

Efecto del silenciamiento de γ -gliadinas sobre la calidad y la composición proteica en dos genotipos de trigo harinero

Fernando Pistón*, Javier Gil-Humanes y Francisco Barro

Instituto de Agricultura Sostenible, CSIC, Alameda del Obispo s/n, E-14080-Córdoba.

* e-mail: fpiston@ias.csic.es

INTRODUCCIÓN

Las prolaminas están constituidas por más de 50 proteínas diferentes, las cuales determinan las propiedades harino-panaderas de la harina y su adecuación para la fabricación de pan y otros productos (Shewry et al. 2002). Las proteínas del gluten se han clasificado tradicionalmente en gluteninas y gliadinas. Las gluteninas de alto peso molecular (HMW-GS) son las proteínas principales que determinan la calidad (Halford et al. 1989). Las gliadinas están codificadas por una familia multigénica lo que complica entender en profundidad su contribución a las cualidades viscoelásticas de la harina de trigo (Pistón et al. 2011).

En este trabajo se presentan las propiedades tecnológicas de quince líneas transgénicas de trigo harinero, de dos genotipos diferentes, que tienen las γ -gliadinas silenciadas. La composición proteica se analizó mediante RP-HPLC, y las propiedades tecnológicas de la harina se han determinado mediante el test de sedimentación SDS, el Mixografo y el Mixolab®. Estos resultados nos ayudaran a entender mejor el papel de la gliadinas, y más concretamente de las γ -gliadinas, en las propiedades tecnológicas de la harina de trigo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Vegetal: Se utilizaron líneas transgénicas de *Triticum aestivum*, nueve del cv. 'Bobwhite 208' (BW208) y nueve del cv 'Bobwhite 2003' (BW2003) (Pistón et al. 2011). Las líneas transgénicas se transformaron con dos vectores de silenciamiento tipo bucles de ARN para el silenciamiento de γ -gliadinas: el vector pghpg8.1 que contiene el promotor de D-hordeina y el pGghpg8.1 que contiene el promotor de γ -gliadina.

Cuantificación de proteína total, almidón, gluteninas y gliadinas: El contenido de proteína total y almidón se llevo a cabo mediante espectroscopia de rojo cercano (NIRS) usando un espectrofotómetro Foss-NIR Systems 6500 (NIR Systems, Inc., Maryland, USA).

Las distintas fracciones de gliadinas y gluteninas se cuantificaron mediante HPLC de fase reversa de acuerdo al protocolo descrito por (Pistón et al. 2011).

Análisis con Mixografo: Las propiedades de la masa se determinaron con un Mixografo de 10 g (National Manufacturing Co., Lincoln NE) de acuerdo al procedimiento descrito en (Pistón et al. 2011).

Análisis con Mixolab®: Las propiedades de mezclado de la harina se estudiaron utilizando el Mixolab® (Chopin Technologies, 338 Villeneuve-la-Garenne Cedex, Francia).

Diseño experimental y análisis estadístico: Las líneas transgénicas y sus controles se ensayaron siguiendo un diseño en bloques completamente aleatorizados. Los análisis estadístico junto con los graficos se llevaron a cabo con el programa R.

RESULTADOS

Factor	Mixografo y SDS			Mixolab			RP-HPLC, almidón y proteína		
	df	R ²	P valor	df	R ²	P valor	df	R ²	P valor
Bloque	2	0.084	0.032	2	0.070	0.016	2	0.209	0.002
Genotipo	1	0.221	0.001	1	0.482	0.001	1	0.064	0.046
Silenciamiento	1	0.047	0.051	1	0.043	0.021	1	0.074	0.028
GxS	1	0.027	0.139	1	0.001	0.995	1	0.005	0.644
Residuales	41	0.621		41	0.407		41	0.648	

Tabla 1. Grados de libertad, R² y valores de P del análisis MANOVA de los valores del Mixografo, del Mixolab y de la composición de almidón, proteína total y fracciones de prolaminas de harina procedente de líneas transgénicas y en sus controles.

DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados, hemos visto como el silenciamiento de γ -gliadinas tienen un mayor efecto en los contenidos proteicos y de almidón que en propiedades relacionadas con la calidad, donde el factor Genotipo tiene una mayor relevancia. Estos datos están de acuerdo a lo observado por Pistón et al. 2011 y Gil-Humanes et al. 2011, que mostraron como un disminución de más del 80% del contenido de γ -gliadina no provocaba grandes cambios en las propiedades de la harina y la masa de las líneas transgénicas con respecto a sus líneas control. Por el contrario, si hemos observado que la disminución de las γ -gliadinas provoca un aumento del resto de prolaminas, principalmente gliadinas. Esta compensación proteica podría ser la responsable de que las propiedades de la harina no cambien sustancialmente, compensando no solo el contenido proteico total sino también las propiedades tecnológicas de la harina.

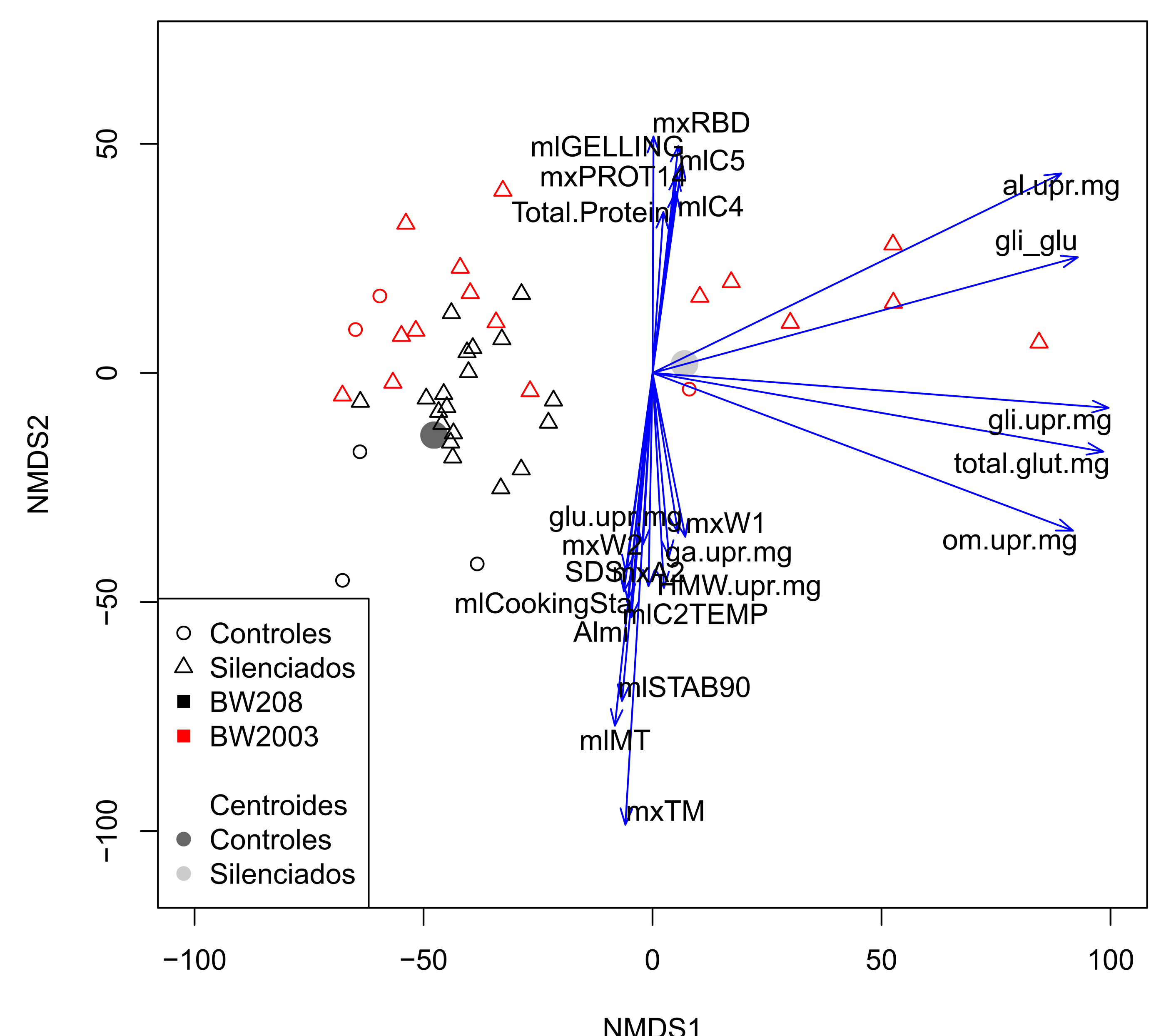


Figura 1. Escalamiento multidimensional no métrico de las líneas transgénicas y sus controles. Se ha representado la correlación de los distintos variables explicativas y factores.

Referencias

Gil-Humanes, Javier, Fernando Pistón, Cristina M. Rosell, y Francisco Barro. 2011. "Significant Down-regulation of γ -gliadins Has Minor Effect on Gluten and Starch Properties of Bread Wheat." *Journal of Cereal Science* (0).

Halford, N. G., J. Forde, P. R. Shewry, y M. Kreis. 1989. "Functional Analysis of the Upstream Regions of a Silent and an Expressed Member of a Family of Wheat Seed Protein Genes in Transgenic Tobacco." *Plant Sci* 62 (2): 207-216.

Pistón, Fernando, Javier Gil-Humanes, Marta Rodríguez-Quijano, y Francisco Barro. 2011. "Down-Regulating γ -Gliadins in Bread Wheat Leads to Non-Specific Increases in Other Gluten Proteins and Has No Major Effect on Dough Gluten Strength." *PLoS ONE* 6 (9): e24754.

Shewry, Peter R., y Nigel G. Halford. 2002. "Cereal Seed Storage Proteins: Structures, Properties and Role in Grain Utilization." *J. Exp. Bot.* 53 (370) (April 15): 947-958.