

## Composição de subunidades de gluteninas de alto peso molecular (HMW) em trigos portadores do caráter “stay-green”

### High molecular weight glutenin (HMW) subunits in stay-green trait in wheats

Simone Alves Silva<sup>1</sup> Fernando Irajá Félix de Carvalho<sup>2</sup> Jorge Luís Nedel<sup>2</sup> Noeli Júlia Schüssler de Vasconcellos<sup>3</sup> Pedro Jacinto Cruz<sup>4</sup> Daniel Simioni<sup>5</sup> José Antonio Gonzalez da Silva<sup>5</sup>

#### RESUMO

O trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento do caráter “stay-green” em plantas de trigo quanto à qualidade de panificação, através da análise dos padrões eletroforéticos em condições dissociantes (SDS-PAGE), e avaliar a correlação fenotípica de Pearson entre os caracteres adaptativos, como data de florescimento e estatura de plantas, coloração (“stay-green”) e escores protéicos. O experimento foi conduzido em condições de campo e laboratório nos anos de 1999 e 2000. O caráter “stay-green” expresso nos genótipos avaliados apresentou-se altamente correlacionado com escores protéicos obtidos através da análise eletroforética das subunidades de gluteninas de alto peso molecular, podendo ser sugerido como parâmetro para selecionar plantas superiores em gluteninas e consequentemente com maior qualidade de panificação.

**Palavras-chave:** *Triticum aestivum* L., proteína, estatura de planta, data de florescimento.

#### ABSTRACT

The objective of this work was evaluate stay-green trait behavior in wheat plants as bread-making quality through electrophoretic standards of this proteins and phenotypic Pearson correlation among adaptatives characters as head-date and plant stature, coloration (stay-green) and proteic scores. The experiment was driven in field conditions and laboratory in the years of 1999 and 2000. The trait stay-green expressed in the appraised genotypes showed high correlation with the proteic scores obtained through the electrophoretic analysis of this subunits could be suggested as parameter to select superior plants for glutenins and consequently with larger bread-making quality.

**Key words:** *Triticum aestivum* L., protein, plant stature, head-date.

#### INTRODUÇÃO

O trigo é o único cereal cuja farinha possui propriedade do glúten, apresentando maior aptidão para panificação (MANDARINO, 1993). O glúten possui as frações hidratadas de gliadinas que conferem a extensibilidade e, de gluteninas e resíduo protéico que conferem a elasticidade à massa, sendo, portanto, responsável pela estrutura do pão, formando uma rede elástica e contínua que retém o gás carbônico liberado durante o processo de fermentação da massa pelas leveduras, possibilitando, assim, sua expansão. Quanto à formação da rede do glúten, normalmente atribui às gluteninas a formação das malhas, cujas fibras retêm as gliadinas.

Como evidenciado por MANDARINO (1993), os teores de gluteninas e gliadinas são fatores importantes para a qualidade de panificação do trigo e a relação de proporção entre essas proteínas determina as diferentes características do glúten dos diversos tipos de trigo. Para PORCEDDU (1990), um elevado conteúdo de proteínas não é, por si só, indicativo de boa qualidade, visto que a qualidade de panificação além de ser resultante do somatório de vários fatores, parece depender da composição e da

<sup>1</sup>Engenheiro Agrônomo, Doutor, Bolsista Recém-Doutor da FAPERGS. Departamento de Fitotecnia. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas (FAEM/UFPel). Rua Tiradentes, 3022/202, Centro, 96010-160, Pelotas, RS. E-mail: saspg@ufpel.tche.br

<sup>2</sup> Engenheiro Agrônomo, PhD, Professor do Departamento de Fitotecnia, UFPel. Pesquisador do CNPq. CP. 354, 96001-970, Capão do Leão, RS. E-mail: carvalho@ufpel.tche.br. Autor para correspondência.

<sup>3</sup>Biólogo, MSc. Doutoranda em Produção Vegetal, Universidade Federal de Santa Maria. 97105-900, Santa Maria, RS.

<sup>4</sup>Engenheiro Agrônomo, Doutor em Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Professor de Genética da Universidade Federal da Bahia.

<sup>5</sup>Aluno do Curso de Graduação em Agronomia, UFPel. Bolsista de I.C./CNPq.

interação das principais proteínas de glúten (gluteninas e gliadinas). Assim, para uma qualidade ser representativa, segundo VASCONCELLOS (1999), deve haver combinação ideal entre quantidade e qualidade de proteínas presentes no trigo.

O caráter “stay-green”, responsável pelo aumento no período de permanência dos colmos e folhas verdes, até o enchimento total dos grãos, tem demonstrado ser promissor em atribuir qualidade ao trigo, principalmente em relação a resistência a moléstias (WALULU et al., 1994), maior capacidade de acumular matéria seca, devido ao aumento na produção de fotoassimilados (GENTINETTA et al., 1986); além disso, poderá proporcionar maior tolerância ao acamamento (CUKADAR-OLMEDO & MILLER, 1997) respondendo positivamente a uma maior aplicação de nitrogênio, garantindo um maior enchimento dos grãos com amido e ainda produzir uma maior quantidade de proteína.

O genoma D, proveniente da espécie *Ae. Squarrosa* L., foi incorporado aos trigos tetraplóides (AABB) através de hibridações naturais e, quando seguido de poliploidia, produz o trigo hexaplóide (AABBDD), como o caso de *Triticum aestivum* L ( $2n=6x=42$ ). Assim, a inclusão do genoma D proporcionou ao trigo condições de produzir farinha com capacidade de elasticidade para o crescimento e desenvolvimento no fabrico de pães, podendo ser este o grande responsável pela farinha de qualidade para panificação. Desta forma, a melhor qualidade para panificação pode ter uma relação direta com a presença de proteína de alto peso molecular, principalmente as gluteninas.

Assim, plantas de trigo “stay-green” que permanecem com colmos e folhas verdes, por um período mais prolongado durante o enchimento do grão, poderão garantir uma maior quantidade de fotoassimilados com reflexos direto na frequência de proteína de alto peso molecular. Desta forma, o trabalho teve como objetivo avaliar a composição das linhagens providas do caráter “stay-green” e de comportamento de maturação sincronizada, quanto à qualidade de panificação, através da análise dos padrões eletroforéticos de subunidades de gluteninas de alto peso molecular, e avaliar a correlação fenotípica de Pearson entre os caracteres supracitados e também os caracteres adaptativos, como data de florescimento e estatura de plantas.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em condições de campo da unidade de Mapeamento no Centro

Agropecuário da Palma do setor de Fitomelhoramento no ano agrícola 1999 e no Laboratório de Biossistemas, no ano de 2000, ambos setores pertencentes à Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel” da Universidade Federal de Pelotas/UFPel. Foram realizadas análises de seis genótipos, sendo três portadores do caráter “stay-green” (TB438, TB245 e TB445), um de comportamento intermediário, tendendo para maturação sincronizada (TB413) e dois de maturação sincronizada (TB429 e TB188). Como padrões de alta e baixa qualidade de panificação foram incluídos as cultivares CEP 24 e BR 23, respectivamente. Também foram empregadas amostras com três repetições, de cada genótipo e cultivares padrão.

As subunidades protéicas foram determinadas em condições de laboratório, utilizando a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida na presença de dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), conforme protocolo proposto por PAYNE et al., (1980).

As bandas foram marcadas nas devidas posições através de coloração em solução corante a base de “Coomasie blue R”, ácido tricloroacético 10% e água destilada e colocada em solução fixadora à base de etanol, ácido tricloroacético, ácido sulfúrico, hidróxido de potássio e “Coomasie blue G” de acordo com PAYNE et al. (1979).

A leitura das bandas representativas das gluteninas de alto peso molecular expressas no gel foi realizada pela comparação com as bandas das cultivares padrão e auxílio dos padrões previamente determinados para a maioria dos alelos conhecidos. Os escores foram estabelecidos através da soma de valores atribuídos às diferentes composições de subunidades de gluteninas de alto peso molecular para cada genoma (A, B e D), presente no trigo hexaplóide.

Para avaliação dos caracteres “stay-green” (coloração), data de florescimento e estatura de planta, foi instalado um experimento em condições de campo. Para comparar os tratamentos, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizados, com três repetições. As parcelas apresentaram espaçamento de 0,40m entre fileiras de plantas com dois metros de comprimento e 0,20m entre plantas dentro da fileira, com, no máximo, 10 plantas por fileira.

Para avaliação do caráter “stay-green” (coloração), foi empregada a técnica desenvolvida por SILVA (1999). O caráter data de florescimento foi determinado em dias, da emergência até a planta apresentar 50% da inflorescência fora da folha bandeira. Para o caráter estatura de planta, foi aferido em aproximadamente 21 dias após à antese, em centímetro, da superfície do solo até o ápice da inflorescência, excluindo as aristas.

Os dados foram analisados pelo teste de F e as médias de tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. As relações entre os caracteres estudados foram estimadas através do coeficiente de correlação de Pearson e a hipótese de que o coeficiente de correlação é igual a zero foi avaliada pela estatística t a 5% de probabilidade.

As notas referentes ao caráter “stay-green” foram transformadas pela raiz quadrada  $\sqrt{x+1}$  antes da realização da análise de variância. Entretanto, na tabela 2 os valores foram apresentados com dados originais.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As subunidades de glutenina de alto peso molecular encontrada para os seis genótipos e as cultivares padrões estão apresentadas na Tabela 1. O escore total de cada genótipo, composto pela soma dos escores individuais de cada subunidades (BLACKMAN & PAYNE, 1987), foram atribuídos os seguintes valores para o loco 1 A: 2\* = 3 e N (nula) = 1; para o loco 1 B: 7+9 = 2, 13+16 = 3 e 17+18 = 3; para o loco 1 D: 5+10 = 4, 2+12 = 2 e 4+12=1.

A formação das bandas distintas nos genomas A, B e D (Tabela 1) possibilitou detectar o comportamento dos genótipos em relação à composição de subunidades destas proteínas para cada genoma. Os genótipos com presença do caráter “stay-green” (TB438 e TB445) apresentaram bandas similares às expressadas pela cultivar padrão de alta qualidade e com comportamento de maturação sincronizada (CEP 24) com escore 9 e TB245 com escore 10, acima da cultivar padrão. O genótipo TB 413, de comportamento intermediário tendendo para o sincronizado, revelou um escore 7. Dois dos

genótipos sincronizados (TB429 e TB188) assumiram baixos escores, 5 e 6, respectivamente, igualando a cultivar padrão para baixa qualidade, a BR23, com escore de 6, para o caráter subunidades de gluteninas de alto peso molecular (HMW). Desta forma, pelos padrões eletroforéticos, foi possível detectar uma alta associação entre o caráter “stay-green” e qualidade de panificação. Esta evidência tem por base a expressão das bandas dos três genótipos portadores do caráter, no gel avaliado.

Os genótipos de trigo para os caracteres estatura de planta, data de florescimento e coloração (Tabela 2) apresentaram diferenças significativas em nível de 5% de probabilidade pelo teste F. As médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, para todos os caracteres testados, mostraram diferenças significativas, evidenciando grupos distintos, conforme os dados incluídos na Tabela 2. Os grupos formados pela mesma letra são similares, assim foi possível verificar que os genótipos TB 438 e TB 445 apresentaram data para o florescimento mais tardio, diferindo dos demais. Os genótipos TB 245, TB 445, TB 413 e TB 188 apresentaram estaturas mais elevada, ficando no mesmo grupo, e os genótipos TB 438 e TB 429 ficaram no grupo de estatura reduzida. Quanto à coloração, os genótipos TB 429 e TB 188 ficaram dentro do grupo de notas maiores.

Além da presença de elevados valores de proteínas de alto peso molecular, genótipos portadores do caráter “stay-green” tem apresentado adequados atributos em relação à estatura de plantas, não superior a 80 cm e nem inferior a 60 cm. Este caráter é importante porque a estatura demasiadamente baixa ou alta é inadequada para cereais como o trigo; plantas muito baixas dificultam o manuseio em colheita de grãos e diminuem a capacidade competitiva com

Tabela 1 – Composição de subunidades de glutenina de alto peso molecular. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), Universidade Federal de Pelotas (UFPeL), 2000.

Genótipos	Loco			Escore	Classe de trigo Para panificação
	1 A	1 B	1 D		
CEP 24 (Padrão)	2*	7 + 9	5 + 10	9	S
TB 438	2*	7 + 9	5 + 10	9	S
TB 245	2*	13 + 16	5 + 10	10	S
TB 445	2*	7 + 9	5 + 10	9	S
TB 413	N	7 + 9	5 + 10	7	I
TB 429	N	7 + 9	2 + 12	5	C
TB 188	2*	7 + 9	4 + 12	6	C
BR 23 (Padrão)	N	17 + 18	2 + 12	6	C

S = Superior, I = Intermediário e C = comum; 2\* = 3, N=1, 7+9=2, 13+16=3, 17+18= 3, 5+10=4, 2+12=2 e 4+12=1.

Tabela 2 – Análise de variância e comparação de médias de seis genótipos de trigo, para os caracteres data de florescimento (dias), estatura de planta (cm) e coloração (notas) em plantas de trigo. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), Universidade Federal de Pelotas (UFPeL), 2000.

Fonte de variação	GL	Florescimento (dias)		Estatura (cm)		Coloração (notas)	
		QM	F	QM	F	QM	F
Tratamento	5	381.28*	29.4	1498.43*	23.30	5.95*	69.69
Resíduo	126	12.97		64.30		2.15	
Média		98.64		69.31		4.09	
CV (%)		3,65		11,57		13,35	
Genótipos		Florescimento		Estatura		Coloração	
TB 438		102.77	a	61.41	b	2.64 (SG)	c
TB 245		95.77	bc	78.45	a	1.95 (SG)	c
TB 445		104.5	a	72.5	a	2.04 (SG)	c
TB 413		96.5	bc	73.64	a	3.95 (I)	b
TB 429		93.91	c	56.95	b	6.86 (SZ)	a
TB 188		98.41	b	72.91	a	7.14 (SZ)	a

\* = Significativo pelo teste de F em nível de 5% de probabilidade de erro.

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade; (SG) “stay-green”, (SZ) sincronizado e (I) intermediário.

plantas invasoras e, em contrapartida, estatura muito elevada favorece o acamamento, visto que, segundo CRUZ et al. (2001), plantas de estatura elevada tem apresentado alta correlação com sensibilidade ao acamamento, comprometendo o rendimento de grãos. Entretanto, para o caráter data de florescimento ocorreu um prolongamento em dias, quando comparada com as três linhagens de comportamento de maturação sincronizada, embora não ultrapassando a 106 dias para o florescimento, o que evidenciou um menor ciclo do que a cultivar padrão de alta qualidade de panificação. Isto sugere a necessidade de direcionar mais atenção em melhoramento destas linhagens, selecionando para o florescimento mais precoce, sem comprometer o período prolongado de plantas “stay-green”, que compreende o estágio de antese ao enchimento total de grãos.

As correlações, observadas na Tabela 3 foram obtidas envolvendo todas as combinações possíveis entre os quatro caracteres avaliados. O caráter estatura de plantas não apresentou correlação significativa com florescimento (0,06) e esta evidenciou um valor negativo (-0,45) com o caráter coloração. O caráter data de florescimento também revelou correlação negativa com o caráter coloração (- 0.30). Entretanto, como já mencionado, os valores encontrados tanto para estatura quanto para o florescimento, não foram superiores às cultivares padrão para baixo e alto padrão protéico, respectivamente para BR 23 e CEP 24. A elevada correlação verificada entre os escores protéicos e a

coloração na maturação do trigo (- 0,87) foi promissora. O valor negativo permite dizer que plantas com notas visuais atribuído mais próximo a 1, ou seja, plantas “stay-green”, estão altamente correlacionado (87%) com valores elevados para escores protéicos. Dessa forma, é possível afirmar que o caráter poderá ser forte indicativo de seleção para escolha de plantas com presença de proteína de alto peso molecular, sem comprometer caracteres importantes como data de florescimento e estatura de plantas.

## CONCLUSÃO

O caráter “stay-green” expresso nos genótipos avaliados apresenta-se altamente correlacionado com escores protéicos obtidos através da análise eletroforética das subunidades de gluteninas

Tabela 3 – Coeficiente de correlação de Pearson (r) entre os caracteres Florescimento, Estatura, Coloração (“stay-green”) e Escores protéicos em plantas de trigo. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), Universidade Federal de Pelotas (UFPeL), 2000

	Florescimento	Estatura	Coloração (“stay-green”)
Estatura	0.0623ns		
Coloração (“stay-green”)	- 0.3031*	- 0.4513*	
Escore	0.4468*	0.4734*	- 0.8663*

\* = Significância em nível de 5% de probabilidade, n.s = Não significativo.

de alto peso molecular, podendo ser sugerido como parâmetro para selecionar plantas superiores em gluteninas e conseqüentemente com maior qualidade de panificação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BLACKMAN, J.A.; PAYNE, P.I. Grain quality In: LUTON, F.G.H. **Wheat breeding: its scientific basis**. London: Chapman & Hall, 1987. Cap.15, 566p.
- CRUZ, P.J. et al. Caracteres relacionados com a resistência ao acamamento em trigo comum. **Ciência Rural**, v.31, n.4, p.563-568, 2001.
- CUKADAR-OLMEDO, B.; MILLER, J.F. Inheritance of the stay-green trait in sunflower. **Crop Science**, v.37, p.150-153, 1997.
- GENTINETTA, E. et al. A major gene for delayed senescence in maize. Pattern of photosynthates accumulation and inheritance. **Plant Breeding**, v.97, p.193-203, 1986.
- MANDARINO, J.M.G. **Aspectos importantes para a qualidade do Trigo**. Londrina: Embrapa – CNPSo, 1993. 32p. (Embrapa – CNPSo. Documentos, 60).
- PAYNE, P.I.; LAW, C.N.; MUDD, E.E. Control by homoelogenous group 1 chromosomes of high-molecular-weight subunits, a major protein of wheats endosperm. **Theoretical and Applied Genetics**. Berlin, v.58, p.113-120, 1980.
- PAYNE, P.I.; CORFIELD, K.G.; BLACKMAN, J.A. Identification of a high-molecular-weight subunit of glutenin whose presence correlates with bread-making quality in wheats of related pedigree. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.55, p.153-159, 1979.
- PORCEDDU, E. Aspetti genetici e biochimici delle proteine dei frumenti e qualità tecnologiche dei frumenti duri. **Itália**, (S.I.:s.n) p.75-88, 1990.
- SILVA, S.A. **Estimativa da herança do caráter “stay-green” em genótipos de trigo hexaplóide**. 1999. 56f. Dissertação (Mestrado em Fitomelhoramento) – Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Pelotas.
- VASCONCELLOS, N.J.S. **Comportamento de subunidades de Glutenina de alto peso molecular em cruzamentos de trigo (*Triticum aestivum* L.)**. 1998. 63f. Dissertação (Mestrado em Fitomelhoramento) – Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Pelotas.
- WALULU, R.S. et al. Inheritance of the stay green trait in sorghum. **Crop Science**. v.34, p.970-972, 1994.
- WOODFIN, C.A.; ROSENOW, D.T.; CLARK, L.E. Association between the stay green trait and lodging resistance in sorghum. **Agronomy abstracts**, ASA, Madison, W.I., p.102, 1988.