa (Mixógrafo); **%Tq/min:** Torque al tiempo de desarrollo; **TD-Mxlb:** Tiempo de desarrollo (Mixolab); **Est-Mxlb:** Estabilidad de la masa (Mixolab); **W:** Fuerza general del gluten (Alveógrafo); **P/L:** Relación tenacidad/extensibilidad (Alveógrafo).

Medias con la misma letra dentro de cada columna, son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05)

**Cuadro 2.5.** Comparación de medias de los parámetros evaluados agrupando grupos genotípicos encontrados dentro de cada población.

Cruza	Combinación	FLRPRO	FLRSDS	MIXTD	%Tq/min	TD-Mxlb	Est-Mxlb	Tq C1	Tq C2	W	P/L
Avocet-Attila	0 7+8 2+12	9.54a	9.05b	1.95b	75.03a	1.76a	2.16a	1.19a	0.47a	138.61b	1.24a
	0 7+8 5+10	9.62a	9.33ab	2.23ab	87.23a	1.33a	2.18a	1.36a	0.55a	176.75ab	1.40a
	2* 7+8 2+12	9.73a	10.14ab	2.0b	86.02a	1.90a	2.24a	1.22a	0.50a	157.84b	1.10a
	2* 7+8 5+10	9.70a	10.53a	2.50a	100.03a	2.23a	2.94a	1.13a	0.51a	233.40a	1.05a
Avocet-Pastor	0 7+8 2+12	9.08a	10.04ab	2.28b	90.88c	1.65c	2.85ab	1.07a	0.53a	215.43ab	1.27ab
	0 7+8 5+10	9.22a	9.63b	2.86ab	113.80abc	2.33abc	3.64ab	1.18a	0.55a	276.13ab	2.17a
	0 17+18 +12	9.95a	10.05ab	2.35b	93.17c	1.88bc	2.40b	1.27a	0.55a	210.75b	1.42ab
	0 17+18 5+10	9.88a	10.70ab	2.96ab	113.03abc	2.38abc	3.12ab	1.27a	0.61a	311.40a	2.04ab
	1 7+8 2+12	9.56a	10.56ab	2.43b	99.79bc	2.11abc	3.06ab	1.14a	0.52a	251.65ab	1.41ab
	1 7+8 5+10	9.28a	10.45ab	3.35a	135.78a	3.06ab	3.80a	1.18a	0.59a	311.44a	1.93ab
	1 17+18 2+12	9.78a	11.19ab	2.63ab	107.07abc	2.48abc	3.18ab	1.10a	0.50a	261.85ab	1.15b
1 17+18 5+10	10.02a	12.15a	3.30a	129.92ab	3.34a	3.78a	0.96a	0.43a	298.56ab	1.12b	
Avocet-Parula	0 7+8 2+12	11.48a	11.28a	1.92a	81.47a	1.49a	1.95a	1.52a	0.63a	260.40a	1.88a
	2* 7+8 2+12	10.77a	10.80a	2.17a	91.80a	1.86a	2.56a	1.31a	0.57a	284.63a	1.51a
Avocet-Tonichi	0 7+8 2+12	9.84a	10.08a	2.22b	86.03a	2.13b	3.16b	0.91a	0.38a	215.60b	1.13a
	0 7+8 5+10	9.15a	9.51a	2.90ab	116.62a	2.99ab	4.31a	0.86a	0.41a	271.33ab	1.48a
	1 7+8 2+12	9.73a	9.76a	2.32b	91.13a	2.33b	3.49ab	0.94a	0.40a	245.56ab	1.17a
	1 7+8 5+10	9.46a	10.08a	3.33a	125.01a	3.50a	4.38a	0.95a	0.40a	292.91a	1.34a
Avocet-Pavón	0 7+8 2+12	10.66a	10.43ab	1.83b	73.99a	1.07a	1.95a	1.48a	0.57a	184.67b	1.46a
	0 17+18 5+10	10.37ab	10.47a	2.25ab	103.18a	1.26a	2.40a	1.58a	0.78a	261.25b	2.15a
	2* 7+8 5+10	9.26b	9.33b	2.66a	95.08b	1.74a	2.86a	1.16a	0.49b	236.67ab	1.70a
	2* 17+18	10.70a	10.82a	1.72b	71.98b	1.16a	1.93a	1.47a	0.54ab	192.5ab	1.15a
	2* 17+18	10.15ab	10.41ab	2.45ab	97.71b	2.46a	2.55a	1.11a	0.46b	254.29ab	1.426a

Medias con la misma letra dentro de cada columna, son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05)

## 2.6 Conclusiones

Existen diferencias en los efectos de algunas variantes alélicas, destacando la presencia de 5+10, con parámetros de fuerza de gluten; sin embargo, dichos efectos, aunque importantes, son parciales. Algunas líneas que poseen la subunidad 2+12 muestran características aceptables de fuerza (W) y buena extensibilidad (P/L), por su capacidad para contrarrestar la fuerza excesiva contribuida por otras subunidades dentro de sus combinaciones, lo que las hace útiles en panificación semi-mecanizada.

La presencia de la subunidad 1 demostró tener la capacidad de aportar mayor fuerza de gluten a las líneas que la poseen, y en las subunidades 7+8 y 17+18 se encontraron efectos similares sobre la calidad.

En general, las líneas resultantes de las seis cruzas evaluadas presentaron gluteninas de bajo peso molecular que en todas sus variantes, *Glu-B3b*, *Glu-B3g*, y *Glu-B3h*, contribuyen de manera similar y positiva, siendo las dos primeras como ligeramente mejores sobre la fuerza, y la última como ligeramente mejor sobre la extensibilidad.

## Agradecimientos

Al equipo del Laboratorio de Química y Calidad de Cereales de CIMMYT y a la colaboración conjunta de investigadores CIMMYT-COLPOS.

## 2.7 Bibliografía

- AACC (2000)** Approved Methods of the AACC. 10<sup>th</sup> Edition. American Association of Cereal Chemists. St. Paul, MN, USA. 1268 p.
- Branlard G, M Dardevet, R Saccomano, F Lagoutte, J Gourdon (2001)** Genetic diversity of wheat storage proteins and bread wheat quality. *Euphytica* 119: 59-67.
- De la O O M, E Espitia R, J D Molina G, R J Peña B, A Santacruz V, H E Villaseñor M (2006)** Efecto de diferentes subunidades de gluteninas-APM sobre la calidad panadera en trigos harineros mexicanos. *Revista Fitotecnia Mexicana* 29: 291-297.
- De la O O M, E Espitia R, J D Molina G, H E Villaseñor M, H López, R J Peña B, A Santacruz V (2010)** Estabilidad a través de ambientes de las propiedades reológicas de trigos harineros en función de sus gluteninas de alto peso molecular. *Revista Fitotecnia Mexicana* 33: 125-131.
- Espitia R E, E Martínez C, R J Peña B, H E Villaseñor M, J Huerta E (2008)** Polimorfismo de gluteninas de alto peso molecular y su relación con trigos harineros para temporal. *Agricultura Técnica en México* 34: 57-67.
- Flæte N E S, A K Uhlen (2003)** Association between allelic variation at the combined *Gli-1*, *Glu-3 loci* and protein quality in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Cereal Science* 37: 129-137.
- He Z H, L Liu, X C Xia, J J Liu, R J Peña (2005)** Composition of HMW and LMW glutenin subunits and their effects on dough properties, pan bread, and noodle quality of Chinese bread wheats. *Cereal Chemistry* 82: 345-350.

- Jackson E A, M H Morel, T Sontag-Strohm, G Branlard, E V Metakovsky, R Redaelli (1996)** Proposal for combining the classification systems of alleles of *Gli-1* and *Glu-3* loci in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Genetics and Breeding* 50: 321-336.
- Luo C, W B Griffin, G Branlard, D L McNeil (2001)** Comparison of low- and high molecular- weight wheat glutenin allele effects on flour quality. *Theoretical and Applied Genetics* 102: 1088-1098.
- Martínez C E, E Espitia R, I Benítez R, R J Peña B, A Santacruz V, H E Villaseñor M (2007)** El complejo *Gli-1/Glu-3* y las propiedades reológicas y volumen de pan de trigos harineros. *Revista Fitotecnia Mexicana* 30: 167-172.
- Martínez-Cruz E, E Espitia-Rangel, H E Villaseñor-Mir, J D Molina-Galán, I Benítez-Riquelme, A Santacruz-Varela, R J Peña-Bautista (2010)** Diversidad genética de gluteninas y gliadinas en trigos harineros (*Triticum aestivum* L.) mexicanos. *Agrociencia* 44: 187-195.
- Meng X G, F Xie, X W Shang, L Z An (2007)** Association between allelic variations at the *Glu-3* loci and wheat quality traits with Lanzhou alkaline stretched noodles quality in northwest China spring wheats. *Cereal Research Communications* 35: 109-118.
- Payne P I, L M Holt, E A Jackson, C N Law (1984)** Wheat storage proteins: their genetics and their potential for manipulation by plant breeding. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 304(1120): 359-371.
- Payne P I, G J Lawrence (1983)** Catalogue of alleles for the complex loci, *Glu-A1*, *Glu-B1* and *Glu-D1* which code for high molecular weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Research Communications* 11: 29-35.

**Peña R J, A Amaya, S Rajaram, A Mujeeb-Kazi (1990)** Variation in quality characteristics associated with some spring 1B/1R translocation wheats. *Journal of Cereal Science* 12:105-112.

**Peña R J, H González-Santoyo, F Cervantes (2004)** Relationship between *Glu-D1/Glu-B3* allelic combinations and bread-making quality-related parameters commonly used in wheat breeding. *In: The Gluten Proteins*. Lafandra D, S Masci and R D'Ovidio (eds.). Special Publication No. 295. Royal Society of Chemistry. Cambridge, U.K. pp: 156–157.

**Sapirstein H D, B X Fu (1998)** Intercultivar variation in the quantity of monomeric proteins, soluble and insoluble glutenin, and residue protein in wheat flour and relationship to breadmaking quality. *Cereal Chemistry* 75: 500-507.

**Uthayakumaran S, P W Gras, F L Stoddard, F Bekes (1999)** Effect of varying protein content and glutenin-to-gliadin ratio on the functional properties of wheat dough. *Cereal Chemistry* 76: 389-394.

**Walker A E, C E Walker (2001)** Documentation and user's instructions for mixsmart version 4.0. National Cereal Chemistry Equipment. Lincoln, Nebraska. U.S.A. 150 p.

**Weegels P L, R J Hamer, J D Schofield (1996)** Critical review: functional properties of wheat glutenin. *Journal of Cereal Science* 23: 1-18.

### **III. DISTRIBUCIÓN DE FRACCIONES DE PROTEÍNA Y SU CONTRIBUCIÓN A LAS CARACTERÍSTICAS DE CALIDAD DE TRIGO<sup>2</sup>**

---

<sup>2</sup> Capítulo enviado para su posible publicación como artículo científico en la Revista Fitotecnia Mexicana

### 3.1 Resumen

Las características visco-elásticas del gluten del trigo (*Triticum aestivum* L.) están definidas por la composición de las gliadinas, las gluteninas de alto (G-APM) y de bajo (G-BPM) peso molecular y por la distribución de sus principales fracciones, la monomérica (rica en gliadina, PM), la polimérica soluble (rica en glutenina soluble, PPS) y la polimérica insoluble (rica en glutenina insoluble, PPI). Con el objetivo de examinar la relación e influencia de estas fracciones sobre parámetros de calidad de procesamiento (reológicos), se evaluaron 117 líneas de trigo procedentes de seis poblaciones contrastantes en calidad, cultivadas bajo riego en Sonora, México (ciclo Y05-06). La variedad Avocet fue el progenitor materno común en cada una de las seis poblaciones. Las medias generales de las tres fracciones para la población fue de 42% en PM, 20.4% de PPS y 37.5% de PPI. La media de la distribución de fracciones fue distinta entre cada una de las seis poblaciones. Se encontró variantes en la composición de gluteninas en todos los loci *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* y *Glu-B3*. El análisis multivariado demostró valores de predicción asociado con las fracciones proteicas mayores a 30% para los parámetros PROTREF, MIXTD, %Tq/min y AlvW. La proporción de las fracciones de proteína afectan significativamente a las características de calidad; el nivel del efecto varía entre poblaciones, dependiendo en gran medida en la composición de gluteninas APM y BPM. La fracción PM mostró correlaciones significativas con parámetros de extensibilidad de la masa (Sedim-SDS; AlvP/L), mientras que PPI se correlacionaron con parámetros de fuerza de gluten (MIXTD, %Tq/min y AlvW). La determinación de la distribución de fracciones proteicas de la composición de G-APM y G-BPM, aunada a pruebas predictivas rápidas (PROTREF y Sedim-SDS) en conjunto constituyen una importante herramienta para selección por calidad en el fitomejoramiento.

**Palabras clave:** Trigo harinero, proteínas monoméricas, proteína polimérica insoluble, propiedades visco-elásticas.

### 3.2 Summary

The wheat visco-elastic properties (*Triticum aestivum* L.) are mainly defined by the composition of gliadins, high (HMW-G) and low (LMW-G) molecular weight glutenins and the distribution of main fractions, monomeric (MP, rich in gliadins), soluble polymeric (SPP, rich in soluble glutenin) and insoluble polymeric (IPP, rich in insoluble glutenin). To examine the relationship and influence of these protein fractions on rheological – parameters, a set of 117 lines derived from six populations of contrasting quality, each having Avocet as common female parent and grown in Sonora, Mexico (Y05-06 crop cycle). Overall means of 42% MP, 20.4% of SPP and 37.5% of IPP were obtained, but the means for the three fractions differed among the six different populations. The allelic variants were found in *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*, and *Glu-B3* loci. Multivariate analysis predicting values associated with the protein fractions of more than 30% for PROTREF, MIXTD, %Tq/min and AlvW. It was observed that the magnitude of the prediction of the of quality parameters is affected by the genotype due to both, presence of individual and combined allelic variations at all loci. The MP showed significant correlation coefficients with dough extensibility parameters (Sedim-SDS and AlvP/L) while IPP correlated significantly with gluten strength parameters (MIXTD, %Tq, and AlvW). Determining the protein solubility distribution, the *Glu-1/Glu-3* allelic combinations, along with some rapid predictive testes (PROTREF and Sedim-SDS), in combination represent a powerful tool in wheat breeding; to select well donors of desirable rheological quality traits and later on to screen for desirable quality parameters.

**Key words:** Bread wheat, monomeric protein, insoluble polymeric protein, visco-elastic properties.

### 3.3 Introducción

En el trigo, las proteínas de reserva comprenden del 80 al 85 % del total de las proteínas presentes en el grano (Pomeranz, 1978). Estas proteínas de reserva ya hidratadas y orientadas forman una red insoluble llamada gluten (Weegels, 1996). Las propiedades visco-elásticas del gluten dependen de factores como el genotipo (composición de gliadinas y gluteninas controlados por el complejo loci *Gli-Glu*) y la distribución de las principales fracciones de proteína (gliadinas y gluteninas).

Las gliadinas, también conocidas como proteínas monoméricas por sus agregados simples de polipéptidos, son proteínas de reserva presentes en el endospermo, se componen de las sub-unidades  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\omega$ -gliadinas y se caracterizan por su solubilidad a diferentes concentraciones de alcohol (Shewry *et al.* 2002). Se ha encontrado que estas fracciones de proteína están asociadas con el incremento en la viscosidad de las masas (Sapirstein *et al.*, 1998; Uthayakumaran *et al.*, 1999; Suchy *et al.*, 2007).

Las gluteninas son proteínas poliméricas presentes en el endospermo y formadas por dos principales grupos de cadenas polipeptídicas llamadas subunidades de alto (APM) y bajo peso molecular (BPM), las cuales se mantienen unidas por puentes disulfuro. Se ha observado que estas proteínas se relacionan con el tiempo de desarrollo de la masa en el mixógrafo, la estabilidad en el farinógrafo y con el volumen de pan (Gupta *et al.*, 1992; Uthayakumaran *et al.*, 1999; Suchy *et al.*, 2007).

Se han desarrollado diferentes protocolos que separan y cuantifican la concentración de las principales fracciones de proteína y ayudan a esclarecen su relación con parámetros específicos de calidad (Bean *et al.*, 1998; Figueroa *et al.*, 2009). Destacan tres investigaciones por lograr una mejor separación usando métodos más simples (solubilidad). Sapirstein y Fu (1998) lograron aislar dos fracciones, rica en proteínas monoméricas y rica

en proteínas poliméricas, estas últimas divididas en gluteninas solubles e insolubles en alcohol. DuPont *et al.* (2005) publicaron un método más específico el cual logra separar a las proteínas monoméricas en una fracción rica en gliadina y otra en albuminas/globulinas. Suchy *et al.* (2007) separaron gluteninas monoméricas y poliméricas y demostraron que es posible cuantificar las proporciones de proteína por espectrofotometría.

El estudio de las proteínas presentes en el grano de trigo así como de las diferentes interacciones con ellas (cruza, ambiente ó combinación de alelos) contribuyen parcialmente a definir las características visco-elásticas y la calidad de panificación del trigo. Son escasos los estudios que se han realizado sobre el comportamiento de las variaciones alélicas dentro del genoma del trigo para las fracciones de proteína. De la O *et al.* (2010) reportaron que el genotipo y el ambiente tienen efecto sobre las fracciones de glutenina y gliadina y su relación con características de calidad. Es necesario, por lo tanto, investigar otros factores que permitan entender mejor el complejo comportamiento de la calidad industrial del trigo; por ello, el presente trabajo tuvo como objetivo determinar la composición de subunidades de glutenina y la distribución de la fracción rica en gliadina (proteínas monoméricas, PM); rica en glutenina soluble (proteína polimérica soluble, PPS) y rica en glutenina insoluble (proteína polimérica insoluble, PPI) para buscar la posible influencia de estas fracciones sobre parámetros específicos de calidad.

### **3.4 Materiales y Métodos**

#### **Material vegetal**

Se evaluaron 117 líneas de trigo procedentes de seis poblaciones contrastantes en calidad. Las poblaciones tuvieron a la variedad 'Avocet' como progenitor materno común combinada con las líneas experimentales 'Attila', 'Pastor', 'Amadina', 'Parula', 'Tonichi' y 'Pavón'. Las líneas fueron cultivadas bajo riego en Ciudad Obregón, Sonora en el ciclo de Invierno 2005-2006. Las poblaciones fueron contrastantes en composición alélica en los loci *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* y *Glu-B3*, teniendo en común *Glu-A3c* y *Glu-D3b*.

#### **Evaluación de la calidad y determinación alélica**

Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Química y Calidad de Cereales del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). Muestras de 500 g de grano, previamente acondicionadas a niveles de humedad entre 14 y 16 % ajustando de acuerdo a la dureza de grano, fueron molidas en un molino Brabender Quadrumat Jr. (C. W. Brabender OHG, Germany), para obtener harina refinada sobre la cual fueron evaluados los parámetros de calidad.

La dureza (DURGRN) y la humedad del grano fueron estimados por espectroscopía de reflectancia en el espectro infrarrojo cercano (NIRS, por sus siglas en inglés; NIRSystems 6500, FOSS Dinamarca), siguiendo el método oficial AACC 39-70A (AACC, 2000). El contenido de proteína en harina (PROTREF) se estimó usando espectrofotometría NIRS en el equipo INFRADEC 1255 (FOSS-TECATOR, Dinamarca). Se obtuvo el volumen de sedimentación (Sedim-SDS) usando 1 g de harina refinada con la metodología descrita por Peña *et al.* (1990). Las propiedades de desarrollo de masa se determinaron con el Mixógrafo de Swanson (National Mfg., USA) mediante el método oficial 54-40A (AACC, 2000)

usando 35 g de harina refinada. Del mixograma se obtuvieron los parámetros tiempo de desarrollo de la masa (MIXTD) y el torque al tiempo de desarrollo expresado en %Tq/min, se define como el trabajo necesario para poder incorporar el agua con la harina y lograr el desarrollo óptimo de la masa (Walker y Walker, 2001). Adicionalmente, se utilizó el equipo Mixolab de Chopin (Trippette & Renaud, Francia) para determinar propiedades de desarrollo de la masa: tiempo de desarrollo (TD-Mxlb), estabilidad al sobreamasado (Est-Mxlb), torque C1 y C2 (Tq C1, Tq C2), relacionados con la calidad de gluten. Se usó un protocolo con base en las recomendaciones del fabricante, pero con modificaciones en la velocidad de desarrollo de masa (200 rpm) y en la temperatura de calentamiento (6°C/min). Las propiedades de fuerza y extensibilidad de la masa se determinaron en el Alveógrafo Chopin (Trippette & Renaud, Francia) con el método 54-30A (AACC, 2000) usando una muestra de 60 g de harina refinada; se determinaron tanto la fuerza general del gluten ( $W \times 10^{-4}$  J) como la relación tenacidad/extensibilidad (P/L).

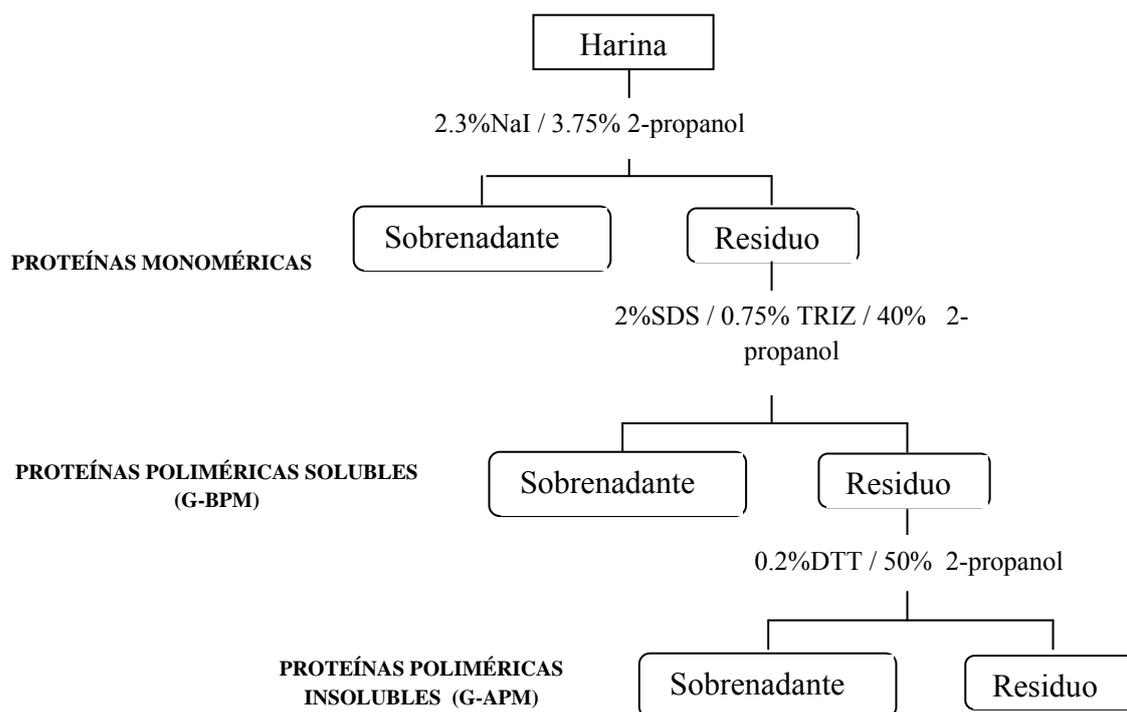
La determinación alélica de gluteninas de alto peso molecular (APM) y bajo peso molecular (BPM) se efectuó con base en la separación de subunidades en gel de acrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE, por sus siglas en inglés) utilizando el método descrito por Peña *et al.* (2004) y la nomenclatura para G-APM de Payne y Lawrence (1983), y de G-BPM de Jackson *et al.* (1996) y Branlard *et al.* (2001).

### **Fraccionamiento y cuantificación de proteínas**

Las muestras se procesaron por duplicado mediante extracción secuencial (Figura 1). Se utilizaron 10 mg de harina refinada (al 14 % base seca) pesados directamente en tubos eppendorf de 2 mL. Las PM fueron extraídas con 1.8 mL de una solución que combina 2.3 % NaI/3.75 % 2-propanol mezclando por 5 min a 1100 rpm y 25 °C. Para la extracción de PPS se tomó el precipitado del tubo anterior y se adicionaron 1.8 mL de solución preparada con 2

% SDS/0.75 % Tris/40 % de 2-propanol, incubadas a 25 °C por 40 minutos a 1100 rpm. Por último, se extrajo la fracción de PPI añadiendo 1.8 mL de 0.2 % DTT/50 % 2-propanol por 1 hora 15 min a 55 °C.

Las muestras fueron incubadas a temperatura, velocidad y tiempo controlado usando un incubador Eppendorf Thermomixer Comfort (Eppendorf-Netheler, Hamburgo, Alemania). Para cuantificar las concentraciones de proteínas, se colocaron 100 µL del sobrenadante en microplacas de 384 pozos para U.V. (marca CORNING). La lectura se realizó en espectrofotómetro (Microplate reader BioTek Epoch) a absorbancia de 280 nm (Suchy *et al*, 2007), usando el software Gen 5 (Microplate Data Collection & Analysis Software) para recuperar las lecturas.



**Figura 3.1.** Diagrama de flujo de las etapas involucradas en el fraccionamiento de proteínas

## Análisis estadístico

En una agrupación general, se determinaron valores mínimos, medios y máximos para las concentraciones de proteína extraída por familia. Se realizaron análisis estadísticos con la prueba de comparación de medias LSD Fisher ( $p \leq 0,05$ ) con el programa estadístico SAS versión 9.0 (Statistical Analysis System software. SAS Institute, Cary, NC). Se aplicó un análisis de regresiones simples y múltiples acumulativas para estimar el porcentaje de explicación de las fracciones de proteína extraídas sobre los parámetros de calidad usando el programa estadístico CropStat (CropStat for Windows Version 7.2.). Mediante análisis de correlaciones de Pearson se determinó el grado de asociación entre las fracciones de proteína determinadas con los parámetros de calidad evaluados, tanto de manera general como a nivel de efecto individual de los alelos en los loci *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* y *Glu-B3* y a nivel de combinaciones alélicas presentes en las poblaciones analizadas.

### 3.5 Resultados y Discusión

En el Cuadro 1 se muestran valores mínimos, promedios y máximos encontrados en las líneas estudiadas para los parámetros de calidad evaluados. Se observa una amplia distribución de valores para todos los parámetros de calidad, asociada a las diferencias contrastantes en calidad de los progenitores involucrados en cada cruzamiento; la gran amplitud de valores se hace más evidente debido a que en la mayoría de las poblaciones se presentaron variantes alélicas para cada locus *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* y *Glu-B3*.

En el Cuadro 2 se observa la distribución en proporciones de las tres fracciones de proteína desglosadas por cruce y en forma general. Se obtuvo una media general de 42 % en PM, 20.4 % en PPS y 37.5 % en PPI.

**Cuadro 3.1.** Amplitud de valores obtenidos para cada uno de los parámetros analizados

Parámetro	Mínimo	Promedio	Máximo
DURGRN	31	48	66
PROTREF (%)	8.0	10.0	13.2
Sedim-SDS (mL)	7.5	10.0	13.8
MIXTD (min)	1.1	2.3	4.4
%Tq/min	42.5	94.9	186.8
TD-Mxlb (min)	0.5	1.9	5.3
Est-Mxlb (min)	1.1	2.7	5.7
Tq C1 (Nm)	0.6	1.2	2.1
Tq C2 (Nm)	0.2	0.5	0.9
AlvW (10 <sup>-4</sup> J)	55	240	494
AlvP/L	0.6	1.6	4.5

**DURGRN:** Dureza del grano; **PROTREF:** Proteína en harina refinada; **Sedim-SDS:** Sedimentación en harina; **MIXTD:** Tiempo de desarrollo de la masa (Mixógrafo); **%Tq/min:** Torque al tiempo de desarrollo (Mixógrafo); **TD-Mxlb:** Tiempo de desarrollo (Mixolab); **Est-Mxlb:** Estabilidad de la masa (Mixolab); **AlvW:** Fuerza general del gluten (Alveógrafo); **AlvP/L:** Relación tenacidad/extensibilidad (Alveógrafo).

Los resultados obtenidos son muy similares a los reportados en otros estudios; al respecto, Sapirstein y Fu (1998) encontraron proporciones de 50, 14 y 35.7 % de PM, PPS y PPI, respectivamente en trigos canadienses, mientras que DuPont *et al.* (2005) reportaron 40.2 % en la fracción rica en gliadina, 9.6 % del complejo albúmina/globulina y 48.0 % de proteínas poliméricas usando líneas de trigos rojos de primavera.

Williams *et al.* (2008) y De la O *et al.* (2010) sugirieron que el genotipo y el ambiente son factores que afectan directamente a la expresión de la calidad; en este estudio, las líneas provienen de cruzas con una madre común, combinada con seis líneas experimentales contrastantes en calidad, dando origen a individuos que muestran variación en las proporciones de cada una de las fracciones extraídas (Cuadro 2); así, la craza Avocet × Pavón posee la mayor proporción de PM y Avocet × Attila de PPI.

**Cuadro 3.2.** Amplitud de proporciones de las fracciones de proteína extraídas de las líneas dentro de cada cruz.

Cruza	% PM	% PPS	% PPI
Avocet-Attila	33.8-45.4	17.5-24.7	32.2-46.9
Avocet-Pastor	33.6-44.5	15.1-24.0	34.4-45.3
Avocet-Amadina	32.7-39.9	19.7-23.9	40.3-45.4
Avocet-Parula	33.8-45.7	19.3-27.0	34.3-41.2
Avocet-Tonichi	37.7-43.7	16.6-26.2	35.5-42.2
Avocet-Pavón	37.4-47.6	17.2-24.5	33.0-41.2
General	32.7-47.6 %	15.1-27.1 %	32.2-46.9 %

**PM:** Proteínas Monoméricas; **PPS:** Proteínas Poliméricas Solubles; **PPI:** Proteínas Poliméricas Insolubles

En un contexto general, las PM se relacionaron negativamente con las propiedades de fuerza de gluten y extensibilidad de la masa (Cuadro 3); es decir, a mayor proporción de PM presentes, existe una menor fuerza de gluten y una mayor extensibilidad en la masa. Suchy *et al.* (2007) encontraron asociaciones negativas altamente significativas de las PM contra seis parámetros de calidad evaluados en Mixógrafo y cuatro en Farinógrafo, lo cual confirma lo expuesto anteriormente. Hu *et al.* (2007) reportaron relaciones positivas y altamente significativas entre las PM y la extensibilidad, área de extensión y longitud de extensión, tres parámetros evaluados en la elaboración de tallarines.

Las PPI presentaron relaciones positivas y altamente significativas con parámetros de fuerza de gluten en Mixógrafo, Mixolab y Alveógrafo (Cuadro 3).

**Cuadro 3.3.** Coeficientes de correlación de Pearson entre parámetros de calidad y proporciones de proteína.

	%MP	%PPS	%PPI
DURGRN	0.15	-0.17	-0.01
PROTREF (%)	-0.09	0.17	-0.05
Sedim-SDS (mL)	0,03	-0.23*	0.16
MIXTD (min)	-0.20*	-0.24*	0.41**
%Tq/min	-0,28**	-0.18	0.44**
TD-Mxlb (min)	-0.14	-0.23*	0.33**
Est-Mxlb (min)	-0.07	-0.45**	0.44**
Tq C1 (Nm)	-0.10	0.31**	-0.15
Tq C2 (Nm)	-0.19	0.20*	0.03
AlvW (10 <sup>-4</sup> J)	-0.31**	-0.12	0.41**
AlvP/L	-0.21*	0.09	0.13

**DURGRN:** Dureza del grano; **PROTREF:** Proteína en harina refinada; **Sedim-SDS:** Sedimentación en harina; **MIXTD:** Tiempo de desarrollo de la masa (Mixógrafo); **%Tq/min:** Torque al tiempo de desarrollo (Mixógrafo); **TD-Mxlb:** Tiempo de desarrollo (Mixolab); **Est-Mxlb:** Estabilidad de la masa (Mixolab); **AlvW:** Fuerza general del gluten (Alveógrafo); **AlvP/L:** Relación tenacidad/extensibilidad (Alveógrafo); **PM:** Proteínas Monoméricas; **PPS:** Proteínas Poliméricas Solubles; **PPI:** Proteínas Poliméricas Insolubles.

\*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ .

Al respecto, Gupta *et al.* (1992) y Wang *et al.* (2002) obtuvieron relaciones altamente significativas, en el primer estudio con el conjunto de gluteninas (solubles e insolubles) y en el segundo con la fracción PPI, ambos estimaron la asociación con parámetros de fuerza evaluados en Mixógrafo, Farinógrafo y Alveógrafo; además, Gupta *et al.*, (1992) encontraron altas correlaciones con volumen de pan elaborado por los métodos de fermentación de tiempo corto y tiempo largo.

Mediante un análisis de regresión se estimó el porcentaje de explicación atribuido a las fracciones de proteína sobre cada uno de los parámetros de calidad. La regresión simple mostró que las PM explican 33.0 % de la PROTREF y 14.0 % del %Tq/min, pero las PPI explican el 37.9 % de PROTREF, 20.4 % de Sedim-SDS y 27.9 % de AlvW (Cuadro 4). Se observó una mayor influencia de las PPI en la contribución de la explicación y predicción de parámetros de calidad en comparación con las PM; sin embargo, en el análisis acumulativo

destaca la interacción de las tres fracciones de proteína explicando el 30.2 %, 35.8 % y 35.1 % de MIXTD, %Tq/min y AlvW respectivamente (Cuadro 4). Este tipo de análisis resulta muy útil en la elaboración de modelos matemáticos para la predicción de variables o parámetros reológicos de calidad.

**Cuadro 3.4.** Análisis de regresión simple y múltiple de las fracciones de proteína extraída contra los parámetros de calidad evaluados.

	Regresión simple			Regresión Múltiple Acumulado
	PM	PPS	PPI	
DURGRN	0	3.1	0	MP+PPS = 5.7
PROTREF	33.0	42.8	37.9	MP+PPS+PPI = 55.3
Sedim-SDS	11.2	0	20.4	PPI = 20.4
MIXTD	7.7	8.2	0	MP+PPS+PPI = 30.2
%Tq/min	14.0	4.6	5.8	MP+PPS+PPI = 35.8
AlvW	0	0	27.9	MP+PPS+PPI = 35.1
AlvP/L	0	0	0	0

**DURGRN:** Dureza del grano; **PROTREF:** Proteína en harina refinada; **Sedim-SDS:** Sedimentación en harina; **MIXTD:** Tiempo de desarrollo de la masa (Mixógrafo); **%Tq/min:** Torque al tiempo de desarrollo (Mixógrafo); **AlvW:** Fuerza general del gluten (Alveógrafo); **AlvP/L:** Relación tenacidad/extensibilidad (Alveógrafo); **PM:** Proteínas Monoméricas; **PPS:** Proteínas Poliméricas Solubles; **PPI:** Proteínas Poliméricas Insolubles

En las líneas evaluadas se encontraron variaciones para los loci *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* y *Glu-B3*. El Cuadro 5 presenta una comparación de medias del valor de las variantes alélicas encontradas en cada locus en relación con las fracciones de proteína extraída. Se observa que en el locus *Glu-A1* el alelo 2\* se asocia con mayor proporción de PM y el alelo nulo con mayor contenido de PPI. En el locus *Glu-B1* los alelos 7+8 y 17+18 no mostraron diferencia significativa en las medias de las proporciones de proteína extraída.

El locus *Glu-D1* arrojó valores similares entre alelos para la fracción de PM, mientras que la presencia de 5+10 mostró una proporción ligeramente mayor de PPI. Para el locus

*Glu-B3* se encontraron 3 variantes alélicas, destacando la presencia del alelo *h* con mayor proporción de PM, y el alelo *g* con mayor proporción de PPI; sin embargo, los alelos *b* y *g* dentro de una población no arrojaron diferencias significativas entre sus medias para PM y PPS.

De la O *et al.* (2010) no encontraron para el locus *Glu-A1* (alelos 1 y 2\*) diferencias entre sus medias para la fracción rica en gliadinas, pero la presencia del alelo 2+12 (*Glu-D1*) indujo una mayor cantidad de gliadinas; así mismo, para la fracción rica en glutenina, los alelos encontrados en el locus *Glu-A1* no fueron diferentes de manera significativa; sin embargo, para el locus *Glu-D1*, la mayor cantidad de gluteninas correspondió a los genotipos con el alelo 5+10. En presencia de *Glu-A3c* y *Glu-B3h* se presentó un mayor contenido de la fracción rica en gliadina.

**Cuadro 3.5.** Comparación de medias por locus en las fracciones de proteína extraída.

Locus	Alelo	Fracciones de proteína		
		% PM	% PPS	% PPI
<i>Glu-A1</i>	0	40.04b	20.69a	39.25a
	2*	41.28a	21.02a	37.69b
<i>Glu-B1</i>	7+8	40.08a	20.79a	39.11a
	17+18	40.50a	20.71a	38.77a
<i>Glu-D1</i>	2+12	40.24a	21.14a	38.60b
	5+10	40.15a	20.32b	39.52a
<i>Glu-B3</i>	b	39.60b	20.87b	39.52a
	h	41.60a	21.37a	37.01b
	g	40.59ab	19.06c	40.33a

**PM:** Proteínas Monoméricas; **PPS:** Proteínas Poliméricas Solubles; **PPI:** Proteínas Poliméricas Insolubles

Medias con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales (DMS, 0.05)

El Cuadro 6 presenta un análisis de correlación de Pearson donde se observa la asociación entre las proporciones de proteína y los parámetros de calidad evaluados, desglosando por cada una de las variantes alélicas encontradas en las poblaciones estudiadas. Se encuentran relaciones negativas significativas y altamente significativas para la fracción PM para el caso de los alelos 0, 2\* (*Glu-A1*); 7+8 (*Glu-B1*); 2+12 y 5+10 (*Glu-D1*); b y g (*Glu-B3*). Estas relaciones se presentaron en Sedim-SDS y parámetros evaluados en Mixógrafo, Mixolab y Alveógrafo dependiendo del efecto individual de cada alelo. Para la fracción de PPI también se encontraron relaciones positivas, en su mayoría altamente significativas con parámetros de fuerza de gluten, como en el caso de los alelos 0 (*Glu-A1*); 7+8 y 17+18 (*Glu-B1*); 2+12 y 5+10 (*Glu-D1*); b y g (*Glu-B3*); su presencia dependió del efecto de cada uno de los alelos.

Se obtuvieron ocho combinaciones alélicas de los loci *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* y *Glu-B3* (Cuadro 7). Con referencia a PM destaca la combinación alélica 2 al tener correlaciones negativas y altamente significativas con parámetros de Mixógrafo; de la misma forma, la combinación 3 correlacionó con AlvW y la 7 con parámetros de Mixolab. Para el caso de las correlaciones encontradas con la PPI las agrupaciones alélicas 1 y 7 presentaron mayor número de correlaciones significativas con parámetros de fuerza; sin embargo, las combinaciones 2, 6 y 7 sobresalen al presentar correlaciones altamente significativas con la extensibilidad de la masa. Sólo se presentó un caso (8) donde no se encontró correlación significativa de las fracciones de proteína con los parámetros de calidad. De la O *et al.* (2010) concluyeron que para mejorar la cantidad de proteínas del gluten lo ideal sería encontrar genotipos con las combinaciones de alelos 2\* 17+18 5+10/ *Glu-A3c*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b* y 1 17+18 5+10/ *Glu-A3e*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b*.

La caracterización de proteínas de alto y bajo peso molecular, el fraccionamiento de las principales proteínas presentes en el grano de trigo, el análisis de sus combinaciones, el efecto de éstas dentro de la crusa y su efecto sobre parámetros importantes de determinación de la calidad, constituye sin duda una importante herramienta con gran potencial en el fitomejoramiento para realizar cruzamientos dirigidos y para agilizar y efectuar una selección mas eficiente para obtener líneas con genotipos de calidad de acuerdo con su uso y demanda específica.

**Cuadro 3.6.** Correlaciones entre parámetros evaluados y las fracciones de proteína extraídas, agrupado por variantes alélicas (\* P ≤ 0.05, \*\* P ≤ 0.01)

Fracción	Locus	Alelo	PROTREF	Sedim-	MIXTD	%Tq/mn	TD-Mxlb	Est-Mxlb	Tq C1	Tq C2	AlvW	AlvP/L
% PM		0	-0.14	-0.10	-0.17	-0.23*	-0.18	-0.07	-0.12	-0.15	-0.29**	-0.20*
		2*	-0.01	0.50**	0.12	0.00	-0.15	-0.02	-0.02	-0.06	-0.09	-0.13
% PPS	<i>Glu-A1</i>	0	0.17	-0.24*	-0.28**	-0.24*	-0.20*	-0.46**	0.29**	0.13	-0.19	0.06
		2*	0.11	-0.31	-0.18	-0.02	-0.38*	-0.30	0.44*	0.47*	0.09	0.30
% PPI		0	-0.01	0.31**	0.42**	0.45**	0.36**	0.48**	-0.14	0.04	0.47**	0.14
		2*	-0.08	-0.34	0.01	0.01	0.14	0.26	-0.33	-0.31	0.04	-0.08
% PM		7+8	-0.19	-0.11	-0.27*	-0.42**	-0.20	-0.08	-0.15	-0.25*	-0.41**	-0.19
		17+18	0.18	0.27	-0.07	0.02	-0.04	-0.04	-0.04	-0.08	-0.10	-0.25
% PPS	<i>Glu-B1</i>	7+8	0.25*	-0.20	-0.24*	-0.13	-0.24*	-0.52**	0.40**	0.25*	-0.10	0.12
		17+18	-0.05	-0.31	-0.25	-0.29	-0.19	-0.24	0.16	0.08	-0.16	0.06
% PPI		7+8	-0.02	0.26*	0.45**	0.51**	0.38**	0.49**	-0.18	0.04	0.47**	0.09
		17+18	-0.17	-0.04	0.32*	0.25	0.23	0.28	-0.10	0.02	0.28	0.24
%PM		2+12	-0.12	0.02	-0.24	-0.36**	-0.26*	-0.18	-0.04	-0.09	-0.19	-0.06
		5+10	-0.07	0.04	-0.21	-0.28*	-0.03	0.04	-0.21	-0.30*	-0.45**	-0.34*
%PPS	<i>Glu-D1</i>	2+12	0.13	-0.19	-0.18	-0.08	-0.05	-0.28*	0.19	0.07	0.10	0.07
		5+10	0.14	-0.25	-0.21	-0.16	-0.33*	-0.58**	0.52**	0.39**	-0.03	0.22
%PPI		2+12	0.01	0.14	0.40**	0.43**	0.31*	0.42**	-0.12	0.03	0.28*	0.00
		5+10	-0.04	0.15	0.39**	0.44**	0.30*	0.43**	-0.19	0.01	0.51**	0.19
% PM		b	-0.09	-0.06	-0.22	-0.29*	-0.25*	-0.08	-0.06	-0.17	-0.31**	-0.07
		h	0.06	0.12	0.11	0.03	0.18	0.15	-0.11	-0.08	0.08	0.03
		g	-0.36	0.40	-0.55*	-0.57*	-0.19	0.08	-0.54*	-0.47	-0.36	-0.80**
% PPS	<i>Glu-B3</i>	b	0.26*	-0.07	0.26*	-0.19	-0.22	-0.47**	0.35**	0.27*	0.00	0.10
		h	-0.18	-0.36*	-0.21	-0.13	-0.33	-0.30	0.20	0.15	-0.30	0.01
		g	0.33	-0.51*	0.10	0.14	0.01	-0.39	0.51*	0.30	-0.14	0.36
% PPI		b	-0.10	0.12	0.43**	0.45**	0.43**	0.45**	-0.20	-0.03	0.32**	-0.01
		h	0.11	0.21	0.08	0.10	0.11	0.11	-0.07	-0.05	0.20	-0.05
		g	-0.05	0.25	0.49*	0.45	0.21	0.45	-0.08	0.12	0.59*	0.40

**Cuadro 3.7.** Correlaciones entre parámetros de calidad y fracciones de proteína analizada por combinación alélicas.  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$

Núm.	Combinación	n	Fracción	PROTREF	SedimSDS	MIXTD	%Tq/min	TD-Mxlb	Est-Mxlb	Tq C1	Tq C2	AlvW	AlvP/L
1	0 7+8 2+12 cbb	28	PM	-0.11	-0.15	-0.02	-0.22	-0.14	-0.11	-0.18	-0.20	-0.22	-0.10
			PPS	0.33	-0.12	-0.42*	-0.25	-0.33	-0.41*	0.37*	0.25	0.04	0.10
			PPI	-0.17	0.25	0.38*	0.44*	0.42*	0.46**	0.12	0.00	0.20	0.02
2	0 7+8 2+12 chb	8	PM	-0.41	-0.43	-0.88**	-0.85**	-0.31	-0.57	0.10	-0.22	-0.42	0.42
			PPS	-0.22	-0.10	0.38	0.34	-0.46	-0.01	0.42	0.47	0.07	0.45
			PPI	0.53	0.47	0.56	0.57	0.60	0.54	-0.38	-0.11	0.34	-0.70*
3	0 7+8 5+10 cbb	17	PM	-0.38	-0.18	-0.27	-0.41	-0.07	0.15	-0.18	-0.32	-0.51*	-0.25
			PPS	0.19	0.04	-0.18	-0.07	-0.11	-0.73**	0.49*	0.50*	0.08	0.20
			PPI	0.25	0.17	0.42	0.49*	0.16	0.39	-0.18	-0.04	0.48*	0.12
4	0 7+8 5+10 chb	7	PM	-0.08	-0.16	0.38	0.43	0.68*	0.60	-0.55	-0.63	-0.10	-0.37
			PPS	0.70*	-0.34	-0.49	-0.56	-0.91**	-0.82**	0.91**	0.60	-0.18	-0.02
			PPI	-0.49	0.49	-0.07	-0.08	-0.11	-0.08	-0.05	0.30	0.25	0.45
5	0 17+18 2+12 cbb	5	PM	-0.46	-0.44	0.63	0.71	-0.48	-0.59	0.51	0.45	0.19	0.34
			PPS	0.08	-0.14	-0.82*	-0.82*	0.56	0.75*	-0.87**	-0.85*	-0.51	-0.58
			PPI	0.48	0.57	-0.34	-0.42	0.29	0.32	-0.18	-0.12	0.02	-0.13
6	0 17+18 5+10 cbb	7	PM	0.05	-0.14	0.09	0.46	-0.14	-0.06	0.22	0.19	-0.32	0.30
			PPS	-0.45	-0.12	-0.56	-0.76*	-0.32	-0.27	0.25	0.18	-0.07	0.33
			PPI	0.40	0.33	0.45	0.12	0.53	0.36	-0.58	-0.46	0.54	-0.77*
7	2* 7+8 2+12 cbb	8	PM	0.03	0.41	-0.36	0.33	-0.68*	-0.64*	0.57	0.54	0.38	0.35
			PPS	-0.17	-0.35	0.39	0.11	0.18	-0.01	0.23	0.29	0.02	0.40
			PPI	0.09	-0.20	0.11	-0.45	0.63*	0.72*	-0.81**	-0.82**	-0.45	-0.69*
8	2* 17+18 5+10 chb	4	PM	0.14	0.34	0.35	0.45	0.26	0.28	0.04	0.11	0.12	-0.19
			PPS	-0.20	0.77	-0.18	-0.28	-0.28	-0.18	0.00	-0.24	-0.23	-0.56
			PPI	-0.04	0.11	-0.34	-0.40	-0.15	-0.24	-0.06	0.03	0.01	0.67

### **3.6 Conclusiones**

Se obtuvieron medias generales de 42 % en PM, 20.4 % de PPS y 37.5 % de PPI, las cuales cambian de acuerdo con la crusa o la variación alélica particular del genotipo. El análisis de regresión demostró que la determinación de la distribución de fracciones de proteína constituye una herramienta complementaria en fitomejoramiento al predecir más del 30% el comportamiento de parámetros importantes (PROTREF, MIXTD, %Tq/min y AlvW) en la determinación de la calidad potencial de uso del trigo.

La proporción de las principales fracciones de proteína presentes en el trigo y su influencia sobre importantes características de calidad, es afectada por el genotipo tanto a nivel de variación alélica individual como en combinación de diferentes alelos.

Se confirma la influencia de las PM sobre parámetros de extensibilidad de la masa y las PPI sobre parámetros de fuerza de gluten.

### **Agradecimientos**

Al equipo del Laboratorio de Química y Calidad de Cereales de CIMMYT y a la colaboración conjunta de investigadores de CIMMYT-COLPOS.

### 3.7 Bibliografía

- AACC (2000)** Approved Methods of the AACC. 10<sup>th</sup> edition. American Association of Cereal Chemists. St. Paul, MN, USA. 1268 p.
- Bean S R, R K Lyne, K A Tilley, O K Chung, G L Lookhart (1998)** A rapid method for quantitation of insoluble polymeric proteins in flour. *Cereal Chemistry* 75:374-379.
- Branlard G, M Dardevet, R Saccomano, F Lagoutte, J Gourdon (2001)** Genetic diversity of wheat storage proteins and bread wheat quality. *Euphytica* 119: 59-67.
- De la O O M, E Espitia R, H E Villaseñor M, J D Molina G, H López S, A Santacruz V, R J Peña B (2010)** Proteínas del gluten y reología de trigos harineros mexicanos influenciados por factores ambientales y genotípicos. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 45: 989-996.
- DuPont F M, R Chan, R López, W H Vensel (2005)** Sequential extraction and quantitative recovery of gliadins, glutenins, and other proteins from small samples of wheat flour. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:1575-1584.
- Figuroa J D C, T Maucher, W Reule, R J Peña (2009)** Influence of high molecular weight glutenins on viscoelastic properties of intact wheat kernel and relation to functional properties of wheat dough. *Cereal Chemistry* 86:139-144.
- Gupta R B, I L Batey, F MacRitchie (1992)** Relationships between protein composition and functional properties of wheat flours. *Cereal Chemistry* 69:125-131.
- Hu X Z, Y M Wei, C Wang, M I P Kovacs (2007)** Quantitative assessment of protein fractions of Chinese wheat flours and their contribution to white salted noodle quality. *Food Research International* 40:1-6.

- Jackson E A, M H Morel, T Sontag-Strohm, G Branlard, E V Metakovsky, R Redaelli (1996)** Proposal for combining the classification systems of alleles of *Gli-1* and *Glu-3* loci in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Genetics and Breeding* 50: 321-336.
- Payne P I, G J Lawrence (1983)** Catalogue of alleles for the complex loci, *Glu-A1*, *Glu-B1*, and *Glu-D1* which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Research Communications* 11: 29-35.
- Peña R J, A Amaya, S Rajaram, A Mujeeb-Kazi (1990)** Variation in quality characteristics associated with some spring 1B/1R translocation wheats. *Journal of Cereal Science* 12:105-112.
- Peña R J, H González-Santoyo, F Cervantes (2004)** Relationship between *Glu-D1/Glu-B3* allelic combinations and bread-making quality-related parameters commonly used in wheat breeding. *In: The Gluten Proteins*. Lafandra D, S Masci and R D'Ovidio (eds.). Special Publication No. 295. Royal Society of Chemistry. Cambridge, U.K. pp: 156–157.
- Pomeranz Y (1978)** *Wheat. Chemistry and Technology*. American Association of Cereal Chemists Inc. St. Paul, Minnesota, USA. 821 p.
- Sapirstein H D, B X Fu (1998)** Intercultivar variation in the quantity of monomeric proteins, soluble and insoluble glutenin, and residue protein in wheat flour and relationships to breadmaking quality. *Cereal Chemistry* 75:500-507.
- Shewry P R, N G Halford (2002)** Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *Journal of Experimental Botany* 53(370):947-958.

**Suchy J, O M Lukow, D Brown, R DePauw, S Fox, G Humphreys (2007)** Rapid assessment of glutenin and gliadin in wheat by UV spectrophotometer. *Crop Science* 47:91-99.

**Uthayakumaran S, P W Gras, F L Stoddard, F Bekes (1999)** Effect of varying protein content and glutenin-to-gliadin ratio on the functional properties of wheat dough. *Cereal Chemistry* 76:389-394.

**Walker A E, C E Walker (2001)** Documentation and user's instructions for mixsmart version 4.0. National Cereal Chemistry Equipment. Lincoln, Nebraska, U.S.A. 150 p.

**Wang C, M I P Kovacs (2002)** Swelling index of glutenin test. II. Application in prediction of dough properties and end-use quality. *Cereal Chemistry* 79:190-196.

**Weegels P L, R J Hamer, J D Schofield (1996)** Critical review: functional properties of wheat glutenin. *Journal of Cereal Science* 23:1-17.

**Williams R M, L O'Brien, H A Eagles, V A Solah, V Jayasena (2008)** The influences of genotype, environment, and genotype  $\times$  environment interaction on wheat quality. *Australian Journal of Agricultural Research* 59:95-111.

#### IV. DISCUSION GENERAL

Las líneas mostraron gran variabilidad en calidad, asociada con la capacidad recombinatoria de los progenitores y a las variantes alélicas encontradas en cada uno de los loci: *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* y *Glu-B3*.

Se observa que para el locus *Glu-A1* las variantes alélicas 0, 1 y 2\* afectan tanto la fuerza como la extensibilidad del gluten. Para las variantes alélicas de *Glu-B1* (7+8 y 17+18) no se detectaron diferencias sobre la mayoría de las características de calidad. Esto último concuerda con lo reportado por De la O *et al.* (2006), quienes encontraron que en trigos de suaves a semi duros, las subunidades 7+8 y 17+18 tienen efectos similares sobre la calidad de panificación y contenido de proteína.

Para las variaciones alélicas del locus *Glu-D1* (2+12 y 5+10) se infiere que cada una contribuye de manera importante a la definición de fuerza y extensibilidad de gluten. Al respecto, Espitia *et al.* (2008) reportaron que la subunidad de G-APM 5+10 tiene una mayor influencia sobre la fuerza del gluten que la variante alélica 2+12, lo cual concuerda con lo encontrado en este estudio

Los alelos del locus *Glu-B3* (alelos *b*, *h*, *g*) ejercen efectos diferenciales significativos para los parámetros de fuerza de gluten; aunque por sí solos, no mostraron tener efectos diferenciales sobre la extensibilidad del gluten (P/L). He *et al.* (2005) estudiaron el efecto de los alelos *b*, *d*, *f* y *j* encontrando diferencias entre estas variantes alélicas de *Glu-B3*, con efectos sobresalientes sobre la calidad de panificación del alelo *Glu-B3b*.

Una comparación de medias para variaciones alélicas dentro de cada locus *Glu-1* y *Glu-B3* sin considerar el cruzamiento, mostró que para *Glu-A1* la presencia de 2\* produjo

menores valores de fuerza de gluten que cuando el alelo 1 estuvo presente. Las subunidades 1 y 2\* no mostraron diferencias significativas con relación al P/L. Para algunos parámetros, la subunidad 2\* no presentó diferencias significativas con la presencia del alelo nulo. Estos resultados confirman lo reportado por Espitia *et al.* (2008) quienes observaron que en presencia del alelo 1 se obtiene un mayor volumen de pan y valores altos de W.

Para el locus *Glu-B1* se observa que los alelos 7+8 y 17+18 sólo presentan un efecto de diferencias significativas para FLRSDS y W. En el caso del locus *Glu-D1*, el alelo 5+10 indujo menor contenido de proteína, mayor fuerza de gluten, mayor tenacidad que 2+12. Branlard *et al.* (2001) reportaron mayor fuerza de gluten para la subunidad 5+10 y en concordancia con esto, Luo *et al.* (2001) recomendaron la incorporación de 5+10 para producir altos volúmenes de sedimentación y mejor calidad de panificación.

En el locus *Glu-B3* se observaron diferencias entre las subunidades *Glu-B3b* y *Glu-B3g* sólo para FLRSDS y MIXTD. El alelo *Glu-B3h* en general, presentó menores valores para los parámetros asociados con fuerza de gluten, y mayor extensibilidad de gluten (P/L). Luo *et al.* (2001) mostraron que la posesión del alelo *Glu-B3b* representa una buena alternativa por incrementar ligera y relativamente las características de calidad de las harinas de panificación. Martínez-Cruz *et al.* (2010), encontraron que la presencia del alelo *h* se asocia con un gluten de mejor extensibilidad.

Entre las seis poblaciones analizadas se encontraron 12 grupos genotípicos con combinaciones de diferentes alelos en *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1*. La comparación de medias reveló que las combinaciones 1 7+8 5+10, 1 17+18 5+10 y 2\* 17+18 5+10 tuvieron la mayor influencia positiva sobre parámetros asociados con fuerza y extensibilidad. Espitia *et al.* (2008) encontraron que las combinaciones 2\* 17+18 5+10 y 1 17+18 5+10 se asocian con

efectos positivos sobre la fuerza del gluten y consecuentemente sobre la calidad panadera, ya que son determinantes en la expresión de las características viscoelásticas del gluten.

Una comparación entre los grupos genotípicos (combinaciones alélicas) encontrados dentro de cada familia mostró que en la cruce Avocet-Attila 2\* 7+8 5+10 mostró las mejores características de fuerza y extensibilidad en toda la población. En Avocet-Pastor 1 17+18 2+12 y 1 17+18 5+10 fueron las combinaciones más destacadas, tanto por buenas características de fuerza como por la mejor extensibilidad dentro de la familia. Avocet-Parula no presentó diferencias en sus grupos genotípicos, a pesar de ello 2\* 7+8 2+12 presentó los mejores valores para parámetros de fuerza de gluten y menor tenacidad. En Avocet-Tonichi la combinación 1 7+8 5+10 resultó ser la mejor, y para el caso de Avocet-Pavón 2\* 17+18 5+10 sobresalió ligeramente de las demás al balancear sus características de fuerza y extensibilidad.

En la extracción por solubilidad de tres fracciones de proteína (fracción rica en gliadina -proteínas monoméricas, PM-; rica en glutenina soluble -proteína polimérica soluble, PPS- y rica en glutenina insoluble -proteína polimérica insoluble, PPI) se obtuvo una media general de 42 % en PM, 20.4% en PPS y 37.5% en PPI. Los resultados obtenidos son muy similares a los reportados en otros estudios (Sapirstein y Fu, 1998; DuPont *et al.*, 2005). También, se encontró variabilidad en la distribución de las fracciones de proteína dentro de cada cruce, Avocet × Pavón posee la mayor proporción de PM y Avocet × Attila de PPI.

En un contexto general, las PM se relacionaron negativamente con las propiedades de fuerza de gluten y extensibilidad de la masa. Suchy *et al.* (2007) encontró asociaciones negativas altamente significativas de las PM contra seis parámetros de calidad evaluados en mixógrafo y cuatro en farinógrafo, lo cual confirma lo expuesto anteriormente. Las PPI

presentaron relaciones positivas y altamente significativas con parámetros de fuerza de gluten en mixógrafo, mixolab y alveógrafo. Al respecto, Gupta *et al.* (1992) y Wang *et al.* (2002) obtuvieron relaciones altamente significativas, en el primer estudio con el conjunto de gluteninas (solubles e insolubles) y en el segundo con la fracción PPI, ambos estimaron la asociación con parámetros de fuerza evaluados en mixógrafo, farinógrafo y alveógrafo; además, Gupta *et al.* (1992) encontraron altas correlaciones con volumen de pan elaborado por los métodos de fermentación de tiempo corto y tiempo largo.

Mediante un análisis de regresión múltiple usado en la estimación del porcentaje de explicación atribuido a las fracciones de proteína sobre cada uno de los parámetros de calidad, destaca la interacción de las tres fracciones de proteína explicando el 30.2%, 35.8% y 35.1% de MIXTD, %Tq/min y W, respectivamente. Este tipo de análisis resulta muy útil en la elaboración de modelos matemáticos para la predicción de variables o parámetros reológicos de calidad.

Se observa que en el locus *Glu-A1* el alelo 2\* se asocia con mayor proporción de PM y el alelo nulo con mayor contenido de PPI. En el locus *Glu-B1* los alelos 7+8 y 17+18 no mostraron diferencia significativa en las medias de las proporciones de proteína extraída. El locus *Glu-D1* arrojó valores similares entre alelos para la fracción de PM, mientras que la presencia de 5+10 mostró una proporción ligeramente mayor de PPI. Para el locus *Glu-B3* se encontraron 3 variantes alélicas, destacando la presencia del alelo *h* con mayor proporción de PM, y el alelo *g* con mayor proporción de PPI; sin embargo, los alelos *b* y *g* dentro de una población no arrojaron diferencias significativas entre sus medias para PM y PPS.

Se encuentran relaciones negativas significativas y altamente significativas para la fracción PM para el caso de los alelos 0, 2\* (*Glu-A1*); 7+8 (*Glu-B1*); 2+12 y 5+10 (*Glu-D1*); *b* y *g* (*Glu-B3*). Estas relaciones se presentaron en FLRSDS y parámetros evaluados en

mixógrafo, mixolab y alveógrafo dependiendo del efecto individual de cada alelo. Para la fracción de PPI también se encontraron relaciones positivas, en su mayoría altamente significativas con parámetros de fuerza de gluten, como en el caso de los alelos 0 (*Glu-A1*); 7+8 y 17+18 (*Glu-B1*); 2+12 y 5+10 (*Glu-D1*); b y g (*Glu-B3*); su presencia dependió del efecto de cada uno de los alelos.

Se obtuvieron ocho combinaciones alélicas de los loci *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* y *Glu-B3*. Con referencia a PM destaca la combinación alélica 0 7+8 2+12 chb al tener correlaciones negativas y altamente significativas con parámetros de mixógrafo; de la misma forma, la combinación 0 7+8 5+10 chb correlacionó con W y 2\* 7+8 2+12 cbb con parámetros de mixolab. Para el caso de las correlaciones encontradas con la PPI las agrupaciones alélicas 0 7+8 2+12 cbb y 2\* 7+8 2+12 cbb presentaron mayor número de correlaciones significativas con parámetros de fuerza.

La caracterización de proteínas de alto y bajo peso molecular, el fraccionamiento de las principales proteínas presentes en el grano de trigo, el análisis de sus combinaciones, el efecto de éstas dentro de la craza y su efecto sobre parámetros importantes de determinación de la calidad, constituye sin duda una importante herramienta con gran potencial en el fitomejoramiento para realizar cruzamientos dirigidos y para agilizar y efectuar una selección mas eficiente para obtener líneas con genotipos de calidad de acuerdo con su uso y demanda específica.

## V. CONCLUSIONES GENERALES

Se encontraron diferencias para los efectos de algunas variantes alélicas sobre la expresión de la calidad. Destaca la presencia de la subunidad 5+10 (*Glu-D1*) al conferir mayor fuerza de gluten, a la vez que en presencia de la subunidad 2+12 (*Glu-D1*) también se encontraron características de fuerza y extensibilidad aceptable; sin embargo, a esta última subunidad se le atribuye la capacidad de contrarrestar características como fuerza excesiva atribuida por otras subunidades alélicas dentro de sus combinaciones.

En la presencia de las subunidades 7+8 y 17+18 (*Glu-B1*) se encontraron efectos similares sobre la calidad. La presencia de las variantes *Glu-B3b*, *Glu-B3 g* y *Glu-B3 h* induce un efecto similar en las dos primeras confiriendo ligera fuerza, y la última confiriendo mayor extensibilidad.

El análisis de las combinaciones alélicas y el efecto de éstas dentro de sus cruzas pudiera tener gran potencial como herramienta clave en el fitomejoramiento, sin embargo, esto sólo contribuye parcialmente a definir las características visco-elásticas y la calidad de panificación.

El fraccionamiento de las principales proteínas de reserva se postula como importante herramienta que complementa la explicación del complejo comportamiento de la calidad del trigo.

La distribución de las fracciones de proteína encontradas (fracciones ricas en compuestos monoméricos, poliméricos solubles y poliméricos insolubles) corresponde con lo reportado en investigaciones anteriores. Estas fracciones incorporadas en una ecuación de regresión demostraron ser capaces de predecir en más de un 30% el comportamiento de parámetros importantes de calidad como FLRPRO, MIXTD , %Tq/min y W.

La proporción de las fracciones de proteína es afectada por la variabilidad alélica, además de encontrar influencia de las proteínas monoméricas sobre parámetros de extensibilidad de la masa y las proteínas poliméricas insolubles sobre parámetros de fuerza de gluten.

## VI. LITERATURA CITADA GENERAL

- Branlard, G., M. Dardevet, R. Saccomano, F. Lagoutte, and J. Gourdon. 2001 Genetic diversity of wheat storage proteins and bread wheat quality. *Euphytica* 119: 59-67.
- De la O O., M., E. Espitia R., H. E. Villaseñor M., J. D. Molina G., H. López S., A. Santacruz. V., y R. J. Peña B. 2010. Proteínas del gluten y reología de trigos harineros mexicanos influenciados por factores ambientales y genotípicos. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 45: 989-996.
- DuPont, F. M., R. Chan, R. López, and W. H. Vensel. 2005. Sequential extraction and quantitative recovery of gliadins, glutenins, and other proteins from small samples of wheat flour. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:1575-1584.
- Espitia R., E, E, Martínez C., R, J, Peña B., H, E, Villaseñor M., y J. Huerta E. 2008. Polimorfismo de gluteninas de alto peso molecular y su relación con trigos harineros para temporal. *Agricultura Técnica en México* 34: 57-67.
- Gupta, R. B., I. L. Batey, and F. MacRitchie. 1992 Relationships between protein composition and functional properties of wheat flours. *Cereal Chemistry* 69:125-131.
- He, Z. H., L. Liu, X. C. Xia, J. J. Liu, and R. J. Peña. 2005. Composition of HMW and LMW glutenin subunits and their effects on dough properties, pan bread, and noodle quality of Chinese bread wheats. *Cereal Chemistry* 82: 345-350.
- Luo, C., W. B. Griffin, G. Branlard, and D. L. McNeil. 2001. Comparison of low- and high molecular- weight wheat glutenin allele effects on flour quality. *Theoretical and Applied Genetics* 102: 1088-1098.

- Martínez-Cruz, E., E. Espitia-Rangel, H. E. Villaseñor-Mir, J. D. Molina-Galán, I. Benítez-Riquelme, A. Santacruz-Varela, y R. J. Peña-Bautista. 2010. Diversidad genética de gluteninas y gliadinas en trigos harineros (*Triticum aestivum* L.) mexicanos. *Agrociencia* 44: 187-195.
- Payne, P. I., L. M. Holt, E. A. Jackson, and C. N. Law. 1984. Wheat storage proteins: their genetics and their potential for manipulation by plant breeding. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 304(1120): 359-371.
- Peña B., R. J., P. Pérez H., E. Villaseñor Mir., M. M. Gómez V., M. A. Mendoza L. y R. Monterde G. 2007. Calidad de la cosecha del trigo en México. Ciclo otoño-invierno 2005-2006. Publicación Especial del CONASIST. México, D.F. 25 p.
- Sapirstein, H. D. and B. X. Fu. 1998. Intercultivar variation in the quantity of monomeric proteins, soluble and insoluble glutenin, and residue protein in wheat flour and relationship to breadmaking quality. *Cereal Chemistry* 75: 500-507.
- Shewry, P. R., and N. G. Halford. 2002. Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *Journal of Experimental Botany* 53(370):947-958.
- Suchy, J., O. M. Lukow, D. Brown, R. DePauw, S. Fox, and G. Humphreys. 2007. Rapid assessment of glutenin and gliadin in wheat by UV spectrophotometer. *Crop Science* 47:91-99.
- Wang, C. and M. I. P. Kovacs. 2002. Swelling index of glutenin test. II. Application in prediction of dough properties and end-use quality. *Cereal Chemistry* 79:190-196.
- Weegels, P. L., R. J. Hamer, and J. D. Schofield. 1996. Functional properties of wheat glutenin. *Journal of Cereal Science* 23: 1-17.