



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN
EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GENÉTICA

**EFFECTO DEL GENOTIPO, EL AMBIENTE Y SU
INTERACCIÓN SOBRE LA CALIDAD INDUSTRIAL
DE TRIGOS HARINEROS MEXICANOS**

MICAELA DE LA O OLÁN

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

DOCTORA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

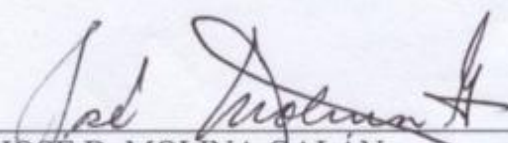
2 0 1 0

La presente tesis titulada: **EFFECTO DEL GENOTIPO, EL AMBIENTE Y SU INTERACCIÓN SOBRE LA CALIDAD INDUSTRIAL DE TRIGOS HARINEROS MEXICANOS** realizada por la alumna: **MICAELA DE LA O OLÁN**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GENÉTICA**


CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



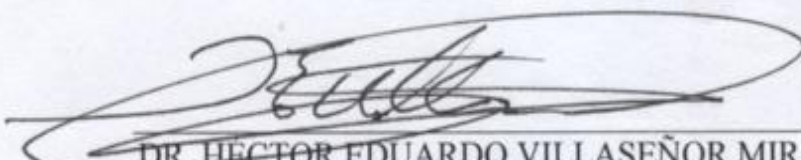
DR. JOSÉ D. MOLINA GALÁN

DIRECTOR DE TESIS:




DR. EDUARDO ESPITIA RANGEL

ASESOR:



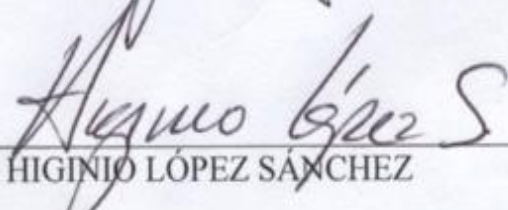
DR. HÉCTOR EDUARDO VILLASEÑOR MIR

ASESOR:



DR. ROBERTO JAVIER PEÑA BAUTISTA

ASESOR:



DR. HIGINIO LÓPEZ SÁNCHEZ

EFFECTO DEL GENOTIPO, EL AMBIENTE Y SU INTERACCIÓN SOBRE LA CALIDAD INDUSTRIAL DE TRIGOS HARINEROS MEXICANOS

Micaela de la O Olán, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2010.

El contenido de proteína en el grano de trigo varía ampliamente (8-20 % en base seca) y es determinado por factores genéticos, por el ambiente, incluidas las prácticas culturales, y por la interacción genotipo-ambiente; por ello el objetivo de esta investigación fue determinar las combinaciones alélicas de gluteninas de alto (APM) y bajo peso molecular (BPM), conocer el efecto de algunos factores agro-ambientales y estudiar la estabilidad que confieren las combinaciones alélicas sobre las propiedades reológicas de la masa, cantidad y relación de fracción rica en gliadina/fracción rica en glutenina en variedades de trigo harinero. En una primera etapa se evaluaron diez variedades de trigos harineros mexicanos en 22 ambientes de temporal en los estados de México, Tlaxcala, Jalisco, Oaxaca, Puebla, Guanajuato, Morelos y Querétaro, durante los ciclos P-V/1999 y 2000, y en una segunda etapa se evaluaron 24 líneas de la cruza Rebeca F200 × Verano S91 en cinco condiciones ambientales generadas mediante manejo agronómico (riego, fertilización, aplicación de azufre y fecha de siembra) en el ciclo O-I/2006-2007 en Roque, Gto., Méx., empleando un diseño experimental de bloques completos al azar con dos repeticiones. Se evaluaron las propiedades reológicas de la masa, el tiempo de amasado, alveograma-W, alveograma P/L y alveograma-P/G, fracción rica en gliadina, fracción rica en glutenina, y la relación de la fracción rica en gliadina/fracción rica en glutenina, Se encontraron diferencias altamente significativas en todas las propiedades viscoelásticas para las combinaciones de G-APM y BPM. La estimación de los parámetros de estabilidad mostró que la combinación 1,17+18,5+10 fue la más estable sobre las propiedades reológicas de la masa, siendo deseable para la industria mecanizada. El genotipo y el ambiente afectaron de manera significativa las variables de calidad de la masa, así como las fracciones ricas en glutenina y gliadina, y su relación. La mayoría de los caracteres de calidad mostraron una tendencia lineal a través de los ambientes.

Palabras clave: *Triticum aestivum* L., gluteninas de alto y bajo peso molecular, gliadinas, contenido de proteína.

EFFECT OF GENOTYPE, ENVIRONMENT AND THEIR INTERACTION ON THE INDUSTRIAL QUALITY OF MEXICAN BREAD WHEATS

Micaela de la O Olán, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2010.

The protein content in wheat grain varies widely (8-20% dry basis) and it is determined by genetic factors, the environment, including cultural practices and the genotype-environment interaction, hence the objective of this investigation was to determine the allelic combinations of high (APM) and low molecular weight (BPM) glutenins, to know the effect of some agro-environmental factors and to study the stability conferred by allelic combinations on the rheological properties of the dough, quantity and relation of gliadins/glutenin in bread wheat varieties. In the first phase ten varieties of Mexican bread wheat were evaluated in 22 rainfed environments in the states of Mexico, Tlaxcala, Jalisco, Oaxaca, Puebla, Guanajuato, Morelos, Queretaro, during the Spring-Summer/1999 and 2000 cycles, and in a second stage 24 lines of the cross Rebecca F200 × Verano S91 were evaluated in five environmental conditions as generated by agronomic management (irrigation, fertilization, application of sulfur and planting date) during the Fall-Winter/2006-2007 cycle in Roque, Gto., Mex., using a randomized complete blocks experimental design with two replications. Rheological properties of the dough, kneading time, W-alveogram, P/L-alveogram, P/G-alveogram, glutenin-rich fraction, gliadin-rich fraction and the gliadin-rich fraction/glutenin-rich fraction ratio were evaluated. Highly significant differences were found in all the viscoelastic properties for G-APM and BPM combinations. The estimate of the stability parameters showed that the 1,17+18,5+10 combination was the most stable one on rheological properties of dough, being preferred for the mechanized industry. Both the genotype and environment significantly affected the quality parameters of the dough and the glutenin- and gliadin-rich fractions and their ratio. Most quality characters showed a linear trend across environments.

Key words: *Triticum aestivum* L., high and low molecular weight glutenins, gliadins, protein content.

AGRADECIMIENTOS

- A *Dios* por prestarme la vida y por hacer que culminara mis estudios de doctorado.
- Al *Colegio de Postgraduados* por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios.
- Al *Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)* por el financiamiento otorgado para la realización de la presente investigación.
- Al *Dr. José Domingo Molina Galán* del cual me siento orgullosa por ser profesor emérito. Por su enseñanza e incontable apoyo durante el proceso de mi formación académica, por las apropiadas sugerencias y por aceptar participar como Consejero durante la estancia en mis estudios de doctorado.
- Al *Dr. Eduardo Espitia Rangel* por su valioso apoyo en la dirección y realización de la presente tesis, además por brindarme la oportunidad de aprender a su lado. Muchas gracias de todo corazón por confiar en mí para pertenecer al personal investigador del INIFAP.

- Al *Dr. Amalio Santacruz Varela*, mi más sincero agradecimiento por ser una valiosa persona como profesor y amigo, por apoyarme en todo momento, por su confianza, así como por transmitirme y enseñarme cosas nuevas, principalmente por su apoyo incondicional en la realización y revisión de la presente tesis.
- Al *Dr. Higinio López Sánchez*, por ser no solo un gran académico, si no también un gran amigo.
- Al *Dr. Héctor Eduardo Villaseñor Mir*, por su amistad, por sus consejos, por su apoyo incondicional en la realización de la fase de campo y conducción de los experimentos.
- Al *Dr. Roberto Javier Peña Bautista*, por sus atenciones, enseñanza, observaciones, sugerencias y apoyos brindados durante la fase de laboratorio.
- Al *Dr. Ignacio Benitez Riquelme*, por ser la persona que siempre quiso formar parte de mi consejo y aceptó ser mi sinodal.
- A mis amigas *Lorena, Maria José, Yolita, Aremy, Sandra, Wonne, Azucena Isabel, florecita y Guillermina* y amigos: *Dr.*

Leobigildo, Juanito semillas, Angel, César, Rocandio, Agustín,

Pablo por su gran amistad.

- Al personal de Recursos Genéticos del INIFAP: *Victor, Panchito, Lalo, Rodo, Arturo, Gervasio, Miguel, etc.* por su gran ayuda en el programa, principalmente al *Dr. Juan Manuel Hernández Casillas* por la paciencia que me ha brindado y por ser un gran cuate.
- A los trabajadores del programa de trigo del INIFAP: *Carlos Márquez, Adrián, Mario, Héctor* y otras personas eventuales; por los apoyos brindados en la fase de campo.
- Al personal del Laboratorio de Calidad de Trigo del CIMMYT: *Héctor, Orlando, Don Joaquín, Fausto, Nayely, Arturo y Yolo,* por la enseñanza y apoyos brindados durante la fase de laboratorio.
- A las secretarias *Yolanda (cp), Dalila (cp), Claudia (inifap)* y *Judith* por sus apoyos en todo momento.
- A la *Sra. Ma. Dolores Trujano* por ser mi gran nana.

DEDICATORIA

Al Dios con mucho amor y cariño, por darme la vida y permitir que culminara mis estudios.

Al mi hijo, Marcos con muchísimo amor y cariño porque es el ser más valiosos para mí en este mundo, ya que es la alegría de mi vida y es mi fuente de inspiración a seguir adelante.

Al mis padres: Candelaria y Marcos, por permitir que de su amor tan grande yo naciera, por sus cuidados y apoyo en gran parte de mi vida.

Al mis hermanos, Araceli, Natividad, Carmen, Luis Miguel y Marco Antonio por los momentos de apoyo moral para continuar.

Al mis abuelitos: Tomás, Juan, Elvia y Concepción, por ser parte de mí y por sus consejos.

Al un gran amigo, el ya sabe a quién me refiero, por llenar de alegría y momentos felices en mi vida.

CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN GENERAL_____	1
II. ESTABILIDAD A TRAVÉS DE AMBIENTES DE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS DE TRIGOS HARINEROS DE TEMPORAL EN FUNCIÓN DE SUS COMBINACIONES DE GLUTENINAS DE ALTO PESO MOLECULAR_____	9
2.1. Resumen_____	10
2.2. Summary_____	11
2.3. Introducción_____	12
2.4. Materiales y métodos_____	14
2.5. Resultados y discusión_____	17
2.6. Conclusiones_____	20
2.7. Agradecimientos_____	20
2.8. Bibliografía_____	21
III. INFLUENCIA DE FACTORES AGRO-AMBIENTALES Y GENOTÍPICOS SOBRE LA DISTRIBUCIÓN DE LAS PROTEÍNAS DEL GLUTEN, Y LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS DE LÍNEAS RECOMBINANTES DE TRIGOS HARINEROS MEXICANOS_____	28
3.1. Resumen_____	29
3.2. Introducción_____	30
3.3. Materiales y métodos_____	33
3.4. Resultados y discusión_____	36
3.5. Conclusiones_____	42
3.6. Agradecimientos_____	43

3.7. Bibliografía_____	43
IV. EFECTO DE DIFERENTES COMBINACIONES DE GLUTENINAS DE ALTO Y BAJO PESO MOLECULAR EN LA CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNAS MONOMÉRICAS Y POLIMÉRICAS, Y EN LA ESTABILIDAD DE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS DE LAS HARINAS DE TRIGO_____	55
4.1. Resumen_____	56
4.2. Introducción_____	57
4.3. Materiales y métodos_____	60
4.4. Resultados y discusión_____	62
4.5. Conclusiones_____	66
4.6. Agradecimientos_____	67
4.7. Bibliografía_____	67
V. CONCLUSIONES GENERALES_____	76
VI. BIBLIOGRAFÍA GENERAL_____	79
VII. ANEXOS_____	85

ÍNDICE DE CUADROS

II. ESTABILIDAD A TRAVÉS DE AMBIENTES DE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS DE TRIGOS HARINEROS DE TEMPORAL EN FUNCIÓN DE SUS COMBINACIONES DE GLUTENINAS DE ALTO PESO MOLECULAR

Cuadro 1. Pruebas de bondad de ajuste en variables reológicas de 3 combinaciones de G-APM en trigos harineros de temporal en 22 ambientes de evaluación. P-V, 1999 y 2000_____	24
Cuadro 2. Parámetros estimados de REML con errores estándar (SE) para la estructura varianza-covarianza de los diferentes modelos de estabilidad para las variables reológicas de 3 combinaciones de G-APM de variedades de trigos harineros mexicanos en 22 ambientes. P-V, 1999 y 2000_____	25
Cuadro 3. Medias de las variables reológicas con errores estándar (SE) obtenidos por diferentes modelos de estabilidad para 3 combinaciones de G-APM en variedades de trigo harinero de temporal cultivadas en 22 ambientes. P-V, 1999 y 2000_____	26
Cuadro 4. Comparación de medias para las variables reológicas de 3 combinaciones de G-APM en variedades de trigo harinero de temporal en 22 ambientes de evaluación. P-V, 1999 y 2000_____	27

III. INFLUENCIA DE FACTORES AGRO-AMBIENTALES Y GENOTÍPICOS SOBRE LA DISTRIBUCIÓN DE LAS PROTEÍNAS DEL GLUTEN, Y LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS DE LÍNEAS RECOMBINANTES DE TRIGOS HARINEROS MEXICANOS

Cuadro 1. Tratamientos ambientales de la calidad de trigos harineros (Cruza Rebeca- F2000×Verano-S91). Roque, Gto., Otoño-Invierno/2006-2007_____	34
Cuadro 2. Cuadrados medios del análisis de varianza de la calidad de trigos harineros (Cruza Rebeca F2000 × Verano S91). Roque, Gto., Otoño-Invierno/2006-2007_____	51
Cuadro 3. Medias por combinación de alelos de gluteninas de alto y bajo peso molecular de trigos harineros, Roque, Gto., Otoño-Invierno/2006-2007_____	52
Cuadro 4. Coeficientes de correlación de Pearson de la Cruza Rebeca F2000 × Verano S91, Roque, Gto., Otoño-Invierno/2006-2007_____	53
Cuadro 5. Medias por alelo de las gluteninas de alto peso molecular (loci <i>Al</i> y <i>D1</i>) en líneas de la cruza Rebeca F200 × Verano S91 de trigos harineros. Roque, Gto., O-I/2006-2007_____	53
Cuadro 6. Medias por alelo de las gluteninas de bajo peso molecular (Loci <i>Glu-A3</i> y <i>Glu-B3</i>) en la cruza Rebeca F2000 x Verano S91 de trigos harineros. Roque, Gto., O-I/2006-2007_____	54
Cuadro 7. Medias por ambiente (tratamientos aplicados) de líneas de trigos harineros de la cruza Rebeca F2000 × Verano S91, Roque, Gto. O-I/2006-2007_____	54

IV. EFECTO DE DIFERENTES COMBINACIONES DE GLUTENINAS DE ALTO Y BAJO PESO MOLECULAR EN LA CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNAS MONOMÉRICAS Y POLIMÉRICAS, Y EN LA ESTABILIDAD DE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS DE LAS HARINAS DE TRIGO

Cuadro 1. Cuadrados medios para la estimación de los parámetros de estabilidad de las variables de calidad industrial, fracciones de proteínas y proporciones de proteínas en siete combinaciones de G-APM y BPM de trigos harineros sembrados en cinco ambientes. Roque, Gto. O-I/2006-2007_____	72
Cuadro 2. Parámetros de estabilidad y medias de las variables estudiadas de siete combinaciones alélicas de gluteninas de trigos harineros, Roque, Gto, O-I/2006-2007_____	73

ÍNDICE DE FIGURAS

II. ESTABILIDAD A TRAVÉS DE AMBIENTES DE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS DE TRIGOS HARINEROS DE TEMPORAL EN FUNCIÓN DE SUS COMBINACIONES DE GLUTENINAS DE ALTO PESO MOLECULAR

Figura 1. Gel de Poliacrilamida de G-APM en poblaciones de trigos harineros mexicanos _____	23
---	----

IV.EFECTO DE DIFERENTES COMBINACIONES DE GLUTENINAS DE ALTO Y BAJO PESO MOLECULAR EN LA CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNAS MONOMÉRICAS Y POLIMÉRICAS, Y EN LA ESTABILIDAD DE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS DE LAS HARINAS DE TRIGO

Figura 1. Respuesta de la calidad industrial y parámetros de estabilidad de siete combinaciones de alelos de gluteninas de alto y bajo peso molecular, de trigos harineros, Roque, Gto, O-I/2006-2007 _____	72
---	----

VII. ANEXOS

Figura 1A. Alveógrafo de Chopin, empleado para obtener alveogramas W y P/L__	86
Figura 2A. Mixógrafo de Swanson y variables obtenidas a partir del mismo_____	87
Figura 3A. Centrífuga empleada en el fraccionamiento y cuantificación de las proteína_____	88
Figura 4A. Incubación realizada a temperaturas controladas en el Thermomixer Eppendorf (Eppendorf-Netheler, Hamburg, Germany)_____	89
Figura 5A. Espectrofotómetro Beckman midiendo longitud de onda a 280 nm ____	90

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

La calidad del trigo para pan (*Triticum aestivum* L.) depende del tipo y cantidad de las proteínas del gluten -gluteninas y gliadinas- las cuales constituyen de 10 a 14% de las proteínas del grano (Wang *et al.*, 2007). El concepto de calidad de trigo es complejo; por un lado, la composición del grano es multifactorial, por ejemplo, la proteína constituye sólo un octavo del peso de la harina, pero juega un papel fundamental en la determinación del potencial panadero de un trigo. Cuando se habla de proteína de trigo, hay que tener en cuenta que se han reportado más de 1200 cadenas polipeptídicas distintas en un solo grano de trigo (Gianibelli *et al.*, 2001). Para simplificar su estudio, las proteínas del grano de trigo se han dividido en cuatro grupos. Desde el punto de vista tecnológico, dos de ellas son importantes: las gluteninas y las gliadinas. Entre ambas constituyen la mayoría de la proteína del endospermo. Cuando se mezcla harina con agua, se obtiene una masa de proteínas únicas que permiten la panificación. Estas propiedades son conferidas por la formación de una red en la que participan gluteninas y gliadinas: el gluten; mientras que las gluteninas le dan elasticidad a la masa, las gliadinas le brindan extensibilidad.

El contenido de proteína varía ampliamente (8-20 % en base seca) y es determinado por factores genéticos, por el ambiente, incluidas las prácticas culturales, y por la interacción de ambos. La mayoría de la proteína del endospermo del trigo es gluten, un complejo visco-elástico conformado por proteínas insolubles en agua o en soluciones salinas, las cuales se clasifican como poliméricas, o gluteninas, y como monoméricas, o gliadinas (MacRitchie, 1994).

Al hidratar una harina de trigo y someterla a un amasado para panificación, ocurren cambios estructurales en las proteínas insolubles de la harina. El desarrollo de la masa se obtiene cuando se forma una red tridimensional de proteínas insolubles estabilizadas por varias uniones químicas

y físicas asociadas con la superficie de las proteínas participantes. A esta red se le conoce como gluten. La estructura y tamaño de la red proteínica están determinados principalmente por puentes disulfuro localizados en los extremos de las subunidades de gluteninas de alto (APM) y bajo peso molecular (BPM) (Shewry *et al.*, 1995).

Las gliadinas son proteínas solubles en soluciones acuosas de alcohol, las cuales en la masa de harina adquieren forma globular monomérica. Al agregarse superficialmente, las gliadinas forman estructuras lineales que confieren principalmente viscosidad (extensibilidad) y cohesividad del gluten y de la masa de panificación. Las gliadinas están controladas por genes que se encuentran en los loci *Gli-1* y *Gli-2*, localizados en el brazo corto de los cromosomas del grupo 1 y 6, respectivamente. Debido a que los genes que controlan las gliadinas del tipo ω y γ se encuentran físicamente ligados a aquellos que controlan las gluteninas de bajo peso molecular (loci *Gli-1* y *Glu-3*, respectivamente), y a similitudes en varias propiedades físicas y químicas entre ambos tipos de proteínas, no ha sido posible determinar claramente los efectos individuales de dichas gliadinas. Actualmente se cree que los efectos en la calidad relacionados con las gliadinas del tipo ω y γ se deben principalmente a las gluteninas de bajo peso molecular asociadas (Payne *et al.*, 1984, 1987), o a la interacción entre ambos tipos de proteínas (Gupta y MacRitchie, 1994; Nieto-Taladriz *et al.*, 1994). Algunos estudios han encontrado que las gliadinas que están bajo el control de genes del locus *Gli-2* contribuyen a la fuerza del gluten (Branlard y Dardevet, 1985; Metakovski *et al.*, 1997).

Las gluteninas de APM y de BPM son proteínas solubles en soluciones diluidas ácidas, las cuales en la masa de harina interaccionan principalmente vía puentes disulfuro para formar una red proteica externa o polimérica. Esta red polimérica confiere tanto elasticidad (fuerza) como extensibilidad al gluten y a la masa de panificación. Las gluteninas de APM contribuyen

principalmente a la elasticidad del gluten (Payne *et al.*, 1987; Shewry *et al.*, 1995), mientras que las de BPM tienen su mayor efecto en la extensibilidad del mismo (Gupta *et al.*, 1990; Lawrence *et al.*, 1987). Los genes de los loci *Glu-1* y *Glu-3*, localizados en los cromosomas del grupo 1 controlan las gluteninas de APM y de BPM, respectivamente. En los loci *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1* se encuentran genes que codifican la síntesis de componentes de subunidades de gluteninas de APM. Cuando el producto (péptido) de un gen no se expresa, se dice que está presente un alelo nulo. Aunque la influencia de la mayoría de las subunidades de gluteninas de APM sobre los parámetros de calidad ha sido establecida, los efectos de las subunidades de gluteninas de BPM sobre la calidad apenas se empiezan a conocer.

Existen diferencias en la capacidad de las subunidades de gluteninas para interactuar vía puentes disulfuro, y este es el factor principal que determina el tamaño del polímero que forman, como la fuerza y extensibilidad de la masa que las contiene (Shewry *et al.*, 1995; MacRitchie, 1999). Los efectos aditivos o complementarios hacen que la contribución de las gluteninas de APM y BPM sobre el tamaño de la red polimérica, la fuerza y la extensibilidad del gluten sea mayor en combinación que individualmente (Gupta *et al.*, 1990; Gupta y MacRitchie, 1994).

Entre los componentes químicos, el porcentaje de proteínas del grano de trigo es la variable más utilizada comercialmente para definir la calidad panadera de un trigo; cuanto mayor es la cantidad de proteína, mejor será la calidad del trigo (Shewry *et al.*, 2003). Diversos estudios de campo indican que las condiciones ambientales, particularmente fertilización y temperatura, afectan la cantidad, composición y/o polimerización de las proteínas del gluten (Graybosch *et al.*, 1995). Los efectos de la temperatura sobre proteínas de reserva no son claros y pueden variar con el genotipo (Dupont y Altenbach, 2003). Altas temperaturas ocasionaron incrementos en la

relación de gliadinas/gluteninas en la harina de diferentes variedades cultivadas en ambientes controlados (Panozzo y Eagles, 2000; Corbellini *et al.*, 1997). Por otro lado, muchos estudios sobre el efecto de la temperatura en la composición proteica y calidad de harinas, no toman en cuenta el efecto de la temperatura sobre el porcentaje de las proteínas de la harina. En este sentido, cuando las plantas de trigo no son fertilizadas adecuadamente, el contenido de proteína puede mostrar incrementos por efecto de altas temperaturas debido al efecto diferencial de este factor sobre la deposición de proteína y almidón en grano y esto puede o no llevar a diferencias en el porcentaje de proteína y calidad de harina (Daniel and Triboï, 2000). DuPont *et al.* (1998) observaron que plantas cultivadas bajo regímenes térmicos contrastantes no evidenciaron diferencias significativas en el contenido proteico de las harinas cuando dichas plantas fueron regadas adecuadamente y fertilizadas post-antesis y además sus harinas poseían altos niveles de proteína; sin embargo, al no realizar la fertilización post-antesis, existían diferencias en el contenido y tipos de proteínas de la harina.

La interacción genotipo-ambiente es uno de los fenómenos que más obstaculiza la expresión uniforme de los caracteres de la calidad. Esta interacción está influenciada principalmente por factores que afectan el contenido de proteína en el grano (Lukow y McVetty, 1991), aunque en ocasiones el efecto ambiental afecta la composición de gluteninas y gliadinas, y también su integridad, principalmente por acción enzimática asociada a las condiciones ambientales (alta humedad) y a la incidencia de enfermedades. Se ha encontrado que las variaciones en las características de fuerza y extensibilidad debido a la interacción genotipo-ambiente son menores que las asociadas con el genotipo (Branlard *et al.*, 2003).

Son numerosos los factores que pueden afectar la proteína del grano, varios incontrolables y difíciles de predecir, otros, más o menos manejables. Entre los primeros están las condiciones ambientales como precipitación, temperatura del aire, mineralización de nitrógeno. La elección

del genotipo, la época de siembra, el sistema de labranza, la protección sanitaria, y otras prácticas que alteren directa o indirectamente la disponibilidad de nutrientes y de agua para el cultivo, suelen afectar la proteína del grano y son controlables hasta cierto punto, aunque también interaccionan con el ambiente.

El ambiente, además de influenciar la calidad a través de regulación de flujos de azúcares y N en el grano y sobre la actividad de determinadas enzimas, juega un papel importante a través de la regulación génica responsable de parámetros de calidad. Las altas temperaturas ambientales tienden a acelerar el proceso de madurez y desecación del grano ocasionando bajos rendimientos, menor peso y/o tamaños de grano, menor peso hectolítrico y mayor acumulación de proteína en el grano. Los trigos sometidos a este tipo de estrés muestran bajos rendimientos de harina y mejor calidad panadera como consecuencia de un alto contenido de proteína en el grano. Sin embargo, se ha observado que cuando el cultivo de trigo en su etapa de llenado y madurez de grano es expuesto a altas temperaturas ($>32^{\circ}\text{C}$) por tiempos prolongados (>36 h) las propiedades viscoelásticas del gluten se pueden alterar significativamente reduciendo drásticamente su calidad de panificación (Blumenthal *et al.*, 1998). El daño por estrés térmico se asocia a la presencia de ciertas proteínas que se produce como un mecanismo de defensa de la planta y que altera la composición original de la proteína del gluten. El efecto final es una reducción de la fuerza del gluten y la calidad de panificación de las harinas de granos afectados. La expresión en el tiempo de proteínas del gluten es influenciada por la temperatura durante el llenado de grano (Altembach *et al.*, 2002). Altas temperaturas y/o sequías, alteraron la transcripción de genes relacionados a calidad acelerando su acumulación temprana así como su desaparición. Otros trabajos enfatizan el efecto de la distribución de las precipitaciones, la ocurrencia de heladas tardías y la duración del periodo de llenado de los granos (Faridi y Finley, 1989). Sin embargo, del análisis de la

bibliografía se desprende que, de los factores que alteran la calidad del grano, uno de los más importantes es la temperatura durante el llenado de grano (Blumenthal *et al.*, 1991).

En los trigos cuyo destino principal es la panificación, un aumento en el porcentaje de proteína generalmente conduce a un incremento de la calidad, que se evidencia en una mejora de la fuerza de la masa. No obstante, cuando la temperatura durante el llenado del grano supera un cierto umbral (usualmente los 30°C), la relación positiva entre porcentaje de proteína y fuerza de la masa se rompe y puede, incluso, tornarse negativa (Randall y Moss, 1990; Blumenthal y Moss, 1990). En algunos casos, el estrés térmico conduce a una disminución en el volumen de pan y en los volúmenes de sedimentación (SDS) sin que se modifique el contenido proteico del grano (Graybosch *et al.*, 1995; Peterson *et al.*, 1998). Durante los episodios de estrés térmico, tanto la síntesis de gliadinas como la de subunidades de gluteninas de bajo peso molecular continua, en tanto que la de subunidades de gluteninas de alto peso molecular se reduce y hasta puede verse suspendida (Blumenthal *et al.*, 1991).

Los bajos contenidos de proteína en grano se presentan principalmente cuando existe baja fertilidad del suelo o bajo contenido de nitrógeno en etapas posteriores a la aparición del primer nudo del tallo de la planta (Fowler, 1998); por esta razón, es necesario aplicar fertilizante nitrogenado de tal manera que éste permita un desarrollo óptimo de la planta del trigo y una producción adecuada de proteína en el grano. Para satisfacer las necesidades de nitrógeno del cultivo, es recomendable efectuar aplicaciones de fertilizante tanto a la siembra como en etapas de llenado de grano. Entre los factores ambientales que pueden producir modificaciones en la calidad del grano, se menciona el tipo de suelo y los niveles de fertilizantes, en particular el nitrógeno y el azufre, que afectan el contenido de proteína y la calidad (MacRitchie y Gupta, 1993).

La disponibilidad de N afecta la transcripción de determinados genes relacionados con proteínas de reserva (Shewry *et al.*, 2001). Relacionado con esto, Dupont y Altenbach (2003) remarcan la importancia de las condiciones durante el llenado de grano sobre la regulación génica de parámetros de calidad. La acumulación de azúcares y aminoácidos provenientes de hojas y tallos no sólo jugarían un rol de sustratos para la síntesis de almidón y proteína en grano, sino que estarían regulando también la expresión génica y pasos metabólicos. El balance entre nitrógeno, azufre y carbono podría estar regulando la biosíntesis, catabolismo y acumulación de proteínas.

Las variaciones en el contenido de proteína del grano pueden afectar significativamente las propiedades de resistencia de masa de una variedad de trigo. La cantidad sola, sin embargo, no siempre puede explicar las diferencias de calidad entre los cultivares de trigo. Por lo tanto, la calidad de proteína, en términos de la proporción polímero/monómero y el tamaño molecular del polímero de las proteínas, determinado por la presencia de las subunidades específicas de gluteninas, es también importante (Weegels *et al.*, 1996).

La harina de trigo contiene aproximadamente la misma cantidad de gluteninas y gliadinas, y el desequilibrio de la relación entre las gluteninas-gliadinas puede cambiar sus propiedades viscoelásticas. La fracción de gluteninas es, sin embargo, el principal factor responsable de variaciones en la fuerza de masa entre las variedades de trigo. Sapirstein y Fu (1998) han confirmado que la mayoría de la variación en los parámetros de fuerza masa se explica por la cantidad de gluteninas solubles e insolubles. Wang *et al.* (2007) encontraron que existen diferencias cuantitativas en el contenido de gluteninas/gliadinas solubles en SDS, en la proporción de proteínas poliméricas y monoméricas entre los genotipos. En resumen no sólo la cantidad de proteína es importante, sino que se debe tener en cuenta cuales están presentes y en que proporción.

El rendimiento de trigo y calidad de sus respectivas harinas, son fuertemente influenciados por efectos del ambiente durante el llenado de grano. Variables ambientales como temperatura, agua y fertilización afectan la tasa y duración del desarrollo del grano de trigo, acumulación de proteínas y deposición de almidón mediante diversos mecanismos (Dupont y Altenbach, 2003). Es importante considerar que a los productores de trigo actualmente les interesa un trigo con altos rendimientos y buena calidad industrial. Por todo lo anterior, el objetivo de esta investigación fue determinar las combinaciones alélicas de G-APM y BPM existentes en un grupo de líneas de trigos harineros mexicanos, conocer el efecto de varios factores agro-ambientales y estudiar la estabilidad que confieren las combinaciones alélicas presentes sobre la distribución de las proteínas del gluten, y las propiedades reológicas de la masa.

Para cubrir los objetivos planteados la presente tesis está organizada en tres documentos con formato de artículos científicos, que constituyen capítulos que abordan un tema en particular; en el primero de ellos se aborda la estabilidad que confieren las combinaciones de gluteninas de alto peso molecular sobre las propiedades reológicas de la masa; el segundo documento hace referencia a un estudio sobre el efecto de los factores agro-ambientales y las combinaciones de gluteninas sobre los parámetros de calidad industrial, y sobre la cantidad y proporción de proteínas monoméricas (principalmente gliadinas) y poliméricas (principalmente gliadinas), y el tercer documento se enfoca a estudiar la estabilidad de las variables de calidad y de las fracciones de proteína presentes en el gluten, en función de las combinaciones alélicas que poseen las líneas de trigo estudiadas.

**II. ESTABILIDAD A TRAVÉS DE AMBIENTES DE LAS PROPIEDADES
REOLÓGICAS DE TRIGOS HARINEROS DE TEMPORAL EN FUNCIÓN
DE SUS COMBINACIONES DE GLUTENINAS DE ALTO PESO
MOLECULAR**

**Micaela De la O Olán¹, Eduardo Espitia Rangel*², José D. Molina Galán¹, Héctor
E. Villaseñor Mir², Higinio López Sánchez³, Amalio Santacruz Varela¹, y
Roberto J. Peña Bautista⁴**

¹Programa de Recursos Genéticos y Productividad, Colegio de Postgraduados. Km. 36.5 Carr. México-Texcoco. C.P. 56230. Montecillo, Edo. de México. ²Programa de Trigo, Campo Experimental Valle de México, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. C.P. 56230, Chapingo, Edo. de México (espitia.eduardo@inifap.gob.mx). ³Campus Puebla-Colegio de Postgraduados. Km. 125.5 Carretera Federal México-Puebla. Santiago, Momoxpan, Municipio de San Pedro Cholula, Puebla. C.P. 72720. ⁴Programa de Trigo, Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. Apdo. Postal 6-641. C.P. 06600. México, D.F.

*Autor para correspondencia

Aceptado para publicación como artículo científico en la Revista Fitotecnia Mexicana
(Volumen 33 del 2010)

a. Resumen

Con el propósito de determinar las combinaciones alélicas de gluteninas de alto peso molecular (G-APM) y estudiar la estabilidad conferida por dichas combinaciones sobre las propiedades reológicas de la masa en trigos harineros mexicanos, se evaluaron las variedades Náhuatl F2000, Pavón F76, Temporalera M87, Rebeca F2000, Tlaxcala F2000, Gálvez M87, Zacatecas VT74, Romoga F96, Juchi F2000 y Batán F96. Los genotipos se sembraron en 22 ambientes de temporal en los estados de México, Tlaxcala, Jalisco, Oaxaca, Puebla, Guanajuato, Morelos y Querétaro, ciclo P-V/1999 y 2000, empleando un diseño experimental de bloques completos al azar con dos repeticiones. Se evaluaron las propiedades viscoelásticas (reológicas) de la masa mediante las variables tiempo de amasado (min), alveograma-W, alveograma-P/L y alveograma-P/G. Los datos fueron analizados estimando parámetros de estabilidad mediante cuatro modelos diferentes. Las variedades Náhuatl F2000, Pavón F76 y Temporalera M87 poseen las subunidades de G-APM en *Glu-A1* 2*, *Glu-B1* 17+18 y *Glu-D1* 5+10 (combinación 1); las variedades Rebeca F2000, Tlaxcala F2000, Gálvez M87, Zacatecas VT74 y Romoga F96 en *Glu-A1* 1, *Glu-B1* 17+18 y *Glu-D1* 5+10 (combinación 2); y las variedades Juchi F2000 y Batán F96 en *Glu-A1* 2*, *Glu-B1* 7+9 y *Glu-D1* 5+10 (combinación 3). Se encontraron diferencias altamente significativas en todas las propiedades viscoelásticas para las combinaciones de G-APM. La estimación de los parámetros de estabilidad mostró que la combinación 2 fue la más estable sobre las propiedades reológicas de la masa; además, tal combinación fue superior en algunas características viscoelásticas como fuerza de la masa; por lo tanto, las variedades que la poseen son muy deseables para la industria mecanizada.

Palabras clave: Alveograma, Calidad, Interacción genotipo-ambiente, Propiedades viscoelásticas, *Triticum aestivum* L.

2.2. Summary

In order to determine the allelic combinations of high molecular weight glutenins (HMW-G) and the stability they confer over rheologic properties of the dough in Mexican bread wheats, varieties Nahuatl F2000, Pavón F76, Temporalera M87, Rebeca F2000, Tlaxcala F2000, Gálvez M87, Zacatecas VT74, Romoga F96, Juchi F2000 and Batán F96 were evaluated. Genotypes were planted during the 1999 and 2000 Spring-Summer cycle at 22 rainfed environments in the states of Mexico, Tlaxcala, Jalisco, Oaxaca, Puebla, Guanajuato, Morelos and Querétaro, using a randomized complete blocks design with two replications. Viscoelastic (rheologic) properties of the dough such as kneading time (min), W-alveogram, P/L alveogram and P/G-alveogram were evaluated. Data were analyzed by estimating stability parameters through four different models. Varieties Nahuatl F2000, Pavón F76 and Temporalera M87 have HMW-G subunits as follows: 2* at *Glu-A1* 2*, 17+18 at *Glu-B1* and 5+10 at *Glu-D1* (combination 1); varieties Rebeca F2000, Tlaxcala F2000, Gálvez M87, Zacatecas VT74 and Romoga F96 have 1 at *Glu-A1*, 17+18 at *Glu-B1* and y 5+10 at *Glu-D1* (combination 2), and varieties Juchi F2000 and Batán F96 have 2* at *Glu-A1*, 7+9 at *Glu-B1* and 5+10 at *Glu-D1* (combination 3). Highly significant differences were found for all the evaluated viscoelastic properties for HMW-G combinations. The estimation of stability parameters showed that combination 2 was the most stable one over rheologic properties of the dough; in addition, such a combination was superior in some viscoelastic characteristics as dough strength; therefore, varieties in possession of that combination are very desirable for the mechanized industry.

Key words: Alveogram, Quality, Genotype-environment interaction, Viscoelastic properties, *Triticum aestivum* L.

2.3. Introducción

El trigo (*Triticum aestivum* L.) es actualmente el cultivo de mayor superficie sembrada en el mundo (FAOSTAT, 2008). Las masas de harina de trigo poseen una red de proteínas de gluten que le confiere propiedades visco-elásticas (reológicas), de las cuales la propiedad de amasado, fuerza y extensibilidad de la masa son las más importantes. La medición directa de las propiedades reológicas de las masas permite conocer y validar los efectos de las combinaciones de gluteninas y gliadinas, además de que permite obtener información sobre los parámetros que utiliza la industria, la cual finalmente determina si la calidad de una variedad es adecuada para su proceso y producto a elaborar (Peña, 2002).

Una de las clases de proteínas del endospermo que conforman el gluten, las gluteninas, son las responsables más directas de la variación en calidad. La fracción de G-APM se puede analizar por métodos bioquímicos no influenciados por el ambiente ni por el contenido proteico y ha sido asociada a propiedades de la masa (Hoseney, 1991). Las subunidades de gluteninas de alto peso molecular son codificadas por genes en tres *loci* genéticamente diferentes, *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1*, que se localizan en los cromosomas 1A, 1B y 1D respectivamente (Southan y MacRitchie, 1999). Entre las gluteninas que tienen un efecto conocido sobre las características de la fuerza del gluten se encuentran las subunidades 1, 2*, 7+8, 7+9, 13+16, 17+18 y 5+10, con efecto positivo; las subunidades 7+9 y 2+12, con efecto intermedio; y las subunidades 0, 7, 20, 13+19, 3+12 y 4+12, con efecto negativo (Pogna *et al.*, 1992). El efecto genético individual de los alelos de las G-APM sobre las propiedades reológicas ha sido el más estudiado, no así el producto de combinaciones alélicas en las propiedades del gluten (Peña *et al.*, 2002)

El común denominador de todos los programas de evaluación de genotipos es el comportamiento inestable de éstos en los diversos ambientes de prueba. En ocasiones los resultados llegan a discrepar tanto de lo esperado, que tomar una decisión con respecto a cuál es el mejor genotipo, resulta difícil y dudoso. La inconsistencia de los resultados de las evaluaciones puede tener su origen en el grado de diversidad de los genotipos y de los ambientes, o de ambos (Molina, 1992).

Lin *et al.* (1986) describieron tres tipos de estabilidad; el primero es referido a una mínima varianza entre ambientes; el segundo define a un genotipo como estable si su respuesta es paralela a la de la media de todos los genotipos ensayados (modelo de Shukla, 1972; modelo de Finlay y Wilkinson, 1963) y un tercero asociado al ideal del genotipo que tenga un cuadrado medio de desviaciones de regresión pequeño, considerando el índice ambiental como variable independiente (parámetro Sd_i del método de Eberhart y Russell, 1966; parámetro λ_i Tai, 1971). Lin *et al.* (1986) también definieron un cuarto concepto de estabilidad referido a variaciones pequeñas de un genotipo en una misma localidad pero en diferentes años. Es importante conocer el modelo que mejor se ajuste a un determinado conjunto de datos, para conocer la variedad más estable y con mejor expresión en determinados ambientes (Rodríguez *et al.*, 2002).

Considerando que existe necesidad de elaborar productos cada vez más diversos para satisfacer un mercado siempre ávido de mejoras y novedades, y que la industria y el mercado internacional demandan trigos y harinas de características definidas, se plantea que con las diversas subregiones y la amplia disponibilidad de variedades de trigo que tiene México, satisfacer esos requerimientos resulta perfectamente factible si se conoce la variación de la calidad a través de ambientes, es por ello que el objetivo de esta investigación fue determinar las combinaciones alélicas de G-APM y estudiar la estabilidad que confieren dichas

combinaciones sobre las propiedades reológicas de la masa, encontradas en variedades de trigo harinero cultivadas en áreas de temporal.

2.4. Materiales y Métodos

Se utilizaron 10 variedades de trigo harinero de temporal: Juchi F2000, Náhuatl F2000, Tlaxcala F2000, Rebeca F2000, Pavón F76, Gálvez M87, Temporalera M87, Batán F96, Romoga F96 y Zacatecas VT74. Los genotipos se sembraron en 11 localidades (Juchitepec, Tecamac y Coatepec en el estado de México; Nanacamilpa y Apizaco en el estado de Tlaxcala; Jesús María en Jalisco; Cuyoaco en Puebla; Roque en Guanajuato; Buenavista en Morelos, Amealco en Querétaro y Santiago Tillo en Oaxaca), por dos ciclos agrícolas (primavera verano de 1999 y 2000), generándose un total de 22 ambientes de temporal. Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con dos repeticiones. La unidad experimental consistió de cuatro surcos de tres metros de longitud separados a 30 cm. Las siembras se realizaron de acuerdo con las recomendaciones del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) para cada región.

Los análisis para las variables de calidad se efectuaron en el Laboratorio de Calidad de Trigo del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). Se hicieron análisis reológicos de la masa e identificación de los patrones electroforéticos de las proteínas (G-APM).

Las muestras de grano se molieron para obtener harina refinada. La molienda se realizó en un molino Brabender Quadramat. Se determinaron las propiedades reológicas de la masa mediante las variables: tiempo de amasado, alveograma-W, alveograma-P/L y alveograma-P/G.

El tiempo de amasado en minutos fue determinado con el mixógrafo de Swanson (National Manufacturing Co., Lincoln, NE), que utiliza la absorción de agua de acuerdo con el contenido de proteína [método 54-40A de la American Association of Cereal Chemists (AACC, 1995)]; aquí, un mayor tiempo de amasado corresponde a mayor fuerza de gluten y viceversa. Las variables alveográficas W, P/L y P/G fueron obtenidas en el Alveógrafo de Chopin (Trippette y Renaud, París, Francia), utilizando el método 54-30A de la AACC (1995); para ello se pesaron 50 g de harina refinada y se agrega una solución acuosa a 2.5 % de NaCl, corrigiendo la cantidad de agua de acuerdo con la dureza del grano. El alveograma-W es una medida de la fuerza de la masa (10^{-4} J), donde valores menores a 200 corresponden a trigos de gluten débil, entre 200 y 300 a un gluten medio fuerte y mayores a 300 a un gluten fuerte. El alveograma-P/L, que relaciona la altura y la longitud del alveograma, se registró mediante una escala adimensional de 0.1 a 6; la mayor extensibilidad corresponde a los valores menores. El alveograma-P/G, que es una relación entre la altura y el índice de expansión (tenacidad/extensibilidad), se midió con la escala adimensional de 1.5 a 14; la mayor extensibilidad corresponde a valores menores.

La identificación de G-APM se hizo por electroforesis en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE) (Peña, 2002). Se colocaron 40 g de harina integral en un tubo eppendorf durante 20 min a temperatura ambiente (20-22°C), con 600 μ L de solución amortiguadora HCl 62.5 mM (pH 6.8) que contenía 12 % (p/v) de glicerol, 2 % (p/v) de dodecil sulfato sódico, 0.003 % (p/v) de azul de bromofenol y 5 % de 2-mercaptoetanol. Después de la extracción, las muestras se centrifugaron por 5 min a 10000 rpm (aproximadamente 8000 g). Se utilizaron 4 μ L de extracto para la separación de proteínas sobre un gel de 18 cm de acrilamida al 10%. El corrimiento electroforético se efectuó a 11 mA por 16.5 h a 15°C. Para revelar las bandas de proteína los geles permanecieron inmersos por 8 h en solución de tinción con solución acuosa a 0.13 % de

cumasina azul brillante R250, alcohol butílico y ácido acético (53:40:7, v/v). El desteñido del gel se hizo con agua durante la noche. Las subunidades de alto peso molecular fueron identificadas de acuerdo con la nomenclatura de Payne *et al.* (1987), usando como referencia el patrón de bandeado de las variedades Chinese Spring, Opata, Pitic y Pavón.

Los datos fueron procesados para estimar parámetros de estabilidad mediante los modelos siguientes: modelo I, varianza de estabilidad de Shukla (1972); modelo II, regresión de Finlay y Wilkinson (1963); modelo III, parámetros de estabilidad de Eberhart y Russell (1966), y modelo IV, varianza ambiental (Lin *et al.*, 1986), todos ellos descritos por Piepho (1999). Se utilizó el paquete SAS, versión 6.12 (SAS Institute, 1997), empleando el procedimiento MIXED con las medias de combinación de G-APM-ambiente, tomando a las combinaciones como factor fijo y a los ambientes como factor aleatorio; se realizó una comparación de medias ajustadas por cuadrados mínimos mediante la opción *PDIFF*, cuya diferencia estadística fue determinada por la prueba de *t* de Student. Las pruebas de bondad de ajuste de los datos a los modelos propuestos se realizaron mediante máxima verosimilitud restringida (REML), usando la proporción estadística entre el valor del parámetro de máxima verosimilitud restringida del modelo general (LL_R), en este caso el modelo de la varianza ambiental y el valor respectivo del modelo bajo consideración; el LL_R se distribuye como una χ^2 con *df* grados de libertad proveniente de la diferencia de parámetros (*p*) en la estructura varianza-covarianza del modelo de la varianza ambiental y el modelo reducido en cuestión. Dicha χ^2 se calculó mediante la fórmula propuesta por Oman (1991) y Wolfinger (1993), donde: $\chi^2 = -2 (LL_R \text{ del modelo bajo consideración} - LL_R \text{ del modelo de la varianza ambiental})$. Una segunda estrategia para seleccionar el modelo más adecuado fue el criterio de información de Akaike (AIC), mencionado por Wolfinger (1993), el cual se calcula mediante la ecuación: $AIC = LL_R - p$, donde *p* es el número de parámetros en la estructura

varianza-covarianza de cada modelo. A mayor valor de AIC el modelo se considera más adecuado.

2.5. Resultados y Discusión

En la Figura 1 se observa que las variedades Náhuatl F2000, Pavón F76 y Temporalera M87 poseen las subunidades de G-APM en *Glu-A1* 2*, en *Glu-B1* 17+18 y en *Glu-D1* 5+10, por lo que se agruparon para conformar la combinación 1; las variedades Rebeca F2000, Tlaxcala F2000, Gálvez M87, Zacatecas VT74 y Romoga F96 poseen las subunidades de G-APM en *Glu-A1* 1, en *Glu-B1* 17+18 y en *Glu-D1* 5+10, integrando la combinación 2; mientras que las variedades Juchi F2000 y Batán F96 poseen las subunidades de G-APM en *Glu-A1* 2*, en *Glu-B1* 7+9 y en *Glu-D1* 5+10, agrupadas en la combinación 3.

Con los cuatro modelos de estabilidad, se encontraron diferencias altamente significativas en todas las variables reológicas para las combinaciones de G-APM; es decir, las propiedades viscoelásticas de la masa conferidas por las combinaciones de gluteninas fueron diferentes a través de los ambientes de prueba. En el Cuadro 1 se muestran las pruebas de bondad de ajuste de los diferentes modelos probados. El mayor valor de AIC para alveograma-W y alveograma-P/G correspondió al modelo de varianza de estabilidad, por lo que, de acuerdo con Wolfinger (1993), la estabilidad de las combinaciones de G-APM a través de ambientes deberá estimarse con este modelo; en contraste, en alveograma-P/L y tiempo de amasado el modelo que mejor se ajustó fue el de regresión de Finlay y Wilkinson (1963). De manera general, cada propiedad reológica se ajusta a modelos diferentes, tal como lo observaron Robert y Denis (1996), quienes con 10 variedades de trigo en 14 ambientes encontraron interacción significativa de la calidad \times

ambiente, lo que significa que las variables reológicas deben ser analizadas por separado para definir el método que mejor se ajusta en la evaluación de la estabilidad de la calidad panadera.

En el Cuadro 2 se presentan las estimaciones de los parámetros relevantes de REML con errores estándar (SE) para la estructura varianza-covarianza de los diferentes modelos de estabilidad evaluados; puede observarse que la combinación de G-APM 1, 17+18, 5+10 fue la más estable de acuerdo con los modelos aplicados en todas las propiedades reológicas de la masa ya que a esta combinación correspondió el menor valor de σ_{ii} , el menor valor de la varianza de la estabilidad $\sigma^2_{(i)}$, el menor valor absoluto del coeficiente de regresión (λ_i), de acuerdo con los análisis de Finlay-Wilkinson (1963) y Eberhart-Russell (1966) y la menor varianza de las desviaciones ($\sigma^2_{(ii)}$), de acuerdo con el modelo de Eberhart-Russell (1966), las variedades más estables en calidad panadera fueron Rebeca F2000, Tlaxcala F2000, Gálvez M87, Zacatecas VT74 y Romoga F96 en virtud de que poseen dicha combinación. Las medias y los errores estándar fueron consistentes a través de todos los modelos. La combinación menos estable fue la 2*, 17+18, 5+10. Los errores estándar de los parámetros estimados son altos en todas las combinaciones para la variable alveograma-W, lo que podría indicar que 22 ambientes no es una muestra adecuada para estimar de manera confiable la estabilidad (Piepho, 1999) o bien que el área de ambientes involucrados, que incluyen tipos de suelo distintos y variables climáticas diversas, es bastante contrastante (Molina, 1992). Aún así, la combinación alélica menos estable para alveograma-W, aumentó su estabilidad para alveograma-P/G, alveograma P/L y tiempo de amasado, donde los errores estándar fueron relativamente bajos, lo que sugiere una tendencia de menor interacción con el ambiente (Piepho, 1999).

En el Cuadro 3 se muestran las medias de las cuatro variables reológicas con sus respectivos errores estándar para los diferentes modelos estudiados. Se observó que las medias son iguales y los errores estándar muy similares a través de todos los modelos. Además de

estable, se desea que una combinación de G-APM tenga una media de alveograma-W alta, una extensibilidad alta (menores valores de alveogramas P/G y P/L) y un mayor tiempo de amasado para la industria mecanizada. De acuerdo con el modelo de la varianza de estabilidad, la combinación 1, 17+18, 5+10 obtuvo el mayor valor para la fuerza de la masa (alveograma-W); es decir, que además de ser la combinación más estable es la que mayor fuerza posee, lo que la convierte en la combinación más deseable. En alveograma-P/G el menor valor lo obtuvo la combinación 2*, 7+9, 5+10 lo que indica que las variedades que poseen dicha combinación tienen buena extensibilidad de la masa. Con el modelo de regresión de Finlay y Wilkinson (1963) sobre la variable alveograma P/L el menor valor correspondió a la combinación 2*, 7+9, 5+10 lo que confiere una buena extensibilidad de la masa. Para tiempo de amasado el mayor valor corresponde a mayor fuerza de la masa, y para ello la mejor combinación resultó ser 1, 17+18, 5+10, lo que indica las combinaciones alélicas más deseables en la industria harinera y las más estables en las propiedades reológicas (Peña *et al.*, 2002).

En el Cuadro 4 se presentan las comparaciones de medias generadas por el modelo de varianza de la estabilidad para alveograma-W y alveograma-P/G, y por el modelo de Finlay y Wilkinson (1963) para alveograma-P/L y tiempo de amasado. La mejor combinación para fuerza de la masa, que involucra las variables alveograma-W y tiempo de amasado, fue la segunda, que incluye los alelos de G-APM 1, 17+18, 5+10, por lo tanto las variedades con dicha combinación (Rebeca F2000, Tlaxcala F2000, Gálvez M87, Zacatecas VT74 y Romoga F96) son las más deseables. Para la extensibilidad de la masa, que incluye las variables alveograma-P/G y alveograma-P/L, la mejor combinación resultó ser también 1, 17+18, 5+10, mientras que la combinación menos estable fue la tercera, con los alelos 2*, 7+9, 5+10. Lo anterior indica que existen variedades relativamente recientes (de la serie 2000) con buena calidad panadera, y

algunas de ellas, además, con estabilidad y propiedades reológicas adecuadas para la industria de panificación mecanizada.

2.6. Conclusiones

Las variedades Náhuatl F2000, Pavón F76 y Temporalera M87 poseen las subunidades de G-APM en *Glu-A1* 2*, *Glu-B1* 17+18 y *Glu-D1* 5+10, por lo que se agruparon para conformar la combinación 1; las variedades Rebeca F2000, Tlaxcala F2000, Gálvez M87, Zacatecas VT74 y Romoga F96 poseen las subunidades de G-APM en *Glu-A1* 1, *Glu-B1* 17+18 y *Glu-D1* 5+10, integrando la combinación 2; mientras que las variedades Juchi F2000 y Batán F96 poseen las subunidades de G-APM en *Glu-A1* 2*, *Glu-B1* 7+9 y *Glu-D1* 5+10, agrupadas en la combinación 3. La combinación de gluteninas de alto peso molecular con mayor estabilidad y con aceptable fuerza de la masa para la industria mecanizada fue 1, 17+18, 5+10. La combinación 2*, 7+9, 5+10 proporciona buena extensibilidad de la masa; sin embargo, es la menos estable a través de ambientes.

2.7. Agradecimientos

Los autores agradecen al CONACYT (Proyecto 067698) el financiamiento otorgado para la realización de la presente investigación.

2.8. Bibliografía

AACC (1995) Approved methods of the AACC. 9th ed. American Association of Cereal Chemists. St. Paul, MN, USA. 1268 p.

FAOSTAT (2008) FAO Statistical Databases. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Online webpage <http://faostat.fao.org/> (Verified October 7, 2008).

Hoseney R C (1991) Principios de Ciencia y Tecnología de Cereales. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 334 p.

Lin C S, M R Binns, L P Lefkovitch (1986) Stability analysis: where do we stand? Crop Sci. 26: 894-900.

Molina G JD (1992) Introducción a la Genética de Poblaciones y Cuantitativa (Algunas Implicaciones en Genotecnia). AGT Editor. México, D.F. 370 p.

Oman S D (1991) Multiplicative effects in mixed model analysis of variance. Biometrika 78: 729-739.

Payne P I, J A Seekings, A J Worland, M G Jarvis, L M Holt (1987) Allelic variations of glutenin subunits and gliadins and its effect on breadmaking quality in wheat: analysis of F₅ progeny from Chinese Spring × Chinese Spring (Hope 1A). J. Cereal Sci. 6: 103-118.

Peña R J (2002) Wheat for bread and other foods. *In: Bread Wheat Improvement and Production*. Curtis B C, S S Rajaram, H Gómez-MacPherson (eds.). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. pp: 483-542.

Peña R J, R Trethowan, W H Pfeiffer, M Van-Ginkel (2002) Quality (end-use) improvement in wheat: compositional, genetic, and environmental factors. *In: A. S. Basra, L.S. Randhawa (eds). Quality Improvement in Field Crops*. Food Products Press, an imprint of the Haworth Press, New York. pp. 1-37.

Piepho H P (1999) Stability analysis using the SAS System. *Agron.J.* 91:160-165.

Pogna N E, R Rdaelli, T Dackevitch, A Curioni, A Dal Belin Perufo (1992) Benefits from genetics and molecular biology to improve the end use properties of cereals. *In: Feillet P. (ed.). Cereal Chemistry and Technology: a Long Past and a Bright Future*. INRA. Montpellier, France. pp. 83-93.

Robert N, J B Denis (1996) Stability of baking quality in bread wheat using several statistical parameters. *Theor. Appl. Genet.* 93: 172-178.

Rodríguez P J E, J Sahagún C, H E Villaseñor M, J D Molina G, A Martínez G (2002) Estabilidad de siete variedades comerciales de trigo (*Triticum aestivum* L.). *Rev. Fitotec. Mex.* 25:143-151.

SAS Institute (1997) SAS/STAT Software: Changes and Enhancements through Release 6.12.

SAS Institute. Cary, N.C. 5123 p.

Southan M, F MacRitchie (1999) Molecular weight distribution of wheat proteins. Cereal Chem.

76(6):827-836.

Wolfinger R D (1993) Covariance structure selection in general mixed models. Commun. Stat.

Simul. Comp. 22: 1079-1106.

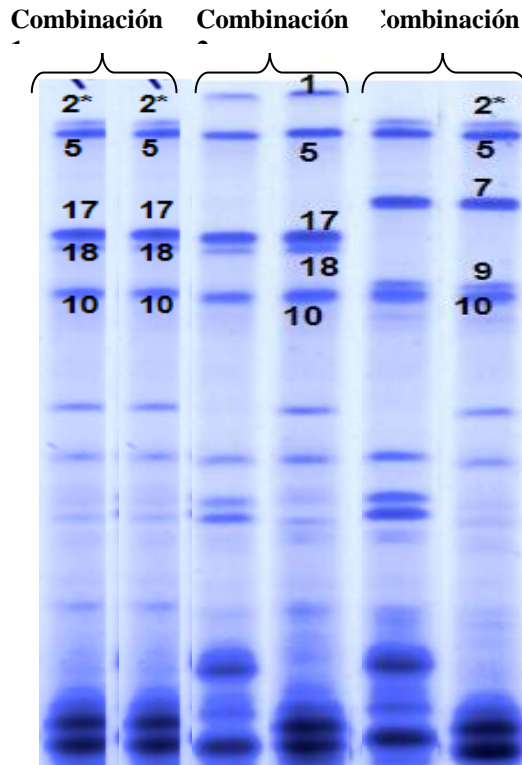


Figura 1. Gel de Poliacrilamida de G-APM en poblaciones de trigos harineros mexicanos

Cuadro 1. Pruebas de bondad de ajuste en variables reológicas de 3 combinaciones de G-APM en trigos harineros de temporal en 22 ambientes de evaluación. P-V, 1999 y 2000.

Variable	Modelo	p	AIC	$-2LL_R$	χ^2	df	P
Alveograma- W	Modelo I	4	-345.9	683.8	75.4	14	<0.0001
	Modelo II	4	-346.6	685.2	74.0	14	<0.0001
	Modelo III	6	-347.5	682.7	76.5	12	<0.0001
	Modelo IV	18	-397.6	759.2			
Alveograma P/G	Modelo I	4	-60.7	113.4	55.1	14	<0.0001
	Modelo II	4	-62.0	116.1	52.4	14	<0.0001
	Modelo III	6	-60.9	109.9	58.6	12	<0.0001
	Modelo IV	18	-102.2	168.5			
Alveograma P/L	Modelo I	4	10.6	-29.2	0.95	14	<0.0001
	Modelo II	6	13.3	-38.6	5.65	12	<0.0001
	Modelo III	18	31.6	27.3			
Tiempo de Amasado	Modelo I	4	-50.3	92.6	28.1	14	<0.0001
	Modelo II	4	-46.6	85.3	32.55	14	<0.0001
	Modelo III	6	-48.0	84.1	33.15	12	<0.0001
	Modelo IV	18	-93.2	150.4			

Modelo I: varianza de estabilidad (Shukla, 1972); Modelo II: regresión (Finlay y Wilkinson, 1963); Modelo III: regresión (Eberhart-Rusell, 1966); Modelo IV: varianza ambiental (Lin *et al.*, 1986). p : Número de parámetros en la estructura varianza-covarianza, AIC: Criterio de información de Akaike, LL_R : Parámetro de máxima verosimilitud restringida, df: Grados de libertad= p (modelo de la varianza ambiental) – p (modelo bajo consideración).

Cuadro 2. Parámetros estimados de REML con errores estándar (SE) para la estructura varianza-covarianza de los diferentes modelos de estabilidad para las variables reológicas de 3 combinaciones de G-APM de variedades de trigos harineros mexicanos en 22 ambientes. P-V, 1999 y 2000.

Variable	Modelo	Combinación 1	Combinación 2	Combinación 3
Alveograma- W	Modelo I- $\sigma^2_{(i)}$ (SE)	1756.7 (630.0)	535.0 (366.4)	602.0 (378.0)
	Modelo II- λ_i (SE)	98.0 (16.5)	83.3 (14.4)	83.9 (14.5)
	Modelo IIIa- λ_i (SE)	1572.2 (610)	561.0 (339)	611.8 (349)
	Modelo IIIb- $\sigma^2_{(ii)}$ (SE)	95.3 (17.1)	84.6 (14.1)	85.0 (14.2)
	Modelo IV- $\sigma_{(ii)}$ (SE)	10672.0 (3293)	7734.6 (2386)	7847.1 (2421)
Alveograma P/G	Modelo I- $\sigma^2_{(i)}$ (SE)	0.149 (0.05)	0.042 (0.03)	0.181 (0.06)
	Modelo II- λ_i (SE)	0.759 (0.14)	0.829 (0.15)	0.740 (0.14)
	Modelo IIIa- λ_i (SE)	0.165 (0.05)	0.000 (-)	0.188 (0.05)
	Modelo IIIb- $\sigma^2_{(ii)}$ (SE)	0.745 (0.14)	0.881 (0.13)	0.717 (0.14)
	Modelo IV- $\sigma_{(ii)}$ (SE)	0.720 (0.22)	0.776 (0.23)	0.704 (0.21)
Alveograma P/L	Modelo II- λ_i (SE)	0.222 (0.042)	0.259 (0.047)	0.292 (0.052)
	Modelo IIIa- λ_i (SE)	0.011 (0.003)	0.000 (-)	0.025 (0.007)
	Modelo IIIb- $\sigma^2_{(ii)}$ (SE)	0.226 (0.041)	0.275 (0.042)	0.275 (0.054)
Tiempo de amasado	Modelo IV- $\sigma_{(ii)}$ (SE)	0.062 (0.019)	0.076 (0.023)	0.101 (0.031)
	Modelo I- $\sigma^2_{(i)}$ (SE)	0.108 (0.057)	0.132 (0.057)	0.040 (0.041)
	Modelo II- λ_i λ_i (SE)	0.691 (0.121)	0.835 (0.141)	0.575 (0.106)
	Modelo IIIa- λ_i (SE)	0.100 (0.040)	0.051 (0.042)	0.054 (0.025)
	Modelo IIIb- $\sigma^2_{(ii)}$ (SE)	0.677 (0.126)	0.844 (0.141)	0.580 (0.104)
	Modelo IV- $\sigma_{(ii)}$ (SE)	0.558 (0.172)	0.764 (0.235)	0.390 (0.120)

Modelo I: varianza de estabilidad (Shukla, 1972) $\sigma^2_{(i)}$; Modelo II: regresión (Finlay y Wilkinson, 1963) λ_i ; Modelo IIIa: regresión (Eberhart-Rusell, 1966) λ_i ; Modelo IIIb: regresión (Eberhart-Rusell, 1966) $\sigma^2_{(ii)}$; Modelo IV: varianza ambiental (Lin *et al.*, 1986) $\sigma_{(ii)}$. Combinación 1: 2*, 17+18, 5 +10; Combinación 2: 1, 17+18, 5+10; Combinación 3: 2*, 7+9, 5+10.

Cuadro 3. Medias de las variables reológicas con errores estándar (SE) obtenidos por diferentes modelos de estabilidad para 3 combinaciones de G-APM en variedades de trigo harinero de temporal cultivadas en 22 ambientes. P-V, 1999 y 2000.

Variable	Modelo	Combinación 1	Combinación 2	Combinación 3
Alveograma-W (10 ⁻⁴ J)	Modelo I	413.18 (20.4)	444.41(19.0)	362.64(19.1)
	Modelo II	413.18 (21.8)	444.41(18.8)	362.64(18.9)
	Modelo III	413.18 (22.0)	444.41(18.7)	362.64(18.8)
	Modelo IV	413.18 (22.0)	444.41(18.7)	362.64(18.7)
Alveograma P/G (Escala 1.5-14)	Modelo I	4.10 (0.193)	4.44 (0.180)	3.81 (0.196)
	Modelo II	4.10 (0.179)	4.44 (0.192)	3.81 (0.175)
	Modelo III	4.10 (0.181)	4.44 (0.187)	3.81 (0.178)
	Modelo IV	4.10 (0.181)	4.44 (0.187)	3.81 (0.178)
Alveograma P/L (Escala 0-6)	Modelo II	0.834 (0.052)	0.921(0.060)	0.816(0.066)
	Modelo III	0.834 (0.053)	0.921(0.058)	0.816(0.067)
	Modelo IV	0.834 (0.053)	0.921(0.058)	0.816(0.067)
Tiempo de Amasado (min)	Modelo I	3.068 (0.155)	3.576 (0.158)	2.953 (0.145)
	Modelo II	3.068 (0.158)	3.576 (0.187)	2.953 (0.134)
	Modelo III	3.068 (0.159)	3.576 (0.186)	2.953 (0.133)
	Modelo IV	3.068 (0.159)	3.576 (0.186)	2.953 (0.133)

Modelo I: varianza de estabilidad (Shukla, 1972); Modelo II: regresión (Finlay y Wilkinson, 1963); Modelo III: regresión (Eberhart-Rusell, 1966); Modelo IV: varianza ambiental (Lin *et al.*, 1986).Combinación 1: 2*, 17+18, 5 +10; Combinación 2: 1, 17+18, 5+10; Combinación 3: 2*, 7+9, 5+10.

Cuadro 4. Comparación de medias para las variables reológicas de 3 combinaciones de G-APM en variedades de trigo harinero de temporal en 22 ambientes de evaluación. P-V, 1999 y 2000.

Variable	Combinación	Diferencia	Error	gl	Valor de t	Pr > t
Alveograma-W (10 ⁻⁴ J)	1 vs 2	-31.22	28.92	41	-1.08	0.28
	1 vs 3	50.54	29.01	41	1.74	0.08
	2 vs 3	81.77	26.61	42	3.07	0.003
Alveograma	1 vs 2	-0.334	0.260	41.9	-1.28	0.208
P/G (Escala 1.5-14)	1 vs 3	0.292	0.255	42	1.15	0.257
	2 vs 3	0.626	0.259	41.9	2.41	0.020
Alveograma	1 vs 2	-0.087	0.0791	41.6	-1.10	0.276
P/L (Escala 0- 6)	1 vs 3	0.018	0.086	39.7	0.21	0.834
	2 vs 3	0.106	0.090	41.1	1.18	0.246
Tiempo de amasado (min)	1 vs 2	-0.508	0.245	41	-2.07	0.044
	1 vs 3	0.115	0.208	40.7	0.55	0.583
	2 vs 3	0.623	0.229	38	2.72	0.001

Combinación 1: 2*, 17+18, 5 +10; Combinación 2: 1, 17+18, 5+10; Combinación 3: 2*, 7+9, 5+10.

**III. INFLUENCIA DE FACTORES AGRO-AMBIENTALES Y GENOTÍPICOS
SOBRE LA DISTRIBUCIÓN DE LAS PROTEÍNAS DEL GLUTEN, Y LAS
PROPIEDADES REOLÓGICAS DE LÍNEAS RECOMBINANTES DE
TRIGOS HARINEROS MEXICANOS**

**Micaela De la O Olán¹, Eduardo Espitia Rangel*², José D. Molina Galán¹, Héctor E.
Villaseñor Mir², Higinio López Sánchez³, Amalio Santacruz Varela¹, y Roberto J. Peña
Bautista⁴**

¹Programa de Recursos Genéticos y Productividad, Colegio de Postgraduados. Km. 36.5 Carr. México-Texcoco. C.P. 56230. Montecillo, Edo. de México. ²Programa de Trigo, Campo Experimental Valle de México, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. C.P. 56230, Chapingo, Edo. de México (espitia.eduardo@inifap.gob.mx). ³Campus Puebla-Colegio de Postgraduados. Km. 125.5 Carretera Federal México-Puebla. Santiago, Momoxpan, Municipio de San Pedro Cholula, Puebla. C.P. 72720. ⁴Programa de Trigo, Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. Apdo. Postal 6-641. C.P. 06600. México, D.F.

*Autor para correspondencia

3.1 Resumen

En la industria panadera no sólo es importante la cantidad de proteína del grano de trigo; el tipo y la proporción de las fracciones del gluten, gliadina y glutenina tienen alta importancia en la definición de la calidad panadera. La distribución de gliadinas y gluteninas está determinado principalmente por el genotipo pero es modificada por factores agroclimatológicos. El objetivo del presente estudio fue conocer el efecto de los factores agro-ambientales y combinaciones de gluteninas sobre las variables de calidad industrial, y sobre la cantidad y proporción de proteínas monoméricas (principalmente gliadinas) y poliméricas (principalmente gluteninas) del gluten de un grupo de 26 líneas de la cruzada Rebeca F2000 × Verano S91 de trigos harineros de temporal. El cultivo se desarrolló en cinco condiciones agro-ambientales generadas por el manejo agronómico (riego normal, riego restringido, nitrógeno reducido, aplicación de azufre y fecha de siembra tardía), en el ciclo Otoño-Invierno 2006-2007, en Roque, Gto., Méx. Se evaluaron las siguientes variables de la masa; tiempo de amasado (TMA), fuerza (ALVW) y extensibilidad (ALVPL) de la masa, y de las proteínas; fracción rica en gliadina (50PS), fracción rica en glutenina (50PI), y la relación fracción rica en gliadina/fracción rica en glutenina (50PS/50PI). El genotipo y el ambiente afectaron de manera significativa las variables de calidad de la masa, así como la relación de las fracciones 50PI y 50PS. La relación 50PS/50PI está asociada negativamente con TMA y ALVW, caso contrario sucedió con la extensibilidad de la masa (ALPL). Las mejores combinaciones de G-APM y G-BPM para TMA y ALVW fueron: 1, 17+18, 5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b*; 1, 17+18, 5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*; y 2*, 17+18, 5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b*. Para ALVPL las mejores combinaciones fueron: 2*, 17+18, 2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*. Para 50PS las mejores combinaciones fueron: 2*, 17+18, 2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*; y 1, 17+18, 5+10/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*. La relación 50PS/50PI fue mayor en genotipos con la

combinacion 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b*. El ambiente tiene una gran influencia en la cantidad de proteínas presentes, así como en la calidad industrial del trigo.

Palabras Clave: ambiente, variable de calidad, fracción rica en glutenina y gliadina, proteínas monoméricas, proteínas poliméricas.

3.2. Introducción

La calidad panadera del trigo (*Triticum aestivum* L.) es un carácter muy complejo, depende de factores genéticos, efectos ambientales y de manejo agronómico. El efecto combinado de los alelos de gluteninas sobre la calidad industrial de los trigos harineros mexicanos de temporal ha sido poco estudiado, y mucho menos sobre la cantidad de proteína. Son muy pocos los estudios que se han realizado del comportamiento de las variaciones alélicas dentro del genoma de trigo para las fracciones de proteína. Las proteínas son los componentes más importantes del grano de trigo en la definición de la calidad panadera, siendo las gluteninas y gliadinas las que forman el gluten, el cual confiere visco-elasticidad a la masa. Las gliadinas y las gluteninas se encuentran bajo el control de los loci complejos *Gli-1/Gli-2* y *Glu-1/Glu-3*, respectivamente, localizados en los cromosomas 1 y 6 de los genomas A, B y D (Payne *et al.*, 1987). Las gliadinas son monómeros que interactúan por fuerzas no covalentes, están asociadas al aumento de la viscosidad y extensibilidad de la masa (Uthayakumaran and Lukow, 2005). Las gluteninas son polímeros compuestos por multi-cadenas de alto y bajo peso molecular estabilizados por puentes disulfuro (Shewry *et al.*, 2003), relacionadas con la fuerza y elasticidad de la masa (Carceller y Aussenac, 1999) y el tiempo del desarrollo de la masa (Sapirstein y Fu, 1998).

Las gluteninas pueden separarse en dos grupos con base en el tamaño de los polipéptidos que forman sus polímeros: las subunidades de bajo (G-BPM) y de alto peso molecular (G-APM) (Dubcovsky *et al.*, 2000; Gianibelli *et al.*, 2001). Las subunidades de alto peso molecular son identificadas de acuerdo con su movilidad electroforética en geles de poliacrilamida en presencia de dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE); sin embargo, como la reducción de los enlaces disulfuro es un prerrequisito, los estudios basados en SDS-PAGE no proveen información de cómo los polipéptidos individuales interaccionan para formar grandes polímeros de gluteninas (Autran, 1994).

La aplicación de técnicas que permitan separar las proteínas de manera no desnaturizante pueden tener gran ventaja en la investigación de las funciones proteicas (Bietz, 1986). La espectrofotometría por UV es una técnica muy empleada actualmente para medir las proporciones relativas de las principales proteínas del endospermo del grano de trigo (Suchy *et al.*, 2007). Estas determinaciones son importantes porque la relación entre las proteínas del gluten y la distribución del tamaño de las proteínas poliméricas afecta los atributos de calidad. Las fracciones de gluteninas y gliadinas consisten de proteínas de almacenamiento, las cuales son proteínas que se acumulan durante el periodo de llenado de grano y son usadas como fuentes de nitrógeno durante la germinación de la semilla (Shewry y Halford, 2002), y no tienen una función fisiológica conocida durante la maduración del grano (Douliez *et al.*, 2000). Las proteínas de reserva se acumulan aproximadamente desde 6 días después de la antesis hasta el final del llenado de grano (Stone and Nicolas, 1996; Panozzo *et al.*, 2001).

Entre los componentes químicos, el porcentaje de proteínas del grano es la variable más utilizada comercialmente para definir la calidad panadera de un trigo; cuanto mayor es la cantidad de proteína, mejor será la calidad del trigo; también se debe considerar el tipo y proporción de las mismas (Shewry *et al.*, 2003). La calidad de proteína, definida básicamente por

la variedad, es al menos tan importante como la cantidad. Si bien existen diferencias entre distintos genotipos, la cantidad de proteína del grano de trigo está muy influenciada por las condiciones agro-ambientales en que fue cultivado, siendo importante que el trigo tenga suficiente disponibilidad de nitrógeno en el suelo.

Diversos estudios de campo indican que las condiciones agro-ambientales, particularmente fertilización y temperatura, afectan la cantidad, composición y/o polimerización de las proteínas del gluten (Graybosch *et al.*, 1995). Los efectos de la temperatura sobre las proteínas de reserva no son claros y pueden variar con el genotipo (DuPont y Altenbach, 2003). Altas temperaturas ocasionaron incrementos en la relación gliadinas/gluteninas en la harina de diferentes variedades cultivadas en ambientes controlados (Panozzo y Eagles, 2000; Corbellini *et al.*, 1997). Cuando las plantas de trigo no son fertilizadas adecuadamente, el contenido de proteína puede mostrar incrementos por efecto de altas temperaturas debido al efecto diferencial de este factor sobre la deposición de proteína y almidón en grano y esto puede o no llevar a diferencias en el porcentaje de proteína y calidad de harina (Daniel and Triboï, 2000). DuPont *et al.* (1998) observaron que plantas cultivadas en regímenes térmicos contrastantes no evidenciaron diferencias significativas en el contenido proteico de las harinas cuando dichas plantas fueron regadas adecuadamente y fertilizadas post-antesis y además sus harinas poseían altos niveles de proteína; sin embargo, al no realizar la fertilización post-antesis, existían diferencias en el contenido y tipos de proteínas de la harina.

En México, aún cuando ya se cuenta con genotipos de trigo para la producción de grano, no se conoce la calidad del mismo con base en cantidad, tipos y proporciones de proteínas, particularmente las gluteninas, y cómo estas pueden ser modificadas en los genotipos por el ambiente de producción. Por este motivo, y con la finalidad de incrementar el conocimiento sobre

el efecto del ambiente en la calidad de grano de trigo, se planteó como objetivo conocer el efecto de varios factores agro-ambientales, sobre los parámetros de calidad industrial, y especialmente sobre la cantidad y relación de proteínas monoméricas (principalmente gliadinas) y poliméricas (principalmente gluteninas) del gluten en nuevos genotipos (líneas recombinantes) de trigos harineros de temporal.

3.3. Materiales y Métodos

En el presente trabajo se utilizaron las variedades de trigo harinero Rebeca F2000 y Verano S91, y un grupo de 24 líneas desarrolladas por descendencia de una sola semilla de F₂ a F₇ a partir de la cruce entre las dos variedades. Rebeca F 2000 posee las subunidades de gluteninas de alto peso molecular 1 en *Glu-A1*, 17+18 en *Glu-B1* y 5+10 en *Glu-D1*; y de bajo peso molecular **c** en *Glu-A3*, **g** en *Glu-B3* y **b** en *Glu-D3*; mientras que Verano S91 posee las subunidades de gluteninas de alto peso molecular 2* en *Glu-A1*, 17+18 en *Glu-B1* y 2+12 en *Glu-D1*, y las de bajo peso molecular **e** en *Glu-A3*, **h** en *Glu-B3* y **b** en *Glu-D3*. Los 26 genotipos se sembraron en el Campo Experimental del Bajío (CEBAJ) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) en Roque, Gto., en el ciclo Otoño-Invierno/2006-2007. El cultivo se desarrolló en cinco condiciones ambientales diferentes, generados mediante manejo agronómico de riego, nitrógeno, azufre, y fecha de siembra tardía (que implica más calor) en llenado de grano (Cuadro 1). Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con dos repeticiones. La unidad experimental consistió de cuatro surcos de un metro de longitud con una separación de 30 cm entre ellos. El cultivo se condujo de acuerdo con las recomendaciones del INIFAP para el Bajío. La fertilización en todos los ambientes se realizó aplicando la mitad de los fertilizantes al momento de la siembra y la otra mitad en la etapa de amacollamiento.

Cuadro 1. Tratamientos ambientales de la calidad de trigos harineros (Cruza Rebeca-F2000×Verano-S91). Roque, Gto., Otoño-Invierno/2006-2007.

Tratamiento	Riegos	Fertilización	Aplicación de azufre	Fecha de siembra
1 (Riego limitado)	3	300-60-00	no	7-12-06
2 (Azufre)	5	300-60-00	Si	7-12-06
3 (Nitrógeno)	5	120-60-00	no	7-12-06
4 (Control)	5	300-60-00	no	7-12-06
5 (Calor)	5	300-60-00	no	05-01-07

Los análisis de calidad se efectuaron en el Laboratorio de Calidad de Trigo del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). Las características de dureza de grano y contenido de proteína fueron determinadas por medio de espectroscopía (reflectancia) en el rango del infrarojo cercano (NIRS, por sus siglas en inglés), utilizando un equipo NIRSystems 6500 (FOSS-Tecator). La molienda de grano para generar harina refinada de prueba se efectuó en un molino Brabender Sr. Las propiedades reológicas de las masas fueron determinadas de acuerdo a los métodos de la American Association of Cereal Chemists (AACC, 2000), utilizando el Mixógrafo National con ensayo a absorción variable para determinar el tiempo de amasado, y el Alveógrafo de Chopin, utilizando absorción variable (50-55%), con base en la dureza del grano (Peña *et al.*, 1990), para determinar fuerza de masa W (ALVW) y la relación tenacidad/extensibilidad P/L (ALVPL). Las proteínas del gluten fueron fraccionadas por solubilidad en propanol al 50% en gliadinas y gluteninas, seguidas de separación por electroforesis (SDS-PAGE) en alelos de gliadinas y de gluteninas, utilizando el procedimiento de Peña *et al.* (2004). Los alelos de glutenina de alto peso molecular (G-APM) (*loci Glu-A1*, - *Glu-B1* y *Glu-D1*) se identificaron con base en la nomenclatura propuesta por Payne *et al.* (1987) y

las de bajo peso molecular (G-BPM), (*loci Glu-A3 y Glu-B3*) de acuerdo con Singh *et al.* (1991), Jackson *et al.* (1996) y Branlard *et al.* (2003). En el *locus Glu-D3* se usó la nomenclatura de Branlard *et al.* (2003).

El fraccionamiento y cuantificación de las proteínas se hizo por espectrofotometría de acuerdo con el protocolo de Suchy *et al.* (2007). Se colocaron 10 mg de harina refinada (humedad base de 140 g kg⁻¹) en un tubo eppendorf de 2 mL; las muestras de fueron extraídas con 1.8 mL de 2-propanol al 50 % (v/v) durante 30 min con agitación vigorosa en un Thermomixer Eppendorf (Eppendorf-Netheler, Hamburg, Germany) a 1,100 rpm y 25 °C. Después de la extracción, las muestras se centrifugaron a 12,000 rpm por 5 min. Los sobrenadantes fueron transferidos a tubos de 5 mL en duplicados, los cuales fueron colocados en el espectrofotómetro Beckman a 280 nm. Esta fracción, que contiene las proteínas monoméricas (rica en gliadina) fue llamada 50PS (Proteína Soluble en propanol). Para el caso de la fracción de proteína soluble total (PST), la cual contiene del 90 al 95% de las proteínas presentes en la harina, se procedió de la misma manera que para 50PS, excepto que para la extracción en este caso, además de 2-propanol, se utilizaron 1.8 mL de ditioneitol (DTT) y la incubación se realizó a 55 °C. El contenido de proteína insoluble en alcohol, llamada 50PI (rica en glutenina G-APM y G-BPM o proteína polimérica) en la harina, fue calculada por la diferencia entre el contenido de PST y 50PS. Los resultados de 50PS y 50PI se presentan como proporciones con respecto a PST y se expresan en porcentaje. Adicionalmente, se calculó la relación entre las fracciones rica en gliadina/rica en glutenina (50PI/50PS).

Se realizó un análisis de varianza general para las variables estudiadas. Posteriormente, la fuente de variación Genotipos se desglosó y se realizó el análisis de varianza adicional al análisis general para obtener los cuadrados medios respectivos de combinaciones alélicas o grupos

genotípicos *Glu-A1*, *Glu-D1*, *Glu-A3* y *Glu-B3*, todo ello mediante el procedimiento GLM de SAS (SAS Institute, 1997). Previo al análisis de varianza de 50PS y 50PI se realizó una transformación logarítmica de los datos porcentuales con el fin de corregir la falta de ajuste a una distribución normal de la escala porcentual y no apartarse del supuesto de normalidad que requiere el análisis de varianza. Se realizó una comparación de medias por ambiente, combinaciones obtenidas de la cruce Rebeca F200 x Verano S91 y por cada locus, utilizando la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$); además se obtuvieron los coeficientes de correlación de Pearson con el programa SAS (SAS Institute, 1997).

3.4. Resultados y Discusión

En el análisis de varianza general (Cuadro2) se detectaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) tanto para ambientes como para genotipos en todas las variables de calidad (tiempo de amasado, fuerza y extensibilidad de la masa), lo que coincide con Souza *et al.* (2004) y Espitia *et al.* (2003) quienes observaron que las variaciones en características de calidad se deben principalmente a condiciones variables de los ambientes. En cuanto a la distribución de las fracciones de proteínas del gluten, así como en la relación entre fracciones rica en gliadina y rica en glutenina (50PS/50PI) la fuente de variación ambiente resultó altamente significativa, el manejo de la fertilización nitrogenada, azufrada, el riego limitado y la alta temperatura durante el llenado de grano son factores que influyen la deposición o acumulación de proteínas, lo que coincide con lo reportado por Triboï *et al.* (2000) y Zhu and Khan (2001) quienes mencionan que la composición de la proteína en grano depende primeramente del genotipo, pero es significativamente afectada por factores ambientales. En la interacción genotipo por ambiente hay un efecto altamente significativo para tiempo de amasado, extensibilidad de la masa, fracción 50PS (rica en gliadina), fracción 50PI (rica en glutenina) y relación 50PS/50PI, y no significativo para fuerza de la masa, lo que concuerda con

lo reportado por Souza *et al.*, (2004) quienes concluyen que existen algunos parámetros de calidad que no son afectados por la interacción genotipo-ambiente. El factor combinaciones resultó altamente significativo sobre todas las variables bajo estudio, lo que indica que los diferentes alelos de gluteninas de alto y bajo peso molecular de manera conjunta ejercen un efecto diferencial sobre las propiedades viscoelásticas de la masa (tiempo de amasado, fuerza y extensibilidad de la masa), en la fracción de las proteínas, y en la relación fracción rica en gliadina/rica en glutenina. El efecto individual de los *loci* de gluteninas de alto peso molecular, en *Glu-A1*, fue altamente significativo para tiempo de amasado y fuerza de la masa y no significativo para extensibilidad de la misma, fracciones 50PS, 50PI y la relación 50PS/50PI. En *Glu-D1* resultó ser altamente significativo para tiempo de amasado, fuerza y extensibilidad de la masa, 50PS, 50PI, así como la relación 50PS/50PI. Todo lo anterior indica que el efecto individual de los genes es mucho menor que el efecto combinado de sus alelos en propiedades de la masa, y en la cantidad de las proteínas de reserva. Para las gluteninas de bajo peso molecular; el locus *Glu-A3* presentó significancia estadística para todas las variables bajo estudio, excepto para la fracción 50PS y 50PI; el locus *Glu-B3* fue altamente significativo para fuerza y extensibilidad de la masa, y no significativo para tiempo de amasado, 50PI, 50PS y relación 50PS/50PI. Las diferencias significativas encontradas en los diferentes *loci* y en sus combinaciones, indican que existe un gran potencial en la manipulación de diferentes parámetros de calidad harinera y aumento en la cantidad de proteínas, enfocando el mejoramiento genético en un número de *loci* factibles de manejar.

En la prueba de comparación de medias de las combinaciones de gluteninas de alto y bajo peso molecular se obtuvieron siete combinaciones alélicas, considerando las de los progenitores (Cuadro 3). Algunas combinaciones superaron en calidad a las combinaciones que poseen los progenitores. El efecto combinado de los alelos de gluteninas sobre la calidad industrial de los trigos harineros mexicanos de temporal ha sido poco estudiado, y mucho menos sobre la distribución de

las fracciones de proteína de reserva. Las combinaciones 1, 17+18, 5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b* (Rebeca F2000); 1, 17+18, 5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*; y 2*, 17+18, 5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b* presentaron los valores mayores de tiempo de amasado, presentando resultados estadísticamente similares a la combinación 1,17+18,5+10/*Glu-A3e*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b*, mismos que no difieren de la combinación 1,17+18,5+10/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*; es decir, las combinaciones con la subunidad 5+10 tienen un efecto positivo sobre el tiempo de amasado, lo que concuerda con lo reportado por Radovanovic *et al.* (2002). Las combinaciones anteriores presentaron valores altos para alveograma-W, que es una característica asociada con alta fuerza de la masa, lo cual es deseable en la industria de la panificación mecanizada. Las combinaciones 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b* y 2*,17-18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3g*, *GluD3b* fueron las de menor fuerza de la masa, aptas para la industria de la panificación manual y semi-mecanizada. En alveograma-P/L lo ideal es tener una combinación con menores valores debido a que implican mayor extensibilidad de la masa, es por ello que la combinación 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b* fue la más adecuada para la calidad panadera. Por lo general, las combinaciones que poseen el alelo de glutenina de alto peso molecular 2+12 son las de mayor extensibilidad, siendo éste uno de los parámetros más buscados en los genotipos. Para la fracción rica en gliadina (50PS) los valores más altos se observaron con las combinaciones 1 y 2, que poseen las mismas gluteninas de alto peso molecular (2*,17+18,2+12). En la fracción rica en glutenina (50PI) no se encontró gran variación, correspondiendo la mayor cantidad a las combinaciones 3 y 5, con valores estadísticamente similares a la combinación 4, 6 y 7. Estos resultados sugieren que, para mejorar la cantidad de proteínas del gluten lo ideal sería encontrar genotipos con las combinaciones 2*,17+18,5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b* y 1,17+18,5+10/*Glu-A3e*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b*. En la relación 50PS/50PI, la combinación con valores más altos fue 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b*, seguida por la combinación 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*.

El tiempo de amasado correlacionó significativamente con la fuerza de la masa, y la fracción rica en glutenina (Cuadro 4), resultados que concuerdan con lo observado por Uthayakumaran *et al.* (1999), lo que indica que con genotipos que poseen mayor tiempo de amasado se tiene una mayor fuerza de la masa y un buen incremento de la fracción rica en gluteninas. El tiempo de masado y alveograma-W (fuerza de la masa) correlacionaron significativamente de manera negativa con la fracción rica en gliadina, así como con la relación 50PS/50PI y no correlacionó con la extensibilidad de la masa. La fuerza de la masa (alveograma-W) también correlacionó de manera positiva y altamente significativa con la fracción rica en glutenina (50PI), y negativamente con la relación 50PS/50PI, lo cual concuerda con los resultados obtenidos por Sapirstein y Fu (1998) quienes observaron que la mayoría de la variación en los parámetros de fuerza de la masa se explica por la cantidad de gluteninas. Así, las proteínas del gluten son las responsables de la mayoría de las propiedades viscoelásticas de las masas en harina de trigo. La extensibilidad de la masa (alveograma-P/L) está correlacionada de manera negativa con la fracción rica en gliadina, y la relación 50PS/50PI, es decir valores más altos de alveograma P/L o menor extensibilidad, tienen menor cantidad de gliadina ya que las gliadinas son responsables en alto grado de la extensibilidad de la masa (Shewry *et al.*, 2003). La fracción rica en gliadina tuvo una correlación positiva, como era esperado, con la relación 50PS/50PI.

En el Cuadro 5 se presentan las medias de los genotipos de la cruce Rebeca F2000 × Verano S91 en cada una de las variaciones alélicas de gluteninas de alto peso molecular de los loci *Glu-A1* y *Glu-D1*, donde para tiempo de amasado y fuerza de la masa el alelo 1 del locus *Glu-A1* y el 5+10 del *Glu-D1* presentaron los mayores valores de manera individual. En *Glu-A1* no existieron diferencias entre las dos subunidades alélicas para alveograma-P/L; sin embargo, en *Glu-D1* el mayor valor fue para la subunidad 5+10, lo que implica una menor extensibilidad. Uno de los objetivos relevantes del presente estudio fue conocer el efecto individual dentro de las

fracciones de proteínas; en ese sentido, se encontró que los dos alelos de *Glu-A1* no presentaron diferencias en la fracción rica en gliadinas, pero en *Glu-D1* la mayor cantidad de gliadinas correspondió a los genotipos con el alelo 2+12. Para la fracción rica en glutenina los alelos de loci *Glu-A1* no fue significativo, sin embargo para el loci *Glu-D1* la mayor cantidad de gluteninas correspondió a los genotipos con el alelo 5+10. En la relación gliadina/glutenina en *Glu-A1* no hubo diferencias entre los alelos 2* y 1; sin embargo, en *Glu-D1* se detectó una mayor proporción gliadina/glutenina con el alelo 2+12. Los genotipos con el alelo 5+10 mostraron una alta proporción de polímeros no extraíbles (50PI) en comparación con el 2+12, lo que indica que los alelos individuales de gluteninas de alto peso molecular no son igualmente eficaces para polimerizar (Juhász *et al.*, 2000). Las diferencias intrínsecas en los alelos y el diferente comportamiento durante la polimerización son responsables de la distribución del peso. Son muy pocos los estudios que se han realizado del comportamiento de las variaciones alélicas dentro del genoma de trigo para las fracciones de proteína; sin embargo, se sabe que a pesar de que los alelos de gluteninas de alto peso molecular son similares en su estructura, el alelo 5+10 tiene un residuo de cisteína adicional, lo que está relacionado con su mayor peso molecular (Southan y MacRitchie, 1999).

En el Cuadro 6 se muestran las medias de las líneas de la cruzada Rebeca F2000×Verano S91 en cada una de las variaciones alélicas de gluteninas de bajo peso molecular de los loci *Glu-A3* y *Glu-B3*. Para tiempo de amasado y fuerza de la masa el alelo *Glu-A3c* tuvo los mayores valores, confiriendo calidad panadera a los genotipos con dicho alelo; en *Glu-B3* no hubo diferencias entre los dos alelos. La mejor extensibilidad de la masa correspondió al alelo *GluA3e* y *Glu-B3h*, con menores valores de alveograma-P/L. En los loci *Glu-A3* y *Glu-B3* para fracción rica en gliadina y fracción rica en glutenina no existió efecto diferencial entre los alelos. En la relación

50PS/50PI el alelo *Glu-A3e* presentó un mayor valor que en *Glu-A3c*, lo cual se debe a un mayor contenido de la fracción rica en gliadina que en la fracción rica en glutenina.

En el Cuadro 7 se muestra la comparación de medias de los ambientes para cada una de las variables de calidad, en las fracciones de proteínas y en la relación de las mismas. El tiempo de amasado fue mucho mayor cuando aumenta la temperatura ambiental con las fechas de siembra tardías. El alveograma-W presentó la misma fuerza de la masa en todos los ambientes pues su control es mayormente genotípico. En el alveograma-P/L el menor valor fue para el tratamiento 4 (control); por lo tanto, el aplicar azufre o sembrar tarde no implica que se produzca mayor extensibilidad de la masa. La fracción rica en gliadina fue mayor en la aplicación de azufre, y menor con alto calor, coincidiendo con los resultados de Tea *et al.* (2004) quienes encontraron que las fertilizaciones con N y S aplicadas en antesis juegan un papel importante en la síntesis de proteínas de almacenamiento, su grado de polimerización y en las propiedades mixográficas de la masa. El incremento en la fracción rica en gliadinas en el ambiente normal (tratamiento 4) se explica en gran medida por la aplicación de una dosis adecuada de nitrógeno, pues este nutriente en trigo incrementa la cantidad total de proteína del grano, traduciéndose en un incremento en la cantidad de las proteínas gliadinas y gluteninas (Wieser y Seilmeier, 1998; Triboi *et al.*, 2000). El contar con la dosis adecuada de N usualmente conduce a un aumento en el porcentaje de gliadinas y el de gluteninas no se modifica (Jia *et al.*, 1996; Gupta *et al.*, 1992), aunque algunos trabajos muestran que esos resultados dependen del genotipo (Wieser y Seilmeier, 1998). Pocos son los estudios en los que se han examinado por separado los efectos de los factores ambientales sobre la acumulación de fracciones de proteína. Para la fracción rica en glutenina el mayor valor se obtuvo en calor y riego limitado, probablemente relacionado con un llenado de grano menor que en condiciones normales concordando con los resultados de Guttierri *et al.* (2001), los cuales al aplicar déficits severos de agua afectaron la calidad final de diversos cultivares de trigo; de

igual manera, Labuschagne *et al.* (2009) observaron que al incrementar las temperaturas durante el llenado de grano se incrementa la cantidad de fracciones de gluteninas. La acumulación de las diferentes fracciones de proteínas es altamente asincrónica, debido a que las condiciones que acortan el llenado de grano, tales como altas temperaturas o sequía, afectan el balance de las fracciones proteicas (Jamieson *et al.*, 2001). Panozzo *et al.* (2001) y Daniel y Triboi, (2002) al analizar la cinética de acumulación de gliadinas y gluteninas de alto y bajo peso molecular en cultivos con y sin riego no encontraron un efecto significativo de la sequía; similarmente, con sequía en post-antesis se afectó la proporción de polímeros solubles e insolubles en dodecil sulfato sódico, por lo que concluyeron que la sequía en post-antesis acorta el periodo de llenado de grano antes que se lleve a cabo la insolubilización de polímeros. Para la relación 50PS/50PI el mayor valor correspondió a la fertilización con azufre, resultados que son similares a los encontrados por Tea *et al.* (2004).

3.5. Conclusiones

El genotipo y el ambiente tienen un gran efecto sobre las variables de calidad de la masa, así como las fracciones de glutenina y gliadina, y su relación.

Las mejores combinaciones alélicas de gluteninas de alto y bajo peso molecular obtenidas en líneas de la cruzada Rebeca F2000 × Verano S91 para la industria panadera con respecto a tiempo de amasado y fuerza de la masa fueron los genotipos con 1,17+18,5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b*; 1,17+18,5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b* y 2*,17+18,5+10-/*Glu-A3c*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b*, en extensibilidad de la masa 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*, en la fracción rica en gliadina 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b* y 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*

para fracción rica en glutenina 2*,17+18,5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b* y en la relación 50PS/PI 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b*.

El tiempo de amasado fue mayor cuando aumenta la temperatura. La mejor extensibilidad de la masa se obtuvo en el ambiente bajo condiciones normales. La fracción rica en gliadina fue mayor cuando se realizó fertilización con azufre. Un incremento de la fracción rica en glutenina se obtuvo con riego limitado y aumento de temperaturas en llenado de grano. La mayor relación 50PS/50PI se obtuvo cuando se aplica fertilización con azufre.

3.6. Agradecimientos

Los autores agradecen al CONACYT (Proyectos: 067698) el financiamiento otorgado para la realización de la presente investigación.

3.7. Bibliografía

AACC. 1995. Approved Methods of the AACC. 9th ed. American Association of Cereal Chemist. St. Paul, MN, USA.

Altenbach, S. B., K. M. Kothari, y D. Lieu. 2002. Environmental conditions during wheat grain development alter temporal regulation of major gluten protein genes. *Cereal Chem.* 79: 279-285.

Autran, J.C. 1994. Size-exclusion high-performance liquid chromatography for rapid examination of size differences of cereal proteins. *In: High-Performance Liquid*

Chromatography of Cereal and Legume Proteins. J.E. Kruger and J.A. Bietz (eds.). American Association of Cereal Chemists. St. Paul MN, USA. pp: 326-391.

Bietz, J.A. 1986. High-performance liquid chromatography of cereal proteins. *Adv. Cereal Sci. Technol.* 8: 105-170.

Branlard, G. M., Dardevet, N., Amiour, y G. Igrejas. 2003. Allelic diversity of HMW and LMW glutenin subunits and omega-gliadins in French bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Gen. Res. Crop Evol.* 50: 669–679.

Carceller, J. L., y T. Aussenac. 1999. Accumulation and changes in molecular size distribution of polymeric proteins in developing grains of hexaploid wheats: role of the desiccation phase. *Aust. J. Plant Physiol.* 26: 301-310.

Corbellini, M., M.G. Canevar, L. Mazza, M. Ciaffi, D. Lafiandra, y B. Borghi. 1997. Effect of the duration and intensity of heat shock during grain filling on dry matter and protein accumulation, technological quality and protein composition in bread and durum wheat. *Aust. J. Plant Phisiol.* 24: 245-260.

Daniel, C., y E. Triboï. 2000. Effects of temperature and nitrogen nutrition on the grain composition of winter wheat: effects on gliadin content and composition. *J. Cereal Sci.* 32: 45–56.

- Daniel, C., y E. Triboï. 2002. Changes in wheat protein aggregation during grain development: effects of temperatures and water stress. *Eur. J. Agron.* 16: 1–12.
- Douliez, J.P., T. Michon, K. Elmorjani, y D. Marion. 2000. Structure, biological and technological functions of lipid transfer proteins and indolines, the major lipid binding proteins from cereal kernels. *J. Cereal Sci.* 32: 1-20.
- Dubcovsky, J., L. Bullrich, M. Echaide, A.R. Schlatter, M. M. Manifesto, G. Tranquilli, L.A. Pfluger, S.E. Feingold, A.J. Barneix, H.E. Hopp, y E.Y. Suárez. 2000. Determinantes genéticos de la calidad panadera de los trigos argentinos. *Revista de Investigaciones Agropecuarias* 29: 1-30.
- DuPont, F.M., y S.B. Altenbach. 2003. Molecular and biochemical impacts of environmental factors on wheat grain development and protein synthesis. *J. Cereal Sci.* 38: 133-146.
- DuPont, F.M., R. Chan, S. Altenbach, W. J. Hurkman, and C. K. Tanaka. 1998. Effect of heat stress on flour composition and quality for several American bread wheats. *In: Proceedings of the 9th International Wheat Symposium*. Slinkard, A. E. (ed). University Extension Press. University of Saskatchewan. Saskatoon, Saskatchewan, Canada. pp: 70-79.
- Espitia R., E., R. Peña B., E. Villaseñor M., J. Huerta E., y A. Limón O. 2003. Calidad industrial de trigos harineros mexicanos para temporal. I. Comparación de variedades y causas de la variación. *Rev. Fitotec. Mex.* 26: 249-256.

- Gianibelli, M.C., O.R. Larroque, F. MacRitchie, y C.W. Wrigley. 2001. Biochemical, genetic, and molecular characterization of wheat endosperm proteins. American Association of Cereal Chemists. Publication No. C-2001-0926-01O. Online Review. <http://www.aaccnet.org/cerealchemistry/freearticle/gianibelli.pdf> (Consultado el 11/Enero/10).
- Graybosch, R. A., C.J. Peterson, P.S. Baezinger, y D.R. Shelton. 1995. Environmental modification of hard red winter wheat flour protein composition. *J. Cereal Sci.* 22: 45-51.
- Gupta, R.B., I.L. Batey, y F. MacRitchie. 1992. Relationships between protein composition and functional properties of wheat flours. *Cereal Chem.* 69: 125–131.
- Guttieri, M.J., J.C. Stark, K. O'Brien, and E. Souza. 2001. Relative sensitivity of spring wheat grain yield and quality parameters to moisture deficit. *Crop Sci.* 41: 327–335.
- Jackson, E. A., M. H. Morel, T. Sontag-Strohm, G. Branlard, E. V. Metakovsky, y R. Redaelli. 1996. Proposal for combining the classification systems of alleles of *Gli-1* and *Glu-3* loci in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Genet. Breed.* 50:321-336.
- Jamieson, P.D., P.J. Stone, and M.A. Semenov. 2001. Towards modelling quality in wheat— from grain nitrogen concentration to protein composition. *Asp. Appl. Biol.* 64: 111–126.

- Jia, Y.Q., V. Masbou, T. Aussenac, J.L. Fabre, y P. Debaeke. 1996. Effects of nitrogen fertilization on maturation conditions on protein aggregates and on the breadmaking quality of Soissons, a common wheat cultivar. *Cereal Chem.* 3: 123–130.
- Juhász, A., F. Békés, Gy. Vida, L. Láng, L. Tamás, y Z. Bedö. 2000. Quantitative analyses of storage proteins of an old Hungarian wheat population using the SE-HPLC method. *In: Proceedings of the 7th International Workshop Gluten.* 2-6 April, 2000. Held at University of Bristol. Wheat Gluten. P.R Shewry y A.S. Tatham (eds.). Special Publication No. 261. Royal Society of Chemistry. Bodmin, Cornwall, U.K. pp: 34-37.
- Labuschagne, M.T., O. Elago, y E. Koen. 2009. Influence of extreme temperatures during grain filling on protein fractions, and its relationship to some quality characteristics in bread, biscuit, and durum wheat. *Cereal Chem.* 86(1): 61-66.
- Panozzo, J. F., y H. A. Eagles. 2000. Cultivar and environment effects on quality characters in wheat. II. Protein. *Aust. J. Agric. Res.* 51: 629-636.
- Panozzo, J.F., H.A. Eagles, y M. Wootton. 2001. Changes in protein composition during grain development in wheat. *Aust. J. Agric. Res.* 52: 485–493.
- Payne, P. I., J. A. Seekings, A. J. Worland, M. G. Jarvis, y L. M. Holt. 1987. Allelic variations of glutenin subunits and gliadins and its effect on breadmaking quality in wheat: analysis of F₅ progeny from “Chinese Spring” x “Chinese Spring” (Hope 1A). *J. Cereal Sci.* 6: 103-118.

Peña, R. J. 2002. Wheat for bread and other foods. *In: Bread Wheat. Improvement and Production.* B. C. Curtis, S. Rajaram, y H. Gómez Macpherson (eds). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. pp: 483-542.

Radovanovic, C. N., S. Cloutier, D. Brown, D. G. Humphreys, y O. M. Lukow. 2002. Genetic variance for gluten strength contributed by high molecular weight glutenin proteins. *Cereal Chem.* 79(6): 843-849.

Sapirstein, H. D., y 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 Chem.*75: 500-507.

SAS Institute. 1997. SAS/STAT Software: Changes and Enhancements through Release 6.12. SAS Institute. Cary, N.C.

Shewry, P.R., y N.G. Halford. 2002. Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *J. Exp. Bot.* 53: 947–958.

Shewry, P.R., N.G. Halford, A.S. Tatham, Y. Popineau, D. Lafiandra, y P.S. Belton. 2003. The high molecular weight subunits of wheat glutenin and their role in determining wheat processing properties. *Adv. Food Nutr. Res.* 45: 219-302.

Singh, N. K., K. W. Shepherd, y G. B. Cornish. 1991. A simplified SDS-PAGE procedure for separating LMW subunits of glutenin. *Journal Cereal Science* 14: 203-208.

Southan, M., y F. MacRitchie. 1999. Molecular weight distribution of wheat proteins. *Cereal Chem.* 76: 827-836.

Souza, E.J., J.M. Martin, M.J. Guttieri, K.M. O'Brien, D.K. Habernicht, S.P. Lanning, R. McLean, G.R. Carlson, y L.E. Talbert. 2004. Influence of genotype, environment, and nitrogen management on spring wheat quality. *Crop Sci.* 44: 425-432.

Stone, P.J., y M.E. Nicolas. 1996. Varietal differences in mature protein composition of wheat resulted from different rates of polymer accumulation during grain-filling. *Aust. J. Plant Physiol.* 23: 727-737.

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

Tea, I., T. Genter, N. Naulet, V. Boyer, M. Lummerzheim, y D. Kleiber. 2004. Effect of foliar sulfur and nitrogen fertilization on wheat storage protein composition and dough mixing properties. *Cereal Chem.* 81(6): 759-766.

Triboï, E., A. Abad, A. Michelena, J. Lloveras, J.L. Ollier, y C. Daniel. 2000. Environmental effects on the quality of two wheat genotypes. 1. Quantitative and qualitative variation of storage proteins. *Eur. J. Agron.* 13: 47–64.

Uthayakumaran, S., P.W. Grass, F.L. Stoddard, y F. Bekes. 1999. Effect of varying protein content and glutenin-to-gliadin ratio on the functional properties of wheat dough. *Cereal Chem.* 76(3): 389-394.

Uthayakumaran, S. y O.M. Lukow. 2005. Improving wheat for bread and tortilla production by manipulating glutenin-to-gliadin ratio. *J. Sci. Food Agric.* 85: 2111-2118.

Wieser H., y W. Seilmeier. 1998. The influence of nitrogen fertilization on quantities and proportions of different protein types in wheat flour. *J. Sci. Food Agric.* 76: 49–55.

Zhu J., y K. Khan. 2001. Effects of genotype and environment on glutenin polymers and breadmaking quality. *Cereal Chem.* 78: 125–130.

Cuadro 2. Cuadrados medios del análisis de varianza de la calidad de trigos harineros (Cruza Rebeca F2000 × Verano S91). Roque, Gto., Otoño-Invierno/2006-2007.

Fuente de variación	gl	MTA	ALVW	ALVPL	50PS	50PI	50PS/50PI
Repeticiones	1	0.001 ns	2441.2 ns	0.029 ns	2.66 ns	2.65 ns	0.053 ns
Ambientes (A)	4	0.402 **	13819.5 **	0.942 **	583.08**	583.11 **	3.83 **
G×A	86	0.202 **	2571.0 ns	0.095**	17.93 **	17.91 **	0.139 **
Genotipos (G)	25	4.3 **	65553.6**	0.760 **	32.78 **	32.76 **	0.251 **
Combinaciones	6	10.4 **	166473.1 **	1.78 **	56.23 **	56.21 **	0.458 **
Locus <i>Glu-A1</i>	1	17.0 **	34030.8 **	0.382ns	23.26 ns	23.20 ns	0.218ns
Locus <i>Glu-D1</i>	1	54.2 **	996486.5 **	2.1**	232.28**	232.30 **	1.9**
Locus <i>Glu-A3</i>	1	45.8**	475630.9**	1.3**	83.22 ns	83.21 ns	0.587*
Locus <i>Glu-B3</i>	2	0.594 ns	61742.8 **	2.0**	0.06 ns	9.03 ns	0.0332 ns
Error [†]	113	0.09	2313.1	0.057	307.9	302.3	0.058

*, **, ns Diferencias significativas, altamente significativas y no significativas, respectivamente; gl: grados de libertad; [†] Error del análisis general. MTA: Tiempo de amasado (min); ALVW: Fuerza de la masa; ALVPL: Extensibilidad de la masa; 50PS: Fracción rica en gliadina; 50PI: Fracción rica en glutenina; 50PS/50PI: relación fracción rica en gliadina/fracción rica en glutenina.

Cuadro 3. Medias por combinación de alelos de gluteninas de alto y bajo peso molecular de trigos harineros, Roque, Gto., Otoño-Invierno/2006-2007.

G-APM	2*, 17+18, 2+12	2*, 17+18, 2+12	2*, 17+18, 5+10	1, 17+18, 5+10	1, 17+18, 5+10	1, 17+18, 5+10	1, 17+18, 5+10
G-BPM	e, h, b	e, g, b	c, g, b	e, h, b	e, g, b	c, h, b	c, g, b
Combinación	1	2	3	4	5	6	7
	(Verano S91)			(Rebeca F2000)			
n	18	50	38	28	29	32	35
MTA (min)	2.32 c	2.20 c	3.50 a	2.83 b	3.11 ab	3.51 a	3.42 a
ALVW ($\times 10^{-4}$ J)	201.47 b	212.38 b	378.74 a	367.88 a	329.04 a	345.41 a	353.63 a
ALVPL (0.1-6)	0.606 d	0.850 bcd	1.362 a	0.845 bcd	1.08 ab	0.731 cd	0.965 bc
50PS (%)	66.29 a	66.45 a	63.09 b	65.09 ab	63.38 b	65.03 ab	64.52 ab
50PI (%)	33.70 b	33.54 b	36.90 a	34.90 ab	36.61 a	34.96 ab	35.47 ab
50PS/50PI	1.96 ab	1.99 a	1.70 c	1.86 abc	1.73 bc	1.86 abc	1.81 abc

Medias con la misma letra dentro de hileras no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$). MTA: Tiempo de amasado (min); ALVW: Fuerza de la masa (10^{-4} J); ALVPL: Extensibilidad de la masa; 50PS: Fracción rica en gliadina; 50PI: Fracción rica en glutenina; 50PS+50PI: Proteína total de reserva; 50PS/50PI: relación fracción rica en gliadina/fracción rica en glutenina.

Cuadro 4. Coeficientes de correlación de Pearson de la Cruza Rebeca F2000 × Verano S91, Roque, Gto., Otoño-Invierno/2006-2007.

	MTA	ALVW	ALVPL	50PS	50PI	50PS/50PI
MTA	1.00	0.61**	0.07 ns	-0.41**	0.30**	-0.49**
ALVW		1.00	0.07 ns	-0.07 ns	0.37**	-0.38**
ALVPL			1.00	-0.29**	0.01 ns	-0.17*
50PS				1.00	0.12 ns	0.42**
50PI					1.00	-0.82**
50PS/50PI						1.00

*, **, ns diferencias significativas, altamente significativas y no significativa; MTA: Tiempo de amasado (min); ALVW: Fuerza de la masa(10^4 J); ALVPL: Extensibilidad de la masa; 50PS: Fracción rica en gliadina; 50PI: Fracción rica en glutenina; 50PS/50PI: Relación fracción rica en gliadina/ fracción rica en glutenina.

Cuadro 5. Medias por alelo de las gluteninas de alto peso molecular (loci *Al* y *D1*) en líneas de la cruza Rebeca F200 × Verano S91 de trigos harineros. Roque, Gto., O-I/2006-2007.

Variable	Locus <i>Glu-A1</i>		Locus <i>Glu-D1</i>	
	1	2*	2+12	5+10
Tiempo de amasado (min)	3.21 a [†]	2.68 b	2.23 b	3.28 a
Alveograma-W (10^4 J)	352.33 a	268.97 b	209.8 b	358.29 a
Alveograma-P/L (0.1-6)	0.906 a	0.993 a	0.793 b	1.009 a
50PS (%)	64.52 a	65.23 a	66.41 a	64.20 b
50PI (%)	35.47 a	34.76 a	33.58 b	35.80 a
50PS/50PI	1.81 a	1.87 a	1.97 a	1.79 b

Medias con la misma letra dentro de hileras son estadísticamente iguales (Tukey, $P \leq 0.05$). 50PS: Fracción rica en gliadina; 50PI: Fracción rica en glutenina; 50PS/50PI: Relación fracción rica en gliadina/ fracción rica en glutenina.

Cuadro 6. Medias por alelo de las gluteninas de bajo peso molecular (Loci *Glu-A3* y *Glu-B3*) en la cruza Rebeca F2000 x Verano S91 de trigos harineros. Roque, Gto., O-I/2006-2007.

Variable	Locus <i>Glu-A3</i>		Locus <i>Glu-B3</i>	
	c	e	h	g
Tiempo de amasado (min)	3.44 a	2.57 b	2.99 a	2.96 a
Alveograma-W (10^4 J)	364.01 a	270.79 b	322.59 a	310.55 a
Alveograma-P/L (0.1-6)	1.027 a	0.87 b	0.74 b	1.04 a
50PS (%)	64.17 a	65.42 a	65.34 a	64.60 a
50PI (%)	35.82 a	34.57 a	34.66 a	35.39 a
50PS/50PI	1.79 b	1.89 a	1.88 a	1.82 a

Medias con la misma letra dentro de hileras son estadísticamente iguales (Tukey, $P \leq 0.05$). 50PS: Fracción rica en gliadina; 50PI: Fracción rica en glutenina; 50PS/50PI: Relación fracción rica en gliadina/ fracción rica en glutenina.

Cuadro 7. Medias por ambiente (tratamientos aplicados) de líneas de trigos harineros de la cruza Rebeca F2000 x Verano S91, Roque, Gto. O-I/2006-2007.

Variable	1	2	3	4	5
n	46	48	44	50	46
Tiempo de amasado (min)	2.98 b	2.57 d	2.77 c	2.94 bc	3.62 a
Alveograma-W (10^4 J)	331.47 a	308.64 a	308.22 a	307.92 a	318.50 a
Alveograma-P/L (0.1-6)	1.09 a	0.95 b	0.98 ab	0.694 c	1.06 ab
50PS (%)	62.91 c	69.34 a	65.57 b	66.49 b	59.61 d
50PI (%)	37.08 b	30.65 d	34.42 c	33.50 c	40.38 a
50PS/50PI	1.69 c	2.26 a	1.90 b	1.98 b	1.47 d

Medias con la misma letra dentro de hileras son estadísticamente iguales (Tukey, $P \leq 0.05$). 50PS: Fracción rica en gliadina; 50PI: Fracción rica en glutenina; 50PS/50PI: Relación fracción rica en gliadina/ fracción rica en glutenina.

**IV. EFECTO DE DIFERENTES COMBINACIONES DE GLUTENINAS DE ALTO Y
BAJO PESO MOLECULAR EN LA CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNAS
MONOMÉRICAS Y POLIMÉRICAS, Y EN LA ESTABILIDAD DE LAS
PROPIEDADES REOLÓGICAS DE LAS HARINAS DE TRIGO**

**EFFECT OF DIFFERENT HIGH AND LOW-MOLECULAR WEIGHT GLUTENIN
COMBINATIONS ON THE CONCENTRATION OF MONOMERIC AND
POLIMERIC PROTINS, AND THE STABILITY OF RHEOLOGICAL PROPERTIES
OF WHEAT A FLOURS**

**Micaela De la O Olán*¹, Eduardo Espitia Rangel², José D. Molina Galán¹, Héctor E.
Villaseñor Mir², Higinio López Sánchez³ y Roberto J. Peña Bautista⁴**

¹Programa de Recursos Genéticos y Productividad, Colegio de Postgraduados. Km. 36.5 Carr. México-Texcoco. C.P. 56230. Montecillo, Edo. de México. ²Programa de Trigo, Campo Experimental Valle de México, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. C.P. 56230 Chapingo, Edo. de México (micad@colpos.mx). ³Campus Puebla-Colegio de Postgraduados. Km. 125.5 Carretera Federal México-Puebla. Santiago, Momoxpan, Municipio de San Pedro Cholula, Puebla. C.P. 72720. ⁴Programa de Trigo, Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. Apdo. Postal 6-641. C.P. 06600. México, D.F.

*Autor para correspondencia

4.1. Resumen

Los cambios en la estabilidad de la calidad del trigo en respuesta a las variaciones agro-ambientales afectan una eficiente selección en un programa de fitomejoramiento. El objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto de diversas combinaciones alélicas de gluteninas de alto (G-APM) y bajo peso molecular (G-BPM) sobre la distribución de proteína monomérica y polimérica (fracciones ricas en gliadina y glutenina, respectivamente), y la estabilidad en características de calidad industrial del trigo cultivado bajo diferentes condiciones agro-ambientales, en un grupo de 26 líneas derivados de la cruce entre los trigos harineros de temporal Rebeca-F2000 y Verano-S91. El experimento se desarrolló en cinco condiciones ambientales considerando los factores riego, fertilización y fechas de siembra en el ciclo Otoño-Invierno 2006-2007 en Roque, Gto., México. Se efectuó un fraccionamiento de proteínas de la harina por solubilidad en 50 % propanol para obtener la fracción rica en proteína monomérica o gliadina (50PS) y rica en proteína polimérica o glutenina (50PI). La cuantificación de las proteínas se hizo por espectrofotometría a 280 nm. Adicionalmente se determinó la relación 50PS/50PI. En las harinas se evaluó el tiempo de amasado (TMA), fuerza (ALVW) y extensibilidad (ALVPL) de la masa. Se identificaron siete combinaciones alélicas de G-APM y G-BPM, la mayoría de los caracteres de calidad mostraron una tendencia lineal a través de los ambientes, obteniéndose calidad similar en las diferentes condiciones agro-ambientales. La combinación más estable para fracción rica en gliadina y fracción rica en glutenina fue 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*. La combinación 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b* presentó la relación 50PS/50PI más alta en ambientes restrictivos (índice ambiental negativo) y la mayor cantidad de proteína. En calidad de trigo, la variedad ideal es aquella con un valor medio óptimo con muy baja variación en los parámetros de calidad a través de un amplio espectro de ambientes. Es muy difícil encontrar un genotipo que satisfaga una buena calidad y con una gran estabilidad en todos los ambientes.

Palabras clave: Trigo harinero, características reológicas, estabilidad en calidad, ambiente.

4.2. Introducción

La calidad del trigo harinero es un carácter muy complejo que depende de factores genéticos y ambientales. Dos factores determinantes de la calidad son la cantidad total de proteína del grano, altamente influenciada por factores ambientales, y la calidad de ésta, la cual también es influenciada tanto por factores genéticos como ambientales (Espitia *et al.*, 2003). El aumento en la calidad de harina se puede deber tanto a un aumento de la cantidad de proteína del grano como a un cambio en la composición cualitativa de la misma. En la fracción proteica del grano se encuentran dos grandes grupos de proteínas: el de proteínas metabólicas conformado por albúminas y globulinas, y el de proteínas de reserva, conformado por gliadinas y gluteninas. La composición de los alelos de glutenina de alto (G-APM) y de bajo (G-BPM) peso molecular, no es influenciada por el ambiente ni por el contenido proteico y ha sido asociada con propiedades de la masa (Hoseney, 1991). Las subunidades de G-APM son codificadas por genes en tres loci diferentes, *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1*, localizados en los cromosomas 1A, 1B y 1D, respectivamente (Southan y MacRitchie, 1999). Entre los alelos de gluteninas que tienen un efecto conocido sobre las características de la fuerza del gluten se encuentran 1, 2*, 7+8, 7+9, 13+16, 17+18 y 5+10, con efecto positivo; los alelos 7+9 y 2+12, con efecto intermedio, y 0, 7, 20, 13+19, 3+12 y 4+12, con efecto negativo (Pogna *et al.*, 1992). Por otro lado, el complejo *Glu-3*, el cual conforman los loci *Glu-A3*, *Glu-B3* y *Glu-D3*, afecta de manera general la extensibilidad del gluten (Liu *et al.*, 2005). El efecto individual de los alelos de G-APM sobre las propiedades reológicas ha sido estudiado extensivamente, en cambio, debido a su alta complejidad el efecto individual de los alelos del complejo *Glu-3* y el producto de combinaciones alélicas *Glu-1/Glu-3* en las propiedades del gluten y la distribución de las

fracciones ricas en gliadinas y gluteninas no han sido estudiadas a profundidad (Martínez-Cruz *et al.*, 2007; Peña *et al.*, 2002).

Los objetivos de la producción de trigo en México han cambiado significativamente en los últimos años, ya que a la exigencia de altos rendimientos, se ha sumado la necesidad de producir trigos con calidades diferenciadas para atender demandas del mercado interno y externo. Estos requerimientos deberían, además, estar acompañados por adaptabilidad y estabilidad para esos caracteres a través de ambientes y prácticas de manejo contrastantes (Miranda *et al.*, 1998). En tal sentido, son numerosas las contribuciones que consideran la relación genotipo-ambiente, en particular la de aquellos caracteres cuantitativos como rendimiento y calidad, fuertemente influenciados por condiciones ambientales (Finlay y Wilkinson, 1963). Además del rendimiento, el sector productor/acopiador considera importante el peso hectolítrico, el contenido de gluten y el de proteína, ya que inciden sobre el precio del producto. Por su parte, el sector molinero considera que la fuerza (W) y la relación entre tenacidad y elasticidad de la misma (P/L) son los parámetros que más inciden en la calidad. Peterson *et al.* (1992) mencionan que el concepto de genotipo óptimo de la estabilidad y la respuesta de los parámetros de calidad diferente se utilizan convencionalmente para describir la estabilidad del rendimiento.

Bucio-Alanis (1966) desarrolló un modelo para medir el componente de interacción genotipo-ambiente en *Nicotiana rustica* usando una ecuación de regresión lineal, determinando que una variedad interacciona menos con el ambiente cuando la pendiente β tienda a cero, sea ésta positiva o negativa (Molina, 1992). Eberhart y Russell (1966) introdujeron el concepto de estabilidad de una variedad en diferentes ambientes, sólo que, para estos investigadores la estabilidad se da cuando la pendiente de regresión es cercana a 1 a través de un índice o gradiente ambiental. Márquez (1976) discute las dos metodologías y concluye que ambos procedimientos miden el mismo componente de interacción pero en

escalas diferentes. La definición convencional de estabilidad implica que el valor genotípico cambia igualmente con el ambiente (Rodríguez *et al.*, 2002). Para el mejorador, el concepto de estabilidad en la calidad o respuesta al ambiente representa los cambios fenotípicos del genotipo a través de ambientes diferentes que afectan la eficiencia de la selección. Para los molineros y panaderos la consistencia en la calidad de las variedades es muy importante, ya que con una buena estabilidad de calidad de harina no requiere de cambios en los procesos. De cualquier modo, la definición convencional de estabilidad no es la adecuada para caracteres de calidad industrial, en la cuál la expresión óptima de un carácter es un rango pequeño con respecto a la expresión máxima o mínima de la característica. En este caso, de acuerdo con Espitia *et al.* (1999), lo más deseable es el concepto de estabilidad absoluta ($b_i=0$) descrita por Finlay y Wilkinson (1963); por lo tanto, la estabilidad de un genotipo óptimo en la calidad debe tener pequeñas desviaciones de regresión, un coeficiente de regresión que se aproxime a cero tanto como sea posible, y la expresión del carácter debe estar en el rango óptimo.

Durante el desarrollo del cultivo y el llenado del grano, las temperaturas, la distribución de las precipitaciones, las heladas tardías y la duración del llenado del grano son factores ambientales que tienen influencia significativa en la variación de la calidad. El genotipo ideal sería aquel con un valor medio óptimo, con muy baja variación en los parámetros de calidad cuando se evalúa a través de diferentes ambientes. La región triguera de temporal en México representa una amplia gama de condiciones ambientales diferentes; es por ello que el objetivo de esta investigación fue determinar las combinaciones alélicas de G-APM y G-BPM que influyen en la calidad de la harina, y estudiar la estabilidad que confieren dichas combinaciones con fines de calidad industrial en genotipos de trigo harinero de temporal.

4.3. Materiales y Métodos

Se utilizaron 24 líneas desarrolladas por descendencia de una sola semilla de F₂ a F₇ a partir de la cruce entre las variedades Rebeca F2000 x Verano S91. Rebeca F2000, posee los alelos de gluteninas de alto peso molecular en *Glu-A1* 1, *Glu-B1* 17+18 y *Glu-D1* 5+10, y de bajo peso molecular en *Glu-A3c*, *Glu-B3g* y *Glu-D3b*; mientras que Verano S91 posee los alelos de gluteninas de alto peso molecular en *Glu-A1* 2*, *Glu-B1* 17+18 y *Glu-D1* 2+12, y las de bajo peso molecular *Glu-A3e*, *Glu-B3h* y *Glu-D3b*. Con la cruce de los dos progenitores se obtuvieron siete combinaciones diferentes de G-APM y BPM. Los 26 líneas se sembraron en el Campo Experimental del Bajío (CEBAJ) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Roque, Gto., en el ciclo Otoño-Invierno/2006-2007. El cultivo se desarrolló en cinco ambientes generados mediante manejo agronómico: riego y fertilización normal, riego restringido, bajo nitrógeno, aplicación de azufre y calor durante el llenado de grano (siembra en fecha tardía).

Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con dos repeticiones. La unidad experimental consistió de cuatro surcos de un metro de longitud con una separación de 30 cm entre ellos. Las siembras y conducción del cultivo se realizaron de acuerdo con las recomendaciones del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) en la región.

Los análisis de calidad se efectuaron en el Laboratorio de Calidad de Trigo del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). La dureza de grano y contenido de proteína fueron determinadas por medio de espectroscopia en el rango del espectro infrarrojo cercano (NIRS, por sus siglas en inglés), utilizando un equipo NIRSystems 6500 (FOSS-Tecator). Las propiedades reológicas de las harinas fueron determinadas en el Mixógrafo y el Alveógrafo, utilizando métodos de la American Association of Cereal

Chemists (AACC, 2000). En el Mixógrafo National se utilizó absorción variable para determinar el tiempo de amasado, y en el Alveógrafo de Chopin absorción variable (50-55%), con base en la dureza del grano (Peña *et al.*, 1990) para determinar fuerza de masa W (ALVW) y la relación tenacidad/extensibilidad P/L (ALVPL). Las proteínas del gluten fueron fraccionadas con base en su solubilidad en propanol al 50% en gliadinas y en gluteninas, seguidas de separación por electroforesis (SDS-PAGE) en subunidades de gliadinas y de gluteninas, utilizando el procedimiento de Peña *et al.*, (2004). Las subunidades de glutenina de alto peso molecular (G-APM) se identificaron con base en la nomenclatura propuesta por Payne *et al.*, (1987) y las de bajo peso molecular (G-BPM), de acuerdo con Singh *et al.* (1991), Jackson *et al.* (1996) y Branlard *et al.* (2003). En el *locus Glu-D3* se usó la nomenclatura de Branlard *et al.* (2003).

El fraccionamiento y cuantificación de las proteínas se hizo por espectrofotometría de acuerdo con el protocolo de Suchy *et al.*, (2007), de la siguiente manera. Se colocaron 10 mg de harina refinada (humedad base de 140 g kg⁻¹) en un tubo eppendorf de 2 mL, las muestras fueron extraídas con 1.8 mL de 2-propanol al 50 % (v/v) durante 30 min con agitación vigorosa en un Thermomixer Eppendorf (Eppendorf-Netheler, Hamburg, Germany) a 1,100 rpm y 25°C. Después de de la extracción, las muestras se centrifugaron a 12,000 rpm por 5 min. Los sobrenadantes fueron transferidos a tubos de 5 mL en duplicados, los cuales fueron colocados en el espectrofotómetro Beckman a 280 nm. Esta fracción, que contiene las proteínas monoméricas (rica en gliadinas), fue llamada 50PS (Proteína Soluble en propanol). Para el caso de la fracción de proteína soluble total (PST), la cual contiene del 90 al 95% de las proteínas presentes en la harina, se procedió de la misma manera que para 50PS, excepto que para la extracción en este caso, además de 2-propanol, se utilizaron 1.8 mL de ditioneitol (DTT) y la incubación se realizó a 55°C. El contenido de proteína insoluble en alcohol (50PI) rica en glutenina G-APM y G-BPM, o proteína polimérica en la harina fue calculada por la

diferencia entre el contenido de PST y 50PS. Las fracciones 50PS y 50PI se calcularon como proporciones, expresadas en porcentajes con respecto a PST. Adicionalmente, se calculó la relación entre las fracciones rica en gliadina/rica en glutenina (50PI/50PS).

Se realizó el análisis de varianza general para las variables estudiadas con las medias de cada una de las siete combinaciones en cada uno de los ambientes para obtener los cuadrados medios respectivos. La comparación de medias por ambiente y combinaciones obtenidas de la cruce Rebeca-F200 x Verano S-91 se realizó utilizando la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$) con el procedimiento GLM (SAS Institute, 1997). Los parámetros de estabilidad (b_i y S^2_{di}) de Eberhart y Russell, (1966) fueron estimados por regresión de las medias de las siete combinaciones de G-APM y G-BPM sobre los índices ambientales. El índice ambiental se calculó substrayendo la media general a la media de todos genotipos en cada una de las combinaciones en un ambiente específico. El Análisis de varianza, los índices ambientales, y los parámetros de estabilidad se hicieron con el paquete estadístico PARAM (Ortega y Magaña, 1998). Una combinación fue considerada como estable si $b_i \leq 1.0$. Adicionalmente, se calculó el análisis de regresión lineal simple para todos los ambientes en cada una de las variables bajo estudio.

4.4. Resultados y Discusión

En el Cuadro 1 se presentan los cuadrados medios del análisis de varianza para la estimación de parámetros de estabilidad de las variables de calidad industrial. Se observan valores cercanos o iguales a cero en alveograma-P/L y la relación 50PS/50PI (fracción rica en gliadinas/fracción rica en gluteninas). Las combinaciones de G-APM y G-BPM difirieron significativamente para tiempo de amasado, fuerza y extensibilidad de la masa, fracción rica en gliadinas (50PS), fracción rica en glutenina (50PI) y relación 50PS/50PI. Las diferencias entre las combinaciones evaluadas evidenciaron la existencia de variabilidad genética para

todos los caracteres de calidad industrial. La interacción combinaciones por ambiente fue significativa sólo para tiempo de amasado, indicando que las combinaciones de gluteninas difieren en comportamiento a través de los ambientes (Sahagún, 1992; Rodríguez *et al.*, 2002). Márquez (1992) y Sahagún (1992) señalan la complejidad que implican las interacciones significativas con el ambiente, como en este caso la de combinaciones \times ambientes para tiempo de amasado, cuya relevancia repercute en el campo porque causa dificultades en la estimación de parámetros genéticos, reduce el progreso de la selección, limita seriamente la posibilidad de identificar las combinaciones superiores, y obliga al fitomejorador a ejecutar técnicas de análisis más complejas para caracterizar genotipos en términos de su estabilidad para calidad.

De la cruce Rebeca F-2000 \times Verano S-91 se obtuvieron líneas que se pueden agrupar en siete combinaciones alélicas de gluteninas: 1) 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*, 2) 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b*, 3) 2*,17+18,5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b*, 4) 1,17+18,5+10/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*, 5) 1,17+18,5+10/*Glu-A3e*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b*, 6) 1,17+18,5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*, y 7) 1,17+18,5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b*.

Existieron pocos casos de desviaciones de regresión significativas, lo que indica que la mayoría de los caracteres mostraron una tendencia lineal a través de los ambientes (Cuadro 2). En la interpretación se toma en cuenta el concepto de estabilidad absoluta propuesto por Finlay y Wilkinson (1963), es decir, la mejor combinación de G-APM y G-BPM es la que no cambia a través de los ambientes, cuando $b_i=0$ y son consistentes las desviaciones de regresión (Espitia *et al.*, 1999).

Para el mejorador, el concepto de estabilidad de la calidad en respuesta al ambiente representa la respuesta del genotipo a los diferentes ambientes, la cual afectará la eficiencia a la selección. Para los molineros y panaderos la consistencia en la calidad de las variedades es muy importante, ya que la uniformidad en la calidad del trigo evita cambios costosos en los

procesos de industrialización. La variedad ideal sería aquella que tuviera un valor medio óptimo con baja variación en los parámetros de calidad cuando se evalúa a través de diferentes ambientes. En este contexto, para tiempo de amasado la combinación 6: 1,17+18,5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b* sería la más estable con un valor b_i menos alejado de cero ($b_i=0.62$) con una media aceptable para dicho carácter desde la perspectiva de la industria de la panificación. Algunos autores han observado que el tiempo de amasado decrece, en relación con un incremento en las temperaturas durante las dos últimas semanas de llenado de grano (Letta *et al.*, 2008); la combinación 1,17+18,5+10/*Glu-A3e*, *GluB3h*, *Glu-D3b* y 1-17+18-5+10-c-g-b no satisfacen los requisitos de estables porque poseen un $b_i \neq 0$, aunque de acuerdo con las desviaciones de regresión todas las combinaciones pueden considerarse como estables (estadísticamente $S^2_{di}=0$). En el caso de alveograma-W el mayor valor correspondió a la combinación 1,17+18,5+10/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*, pero en virtud de que el b_i es muy alto, se considera no estable. El valor ideal para fuerza de la masa es el que presenta la combinación 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b* pero de gluten medio fuerte tendiendo a débil.

Por lo anteriormente mencionado, la estabilidad en la calidad de las variedades es de gran importancia; actualmente la fuerza panadera (alveograma-W) es una variable muy usada no sólo en mejoramiento genético, sino a nivel de acopio en la industria y en la exportación, siendo un referente en la diferenciación de calidad por variedad o grupo de variedades (Letta *et al.*, 2008). Para alveograma-P/L el menor valor corresponde a genotipos con buena extensibilidad de la masa (Robert y Denis, 1996); en este estudio la combinación 1,17+18,5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b* es ideal para dicho carácter, además de tener el valor b_i más cercano a cero. En la fracción rica en gliadina el mayor valor se obtuvo con la combinación 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b*. En cuanto a las desviaciones de regresión, todas las combinaciones se consideran estables; sin embargo para el coeficiente de

regresión la más estable fue la combinación 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*. En la fracción rica en glutenina no se encontró mucha variación, correspondiendo la mayor cantidad a las combinaciones 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b* y 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*, y la más estable a los genotipos con la combinación 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*, con $b_i=0.67$.

Es difícil encontrar en la gama de variedades de trigo algún genotipo que satisfaga una calidad adecuada y estable. En la relación 50PS/50PI los valores más altos correspondieron a las combinaciones 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b* y 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*, mientras que los valores más estables a la combinación 2*,17+18,5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b*. De todo lo anterior se desprende que la estabilidad de un carácter debe ser estudiado de manera separada, de acuerdo con los objetivos del mejorador.

En la Figura 1 se presentan las líneas de tendencia de cada una de las combinaciones en los diferentes índices ambientales en todos los parámetros de calidad evaluados. Con las líneas de tendencia se observa que todas las combinaciones mejoraron en tiempo de amasado conforme mejoran las condiciones ambientales, lo que sería ideal bajo el concepto de estabilidad convencional (Rodríguez *et al.*, 2002). En relación con estabilidad de calidad el comportamiento más estable lo proporcionó la combinación 1,17+18,5+10/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*, porque es constante en todos los ambientes (favorables o no favorables). En alveograma-W se observa un patrón diferente; conforme mejoraron las condiciones ambientales no mejoró la fuerza de la masa; las combinaciones 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b*; 2*,17+18,5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b* y 1,17+18,5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b* serían las más estables por tener un coeficiente de regresión cercano a cero, pero en fuerza de la masa la mejor combinación fue 1,17+18,5+10/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*, aunque sólo en condiciones favorables. En extensibilidad de la masa (alveograma-P/L) es mejor tener valores más bajos para contar con mayor extensibilidad, observándose para todas las combinaciones, que no se mejoró la

extensibilidad conforme mejoraron las condiciones ambientales; la más estable resultó ser la combinación 1,17+18,5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*, y con una mayor extensibilidad la combinación 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*.

Para la fracción rica en gliadina se observa claramente que la combinación 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b* presentó la mayor cantidad, pero de mayor estabilidad gráficamente fue la combinación 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b* en todos los ambientes (índices ambientales negativos y positivos). En fracción rica en glutenina el comportamiento fue similar en la mayoría de las combinaciones, siendo la de mayor estabilidad la combinación 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*. En las líneas de tendencia se puede observar que la combinación 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b* fue la que presentó la relación 50PS/50PI más alta en ambientes restrictivos (índices ambientales negativos), pero en ambientes favorables la situación cambió ya que finalizó por debajo de la combinación 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b* aunque tuvo el mejor promedio.

4.5. Conclusiones

La mayoría de los caracteres de calidad mostraron una tendencia lineal a través de los ambientes. Para cada variable de calidad existe una combinación ideal de gluteninas de alto y bajo peso molecular, ya sea para estabilidad o para aumentar la calidad, dependiendo del propósito de cada mejorador.

Se obtuvieron siete combinaciones de G-APM y BPM en líneas de la cruce Rebeca F-2000 × Verano S-91: 1) 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*; 2) 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b*; 3) 2*,17+18,5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b*; 4) 1,17+18,5+10/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*; 5) 1,17+18,5+10/*Glu-A3e*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b*; 6) 1,17+18,5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*; y 7) 1,17+18,5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b*.

De acuerdo con los parámetros de estabilidad estudiados, la combinación más estable para fracción rica en gliadina y fracción rica en glutenina fue 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*, con el valor más cercano a $b_i=0$, con un comportamiento similar en todos los ambientes. La combinación 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b* fue la que presentó la relación 50PS/50PI más alta en ambientes restrictivos (índices ambientales negativos). Es muy difícil encontrar un genotipo que satisfaga una buena calidad y con una gran estabilidad en todos los ambientes.

Las combinaciones de G-APM y BPM difieren significativamente para tiempo de amasado, fuerza y extensibilidad de la masa, fracción rica en gliadinas, fracción rica en gluteninas y la relación 50PS/50PI. Es necesario seguir estudiando la estabilidad de las combinaciones de G-APM y BPM, así como su función en las fracciones proteicas que confieren las propiedades ideales al gluten.

4.6. Agradecimientos

Los autores agradecen al CONACYT (Proyecto 067698) el financiamiento otorgado para la realización de la presente investigación.

4.7. Bibliografía

AACC (1995) Approved Methods of the AACC. 9th ed. American Association of Cereal Chemists. St. Paul, MN, USA. 1268 p.

Branlard G, M Dardevet, N Amieur, G Igrejas (2003) Allelic diversity of HMW and LMW glutenin subunits and omega-gliadins in French bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Gen. Res. Crop Evol. 50: 669–679.

Bucio-Alanis L (1966) Environmental and genotype-environmental components of variability. I. Inbred lines. Heredity 21: 387-397.

Eberhart S A, W A Russell (1966) Stability parameters for comparing varieties. Crop Sci. 6: 36-40.

Espitia R E, R J Peña B, E Villaseñor M, J Huerta E, A Limón O (2003) Calidad industrial de trigos harineros mexicanos para temporal. I. Comparación de variedades y causas de la variación. Rev. Fitotec. Mex. 26 (4): 249-256.

Espitia R E, E Baengizer P S, R Graybosch A, D R Shelton, B Moreno-Sevilla, C J Peterson (1999) Agronomic performance and stability of 1AL.1RS genotypes derived from winter wheat “Nekota”. Crop Sci. 39(3): 649-654.

Finlay K W, G N Wilkinson (1963) The analysis of adaptation in a plant breeding program. Australian J. Agric. Research 14:342-754.

Hoseney R C (1991) Principios de Ciencia y Tecnología de Cereales. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 334 p.

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.). *J. Genet. Breed.* 50:321-336.

Letta T, M G D'Egidio, M Abinasa (2008) Stability analysis for quality traits in durum

wheat (*Triticum durum* Desf) varieties under South Eastern Ethiopian conditions.

World Journal of Agricultural Sciences 4(1): 53-57.

Liu L, H Z He, Y Yan, X C Xia R J Peña (2005) Allelic variations at the *Glu-1* and *Glu-3*

loci, presence of the 1B.1R translocation, and their effects on mixographic properties

in Chinese bread wheats. *Euphytica* 142: 197-204.

Márquez S F (1976) El problema de la interacción genotipo-ambiental en genotecnia vegetal.

Ed. PATENA. Depto. de Fitotecnia. Escuela Nacional de Agricultura. Chapingo, Edo.

de México. 113 p.

Márquez S F (1992) La interacción genético-ambiental en genotecnia vegetal. *In: Memorias*

del Simposio de Interacción Genético-Ambiental en Genotecnia Vegetal. Sánchez G.,

J., J. Ron P. y F. Márquez S. (eds). Sociedad Mexicana de Fitogenética. Guadalajara,

Jal. pp: 1-27.

Martínez-Cruz E, E Espitia-Rangel, I Benítez-Riquelme, R J Peña-Bautista, A

Santacruz-Varela, H E Villaseñor-Mir (2007) Efecto de gluteninas de alto peso

molecular de los genomas A y B sobre propiedades reológicas y volumen de pan en

trigos harineros. *Agrociencia* 41(2): 153-160.

Miranda R, N Salomón, M Poverene (1998) Adaptabilidad y estabilidad de la calidad industrial de trigo. IV Congreso Nacional de Trigo. Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina. 11–13/11. 1-16.

Molina G J D (1992) Introducción a la Genética de Poblaciones y Cuantitativa (Algunas Implicaciones en Genotecnia). AGT Editor. México, D.F. 370 p.

Ortega A J, Magaña T O (1998) Sistema de Análisis de Parámetros de Estabilidad (PARAM). Programa de análisis, Manual de Usuario. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

Payne P I, J A Seekings, A J Worland, M G Jarvis, L M Holt (1987) Allelic variations of glutenin subunits and gliadins and its effect on breadmaking quality in wheat: analysis of F₅ progeny from Chinese Spring × Chinese Spring (Hope 1A). *J. Cereal Sci.* 6: 103-118.

Peña R J (2002) Wheat for bread and other foods. *In: Bread Wheat. Improvement and Production.* Curtis B C, S S Rajaram, H Gómez-MacPherson (eds.). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. pp: 483-542.

Peña R J, R Trethowan, W H Pfeiffer, M van Ginkel (2002) Quality (end-use) improvement in wheat: compositional, genetic, and environmental factors. *In: Quality Improvement in Field Crops.* A. S. Basra, L.S. Randhawa (eds). Food Products Press, an imprint of the Haworth Press. Binghamton, New York. pp: 1-37.

- Peterson C J, P S Graybosch, P S Baenziger, A W Grombacher (1992)** Genotype and environment effects on quality characteristics of hard red winter wheat. *Crop Sci.* 32: 98-103.
- Pogna N E, R Rdaelli, T Dackevitch, A Curioni, A Dal Belin Perufo (1992)** Benefits from genetics and molecular biology to improve the end use properties of cereals. *In: Cereal Chemistry and Technology: a Long Past and a Bright Future.* Feillet P. (ed.). INRA. Montpellier, France. pp: 83-93.
- Robert N, J B Denis (1996)** Stability of baking quality in bread wheat using several statistical parameters. *Theor. Appl. Genet.* 93: 172-178.
- Rodríguez P J E, J Sahagún C, H E Villaseñor M, J D Molina G, A Martínez G (2002)** Estabilidad de siete variedades comerciales de trigo (*Triticum aestivum* L.) de temporal. *Rev. Fitotec. Mex.* 25: 143-151.
- Sahagún C J (1992)** El ambiente, el genotipo y su interacción. *Rev. Chapingo* 79-80: 5-12.
- SAS Institute (1997)** SAS/STAT Software: Changes and Enhancements through Release 6.12. SAS Institute. Cary, N.C. 5123 p.
- Singh N K, K W Shepherd, G B Cornish (1991)** A simplified SDS-PAGE procedure for separating LMW subunits of glutenin. *Journal Cereal Science* 14: 203-208.
- Southan M, F MacRitchie (1999)** Molecular weight distribution of wheat proteins. *Cereal Chem.* 76(6): 827-836.
- Suchy J, O M Lukow, D Brown, R DePauw, S Fox, S Humphreys (2007)** Rapid assessment of glutenin and gliadin in wheat by UV spectrophotometer. *Crop Sci.* 47: 91-99.

Cuadro 1. Cuadrados medios para la estimación de los parámetros de estabilidad de las variables de calidad industrial, fracciones de proteínas y proporciones de proteínas en siete combinaciones de G-APM y BPM de trigos harineros sembrados en cinco ambientes. Roque, Gto. O-I/2006-2007.

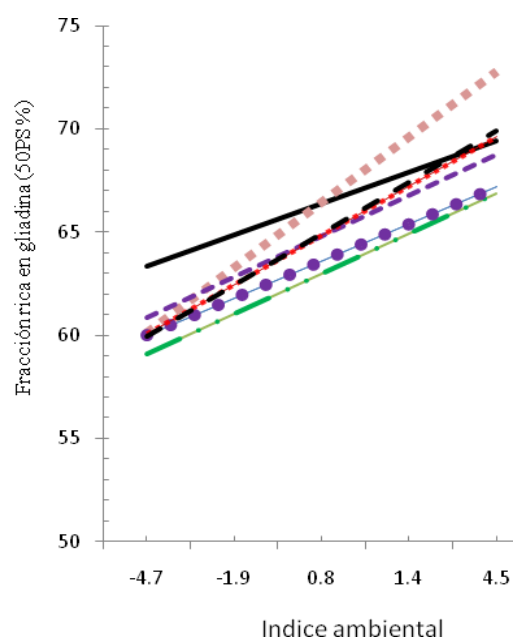
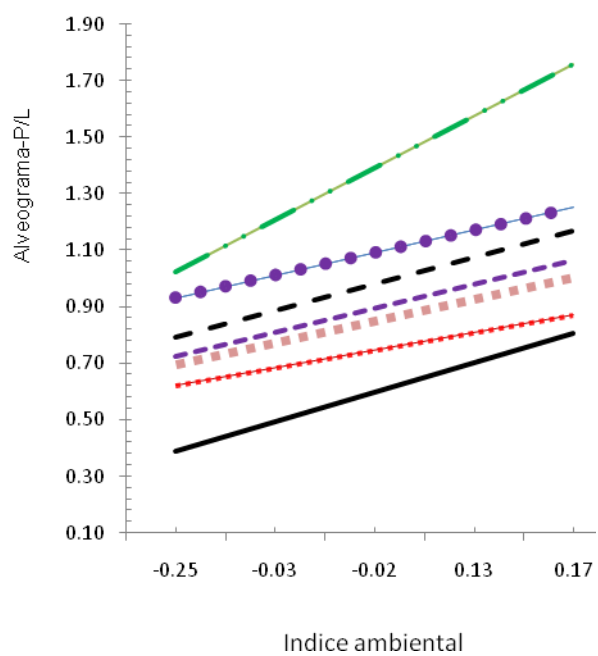
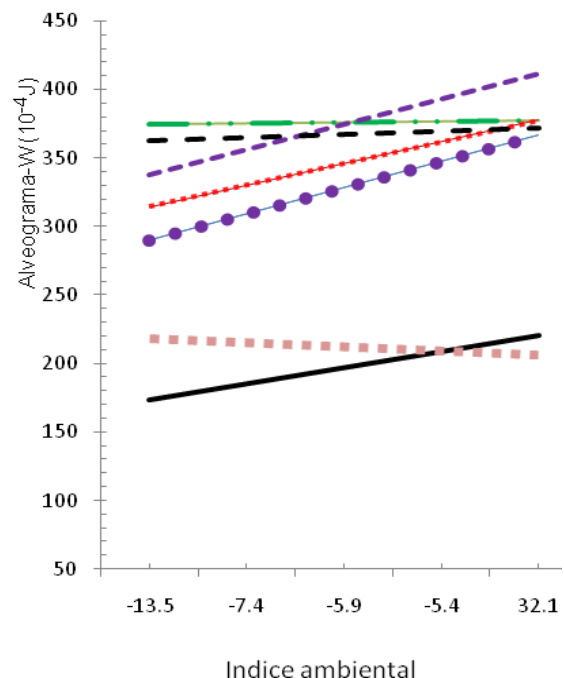
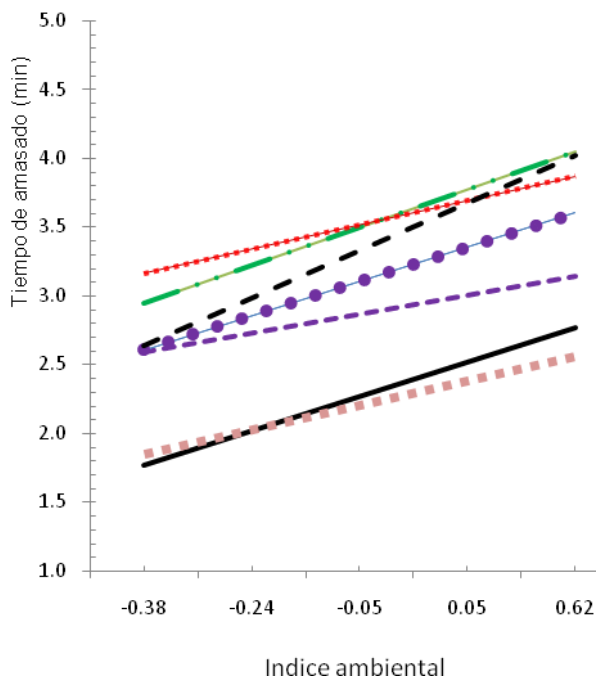
Fuente de variación	gl	MTA	ALVW	ALVPL	50PS	50PI	50PS/50PI
Combinaciones	6	1.51**	27796.5**	0.33**	8.39**	8.38**	0.06**
Ambientes	28						
Ambientes (lineal)	1						
Comb x Amb (lineal)	6	0.07*	818.83	0.01	3.0	3.0	0.03
Desviaciones Conjuntas	21	0.02	878.6	0.01	3.6	3.5	0.02
Combinación 1	3	0.05	113.7	0.01	5.9	5.9	0.03
Combinación 2	3	0.02	255.4	0.03	2.9	2.9	0.03
Combinación 3	3	0.01	2856.8	0.01	4.4	4.4	0.03
Combinación 4	3	0	537.9	0.01	0.1	0.09	0
Combinación 5	3	0.02	249.4	0.02	1.4	1.46	0.01
Combinación 6	3	0.04ns	690.3	0.01	8.3	8.2	0.05
Combinación 7	3	0.01ns	1446.3	0.01	2.2	2.0	0.02
Error conjunto	198	0.38	5536.9	0.12	8.6	8.6	0.08

gl: grados de libertad; MTA: Tiempo de amasado (min); ALVW: Fuerza de la masa (10^4 J); ALVPL: Extensibilidad de la masa; 50PS: Fracción rica en gliadina; 50PI: Fracción rica en glutenina; 50PS/50PI: relación fracción rica en gliadina/fracción rica en glutenina.

Cuadro 2. Parámetros de estabilidad y medias de las variables estudiadas de siete combinaciones alélicas de gluteninas de trigos harineros, Roque, Gto, O-I/2006-2007.

Variable		Combinaciones						
		1	2	3	4	5	6	7
Tiempo de amasado (min)	μ_i	2.27	2.2	3.5	2.86	3.12	3.5	3.33
	b_i	1.18	0.86	1.27	0.61*	0.99	0.62	1.48*
	S^2_{di}	-0.33	-0.36	-0.37	-0.38	-0.36	-0.34	-0.37
Alveograma-W (10⁻⁴J)	μ_i	197.3	212.3	355.9	374.3	328.3	346.0	367.1
	b_i	1.6	0.2	-0.25	1.34	1.77	1.6	0.73
	S^2_{di}	-5423.1	-5281.4	-2680.0	-4998.9	-5287.4	-4846.5	-4090.5
Alveograma P/L (0.1-6)	μ_i	0.6	0.85	1.39	0.9	1.09	0.75	0.98
	b_i	0.97	0.9	1.71	0.86	0.91	0.68	0.96
	S^2_{di}	-0.11	-0.09	-0.11	-0.11	-0.1	-0.11	-0.11
50PS (%)	μ_i	66.38	66.45	62.97	64.79	63.57	64.82	64.83
	b_i	0.67	1.40	0.85	0.90	0.87	1.10	1.2
	S^2_{di}	-2.68	-5.69	-4.19	-8.49	-7.16	-0.22	-6.37
50PI (%)	μ_i	33.62	33.54	37.03	35.2	36.42	35.17	35.18
	b_i	0.67	1.40	0.85	0.90	0.87	1.11	1.19
	S^2_{di}	-2.66	-5.69	-4.14	-8.51	-7.14	-0.38	-6.55
50PS/50PI	μ_i	2.01	2.06	1.74	1.88	1.79	1.92	1.9
	b_i	0.79	1.48	0.67	0.91	0.82	1.18	1.14
	S^2_{di}	-0.05	-0.05	-0.05	-0.08	-0.07	-0.03	-0.06

Significativamente diferente de uno para b_i y de cero para S^2_{di} . Combinaciones: 1) 2,17+18,2+12/*Glu-A3e, Glu-B3h, Glu-D3b*; 2) 2*,17+18;2+12/*Glu-A3e, Glu-B3g, Glu-D3b*; 3) 2*,17+18,5+10/*Glu-A3c, Glu-B3g, Glu-D3b*; 4) 1,17+18,5+10/*Glu-A3e, Glu-B3h, Glu-D3b*; 5) 1,17+18,5+10/*Glu-A3e, Glu-B3g, Glu-D3b*; 6) 1,17+18,5+10/*Glu-A3c, Glu-B3h, Glu-D3b*; y 7) 1,17+18,5+10/*Glu-A3c, Glu-B3g, Glu-D3b*; 50PS: Fracción rica en gliadina (%); 50PI: Fracción rica en glutenina (%); 50PS/50PI: relación fracción rica en gliadina/fracción rica en glutenina.



combinación 1 ——— combinación 2 - - - - - combinación 3 — · — · — combinación 4 - - - - -
 combinación 5 ········ combinación 6 ········ combinación 7 - - - - -

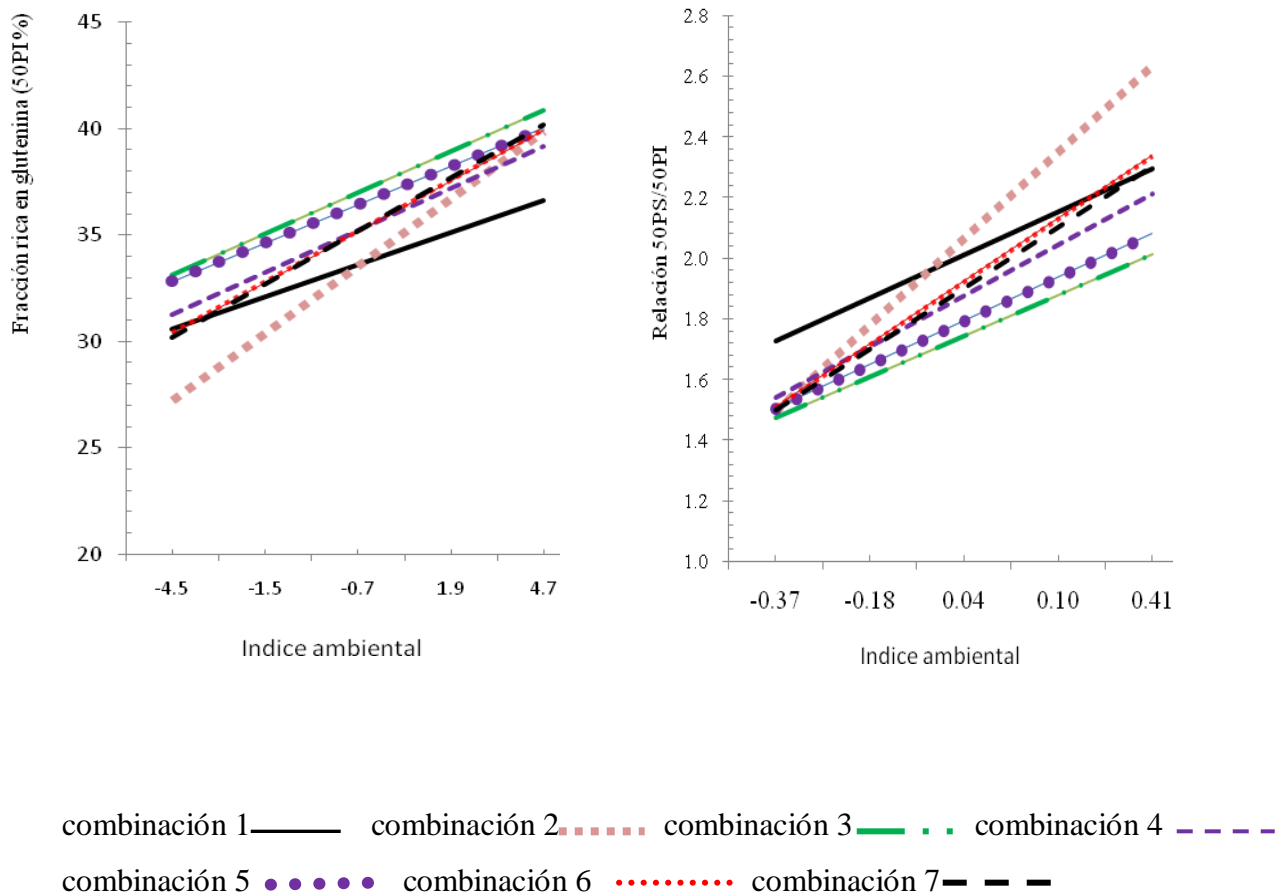


Figura 1. Respuesta de la calidad industrial y parámetros de estabilidad de siete combinaciones de alelos de gluteninas de alto y bajo peso molecular, de trigos harineros, Roque, Gto, O-I/2006-2007.

V. CONCLUSIONES GENERALES

En el estudio de la estabilidad de las diferentes variedades de trigos harineros de temporal, las variedades Náhuatl F2000, Pavón F76 y Temporalera M87 poseen las subunidades de G-APM en *Glu-A1* 2*, *Glu-B1* 17+18 y *Glu-D1* 5+10, por lo que se agruparon para conformar la combinación 1; las variedades Rebeca F2000, Tlaxcala F2000, Gálvez M87, Zacatecas VT74 y Romoga F96 poseen las subunidades de G-APM en *Glu-A1* 1, *Glu-B1* 17+18 y *Glu-D1* 5+10, integrando la combinación 2; mientras que las variedades Juchi F2000 y Batán F96 poseen las subunidades de G-APM en *Glu-A1* 2*, *Glu-B1* 7+9 y *Glu-D1* 5+10, agrupadas en la combinación 3. La combinación de gluteninas de alto peso molecular con mayor estabilidad y con aceptable fuerza de la masa para la industria mecanizada fue 1, 17+18, 5+10. La combinación 2*, 7+9, 5+10 proporciona buena extensibilidad de la masa; sin embargo, es la menos estable a través de ambientes.

Se obtuvieron siete combinaciones de G-APM y BPM en líneas de la cruz Rebeca F-2000 × Verano S-91: 1) 2*,17+18,2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*; 2) 2*,17+18;2+12/*Glu-A3e*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b*; 3) 2*,17+18,5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b*; 4) 1,17+18,5+10/*Glu-A3e*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*; 5) 1,17+18,5+10/*Glu-A3e*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b*; 6) 1,17+18,5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b*; y 7) 1,17+18,5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b*.

Las mejores combinaciones alélicas de gluteninas de alto y bajo peso molecular obtenidas en líneas de la cruz Rebeca F2000 × Verano S91 para la industria panadera con respecto a tiempo de amasado y fuerza de la masa fueron los genotipos con 1,17+18,5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3g*, *Glu-D3b*; 1,17+18,5+10/*Glu-A3c*, *Glu-B3h*, *Glu-D3b* y

2*,17+18,5+10-/Glu-A3c, Glu-B3g, Glu-D3b, en extensibilidad de la masa 2*,17+18,2+12/Glu-A3e, Glu-B3h, Glu-D3b, en la fracción rica en gliadina 2*,17+18,2+12/Glu-A3e, Glu-B3g, Glu-D3b y 2*,17+18,2+12/Glu-A3e, Glu-B3h, Glu-D3b para fracción rica en glutenina 2*,17+18,5+10/Glu-A3c, Glu-B3g, Glu-D3b y en la relación 50PS/PI 2*,17+18,2+12/Glu-A3e, Glu-B3g, Glu-D3b.

El tiempo de amasado fue mayor cuando aumenta la temperatura. La mejor extensibilidad de la masa se obtuvo en el ambiente bajo condiciones normales. La fracción rica en gliadina fue mayor cuando se realizó fertilización con azufre. Un incremento de la fracción rica en glutenina se obtuvo con riego limitado y aumento de temperaturas en llenado de grano. La mayor relación 50PS/50PI se obtuvo cuando se aplicó fertilización con azufre.

La mayoría de los caracteres de calidad mostraron una tendencia lineal a través de los ambientes. Para cada variable de calidad existe una combinación ideal de gluteninas de alto y bajo peso molecular, ya sea para estabilidad o para aumentar la calidad, dependiendo del propósito de cada mejorador.

De acuerdo con los parámetros de estabilidad estudiados, la combinación más estable para fracción rica en gliadina y fracción rica en glutenina fue 2*,17+18,2+12/Glu-A3e, Glu-B3h, Glu-D3b, con el valor más cercano a $b_i=0$, con un comportamiento similar en todos los ambientes. Es muy difícil encontrar un genotipo que satisfaga una buena calidad y con una gran estabilidad en todos los ambientes. La combinación 2*,17+18,2+12/Glu-A3e, Glu-B3h, Glu-D3b fue la que presentó la relación 50PS/50PI más alta en ambientes restrictivos (índices ambientales negativos).

Las combinaciones de G-APM y BPM difieren significativamente para tiempo de amasado, fuerza y extensibilidad de la masa, fracción rica en gliadinas, fracción rica en gluteninas y la relación 50PS/50PI. Es necesario seguir estudiando la estabilidad de las combinaciones de G-APM y BPM, así como su función en las fracciones proteicas que confieren las propiedades ideales al gluten.

VI. BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Altenbach, S. B., K. M. Kothari, and D. Lieu. 2002. Environmental conditions during wheat grain development alter temporal regulation of major gluten protein genes. *Cereal Chem.* 79: 279-285.
- Blumenthal, C., I. L. Batey, F. Bekes, C.W. Wrigley, and E.W.R. Barlow. 1991. Seasonal changes in wheat grain quality associated with high temperatures during grain filling. *Aust. J. Agr. Res.* 42: 21-30.
- Blumenthal, C., P. J. Stone, P.W. Gras, F. Bekes, B. Clarke, E.W.R. Barlow, R. Appels, and C.W. Wrigley. 1998. Heat-shock protein 70 and dough-quality changes resulting from heat stress during grain filling in wheat. *Cereal Chemistry* 75: 43-50.
- Branlard, G. and M. Dardevet. 1985. Diversity of grain protein and bread wheat quality. I. Correlation between gliadin bands and flour quality characteristics. *Journal of Cereal Science* 3: 329-343.
- Branlard, G., M. Dardevet, N. Amieur and G. Igrejas. 2003. Allelic diversity of HMW and LMW glutenin subunits and omega-gliadins in French bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Gen. Res. Crop Evol.* 50: 669–679.

- Corbellini, M., M.G. Canevar, L. Mazza, M. Ciaffi, D. Lafiandra, and B. Borghi. 1997. Effect of the duration and intensity of heat shock during grain filling on dry matter and protein accumulation, technological quality and protein composition in bread and durum wheat. *Aust. J. Plant Physiol.* 24: 245-260.
- Daniel, C., and E. Triboi. 2000. Effects of temperature and nitrogen nutrition on the grain composition of winter wheat: effects on gliadin content and composition. *J. Cereal Sci.* 32: 45-56.
- DuPont, F.M., and S.B. Altenbach. 2003. Molecular and biochemical impacts of environmental factors on wheat grain development and protein synthesis. *J. Cereal Sci.* 38: 133-146.
- DuPont, F.M., R. Chan, S. Altenbach, W. J. Hurkman, and C. K. Tanaka. 1998. Effect of heat stress on flour composition and quality for several American bread wheats. *In: Proceedings of the 9th International Wheat Symposium*. Slinkard, A. E. (ed). University Extension Press. University of Saskatchewan. Saskatoon, Saskatchewan, Canada. pp: 70-79.
- Faridi, H., and J.W. Finley. 1989. Improved wheat for baking. *Food Sci. Nutri.* 28(2): 175-209.
- Fowler, D.B. 1998. Grain protein concentration responses to plant-available nitrogen. *In: Wheat Protein Production and Marketing*. D.B. Fowler, W.E. Geddes, A.M.

Johnston, and K.R. Preston (ed.) University Extension Press, University of Saskatchewan, Saskatoon, SK, Canada. pp. 281–284.

Gianibelli, M.C., O.R. Larroque, F. MacRitchie, and C.W. Wrigley. 2001. Biochemical, genetic, and molecular characterization of wheat endosperm proteins. American Association of Cereal Chemists. Publication No. C-2001-0926-01O. Online Review. <http://www.aaccnet.org/cerealchemistry/freearticle/gianibelli.pdf> (Accessed 11/Jan/2010).

Graybosch, R. A., C. J. Peterson, P. S. Baezinger, and D. R. Shelton. 1995. Environmental modification of hard red winter wheat flour protein composition. *J. Cereal Sci.* 22: 45-51.

Gupta R. B., F. Bekes, C. W. Wrigley, and H. J. Moss. 1990. Prediction of wheat quality in breeding on the basis of LMW and HMW glutenin subunit composition. *In: Sixth Assembly of the Wheat Breeding Society of Australia. Tamworth, NSW.* pp. 217-225.

Gupta, R. B., and F. MacRitchie. 1994. Allelic variation at glutenin subunit and gliadin loci, *Glu-1*, *Glu-3* and *Gli-1* of bread wheats: biochemical basis of the allelic effects on dough properties. *J. Cereal Sci.* 19: 19-28.

Lawrence, G. J., H.J. Moss, K.W. Shepherd, and C.W. Wrigley. 1987. Dough quality of biotypes of eleven Australian cultivars that differ in high-molecular-weight glutenin subunit composition. *J. Cereal Sci.* 6: 99-101.

Lukow, O.M. and P.B.E.McVetty. 1991. Effect of cultivar and environment on quality characteristics of spring wheat. *Cereal Chemistry* 68: 597-601.

MacRitchie, F. 1994. Role of polymeric proteins in flour functionality. *In: Wheat Kernel Proteins: Molecular and Functional aspects.* Universita degli studi della Tuscia. Bitervo, Italy. pp. 145-150.

MacRitchie, F. 1999. Wheat proteins: characterization and role in flour functionality. *Cereal Foods World* 44: 188-193.

MacRitchie, F., and R. B. Gupta. 1993. Functionality-composition relationships of wheat flour as a result of variation in sulfur availability. *Aust. J. Agric. Res.* 44: 1767-1774.

Metakovski, E.V., P. Annicchiarico, G. Boggini, and N. Pogna. 1997. Relationship between gliadin alleles and dough strength in Italian bread wheat cultivars. *J. Cereal Sci.* 25: 229-236.

- Nieto-Taladriz, M.T., M.R. Perretant, and M. Rousset. 1994. Effect of gliadins and HMW and LMW subunits of glutenin on dough properties in the F6 recombinant inbred lines from a bread wheat cross. *Theor. Appl. Genet.* 88: 81-88.
- Panozzo, J. F., and H. A. Eagles. 2000. Cultivar and environment effects on quality characters in wheat. II. Protein. *Aust. J. Agric. Res.* 51: 629-636.
- Payne, P. I., E. J. Jackson, L.M. Holt. 1984. The association between gliadin γ -45 and gluten strength in durum wheat varieties. A direct causal effect or the result of genetic linkage? *J. Cereal Sci.* 2: 73-81.
- Payne, P. I., J. A. Seekings, A. J. Worland, M. G. Jarvis, and L. M. Holt. 1987. Allelic variations of glutenin subunits and gliadins and its effect on breadmaking quality in wheat: analysis of F₅ progeny from "Chinese Spring" x "Chinese Spring" (Hope 1A). *J. Cereal Sci.* 6: 103-118.
- Peterson, C.J., R.A. Graybosch, D.R. Shelton, and P.S. Baenziger. 1998. Baking quality of hard winter wheat: response of cultivars to environment in the Great Plains. *In: Wheat: Prospects for Global Improvement.* H. J. Braun, F. Altay, W.E. Kronstad, S.P. S. Beniwal, A. McNab (eds). Kluwer Academic Publishers. The Netherlands. pp. 223-228.
- Randall, P.J., and H.J. Moss. 1990. Some effects of temperature regime during grain filling on wheat quality. *Aust. J. Agric. Res.* 41(4): 603-617.

- 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 relationships to breadmaking quality. *Cereal Chem.*75: 500-507.
- Shewry, P. R., A. S. Tatham, F. B. Pilar, P. Lazzeri. 1995. Biotechnology of breadmaking: unraveling and manipulating the multi-protein gluten complex. *Biotechnology* 13: 1185-1190.
- Shewry, P. R., A. S. Tatham, N. G., Halford. 2001. Nutritional control of storage protein synthesis in developing grain of wheat and barley. *Plant Growth Regulation* 34: 105-111.
- Shewry, P.R., N.G. Halford, A.S. Tatham, Y. Popineau, D. Lafiandra, and P.S. Belton. 2003. The high molecular weight subunits of wheat glutenin and their role in determining wheat processing properties. *Adv. Food Nutr. Res.* 45: 219-302.
- Wang, J.-s., Zhao, M.-m. Zhao and Q.-z. Zhao. 2007. Correlation of glutenin macropolymer with viscoelastic properties during dough mixing. *J. Cereal Sci.* 45(2): 128-133.
- Weegels, P.L., R. J. Hamer, and J. D. Schofield. 1996. Critical review: functional properties of wheat glutenin. *J. Cereal Sci.* 23: 1-18.

VII. ANEXOS

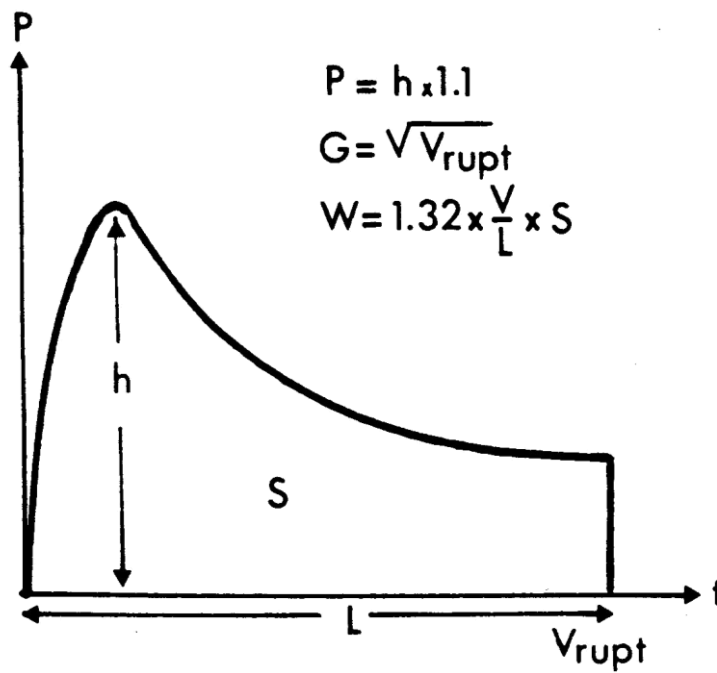


Figura 1A. Alveógrafo de Chopin, empleado para obtener alveogramas W y P/L.

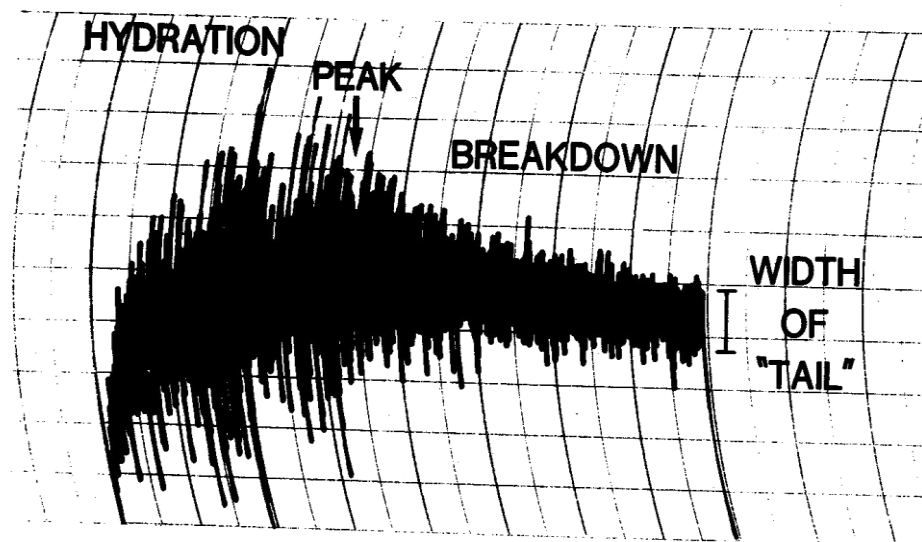
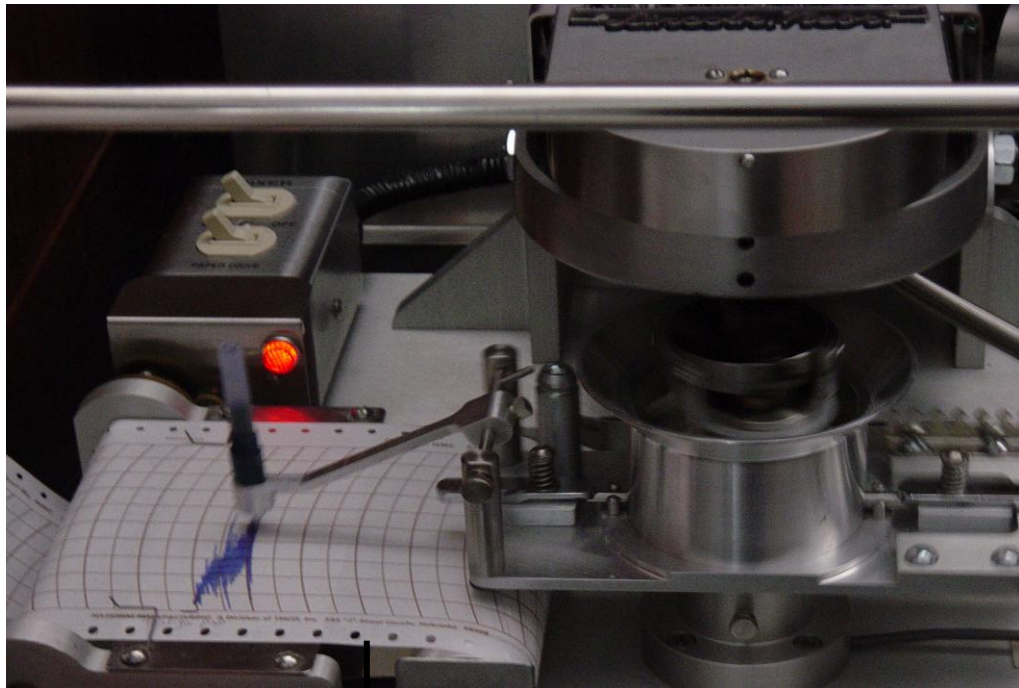


Figura 2A. Mixógrafo de Swanson y variables obtenidas a partir del mismo.



Figura 3A. Centrifuga empleada en el fraccionamiento y cuantificación de las proteínas.



Figura 4A. Incubación realizada a temperaturas controladas en el Thermomixer Eppendorf (Eppendorf-Netheler, Hamburg, Germany).



Figura 5A. Espectrofotómetro Beckman midiendo longitud de onda a 280 nm.