

Locos Microsatélites associados a qualidade da farinha em genótipos de trigo

Microsatellite loci associated with flour quality in wheat genotypes

DOI:10.34117/bjdv8n6-346

Recebimento dos originais: 21/04/2022

Aceitação para publicação: 31/05/2022

Rodrigo Rodrigues Matiello

Doutor em Genética e Melhoramento de Plantas pela Universidade Estadual de Ponta Grossa,
Depto. de Fitotecnia e Fitossanidade (ESALQ/USP)

Instituição: Universidade Estadual de Ponta Grossa, Depto. de Fitotecnia e Fitossanidade

Endereço: Av. Carlos Cavalcanti, nº 4748, Ponta Grossa – PR, Brasil, CEP: 84030-900

E-mail: rrmatiel@uepg.br

Anderson Carlos Finger

Mestre em Agricultura pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG)

Instituição: Universidade Estadual de Ponta Grossa

Endereço: Av. Carlos Cavalcanti, nº 4748, Ponta Grossa – PR, Brasil, CEP: 84030-900

E-mail: andersonfinger96@gmail.com

Ana Claudia Lubczyk

Engenheira Agrônoma pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG)

Instituição: Universidade Estadual de Ponta Grossa

Endereço: Av. Carlos Cavalcanti, nº 4748, Ponta Grossa – PR, Brasil, CEP: 84030-900

E-mail: alubczyk@hotmail.com

Flavia Juliana Ferreira Furlan

Mestre em Agricultura pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG)

Instituição: Universidade Estadual de Ponta Grossa

Endereço: Av. Carlos Cavalcanti, nº 4748, Ponta Grossa – PR, Brasil, CEP: 84030-900

E-mail: ju.frl@hotmail.com

Caroline de Jesus Coelho

Doutora em Agronomia pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG)

Instituição: Universidade Estadual de Ponta Grossa

Endereço: Av. Carlos Cavalcanti, nº 4748, Ponta Grossa – PR, Brasil, CEP: 84030-900

E-mail: carolecoelho@hotmail.com

RESUMO

A qualidade de panificação é determinada pela força de glúten, estabilidade e número de queda da massa. Para aumentar a eficiência na seleção de genótipos com maior qualidade de panificação, buscou-se associar a presença de alelos responsáveis pela qualidade de panificação da farinha, com os dados da fenotipagem da qualidade industrial de diferentes genótipos de trigo. Sete loci microsatélites (SSR), associados à qualidade de panificação, foram amplificados em trinta e dois genótipos, duas cultivares comerciais e trinta linhagens de trigo. Os dados da genotipagem e fenotipagem foram utilizados para realizar a análise de correlação canônica. A partir da genotipagem com o marcador microsatélite, foram amplificados doze fragmentos de DNA, com tamanho variando de 281 a 552 pb. As duas primeiras correlações

canônicas explicaram 75,3% da variação fenotípica total do conjunto de variáveis analisadas. O marcador SSR *PPO33* apresentou correlação com a coloração da farinha, enquanto que o *UMN25* relacionou-se com o índice de glúten. Os resultados deste trabalho evidenciam o potencial de utilização do marcador microssatélite para aumentar a assertividade e a agilidade dos programas de melhoramento genético, na seleção de linhagens melhoradas de trigo, visando uma maior qualidade industrial da farinha.

Palavras-chave: *Triticum aestivum* L., seleção, microssatélites, qualidade de panificação, correlação canônica.

ABSTRACT

The baking quality is determined by the gluten strength, stability and drop number of the dough. In order to increase the efficiency in the selection of genotypes with better bread-making quality, we sought to associate the presence of alleles responsible for the bread-making quality of the flour, with the phenotyping data of the industrial quality of different wheat genotypes. Seven microsatellite loci (SSR), associated with breadmaking quality, were amplified in thirty-two genotypes, two commercial cultivars and thirty wheat lines. Data from genotyping and phenotyping were used to perform canonical correlation analysis. From genotyping with the microsatellite marker, twelve DNA fragments were amplified, with sizes ranging from 281 to 552 bp. The first two canonical correlations explained 75.3% of the total phenotypic variation of the set of variables analyzed. The SSR marker *PPO33* was correlated with the color of the flour, while *UMN25* was correlated with the gluten index. The results of this work show the potential of using the microsatellite marker to increase the assertiveness and agility of genetic improvement programs, in the selection of improved wheat lines, aiming at a higher industrial quality of the flour.

Keywords: *Triticum aestivum* L., selection, microsatellites, bakery quality, canonical correlation.

1 INTRODUÇÃO

O cultivo do trigo iniciou a cerca de 10.000 anos na região da Mesopotâmia, estando intrinsecamente relacionado com o desenvolvimento da civilização humana. Além de possuir elevado valor nutritivo, apresenta baixa quantidade de água nos grãos, facilitando o transporte, armazenamento e processamento. Estas características, fizeram do trigo o alimento básico de cerca de 35% da população mundial, tornando-o um dos cereais mais cultivados do mundo (PIANA; CARVALHO, 2008).

A produção mundial de trigo, na safra 2020/21, foi de aproximadamente 773,6 milhões de toneladas. No Brasil, a produção está concentrada principalmente no Rio Grande do Sul, Paraná, Minas Gerais e São Paulo, com 7,7 milhões de toneladas. A produção nacional ainda não supre a necessidade do mercado interno, e associada a baixa qualidade de panificação do trigo nacional, justificam a importação de trigo, proveniente principalmente da Argentina (CONAB, 2020; USDA, 2020).

Apesar de existirem diversas espécies de trigo, silvestres e cultivadas, apenas o trigo comum (*Triticum aestivum* L.) e o trigo duro (*Triticum turgidum* var. *durum*) apresentam importância econômica. O trigo comum é o mais cultivado mundialmente, em função de apresentar características ideais de panificação. É uma espécie alohexaplóide (AABBDD), originada a partir de processos naturais de hibridação, entre *Triticum turgidum* ssp. *dicoccum* (AABB) e *Aegilops tauschii* (DD), seguidos de evento de duplicação cromossômica espontânea (FRANCKI; APPELS, 2002; PIANA; CARVALHO, 2008).

Os programas de melhoramento genético do trigo vêm dando ênfase na seleção de genótipos mais tolerantes às pragas, às doenças, ao déficit hídrico e às características relacionadas à qualidade de panificação. A qualidade de panificação é determinada principalmente pelo glúten, o qual é constituído por dois grupos de proteínas: gliadinas e gluteninas, estas divididas em alto e baixo peso molecular. As gliadinas conferem a propriedade de extensibilidade à massa, enquanto que as gluteninas de alto peso molecular, conferem elasticidade, e as gluteninas de baixo peso molecular, a viscosidade (WIESER, 2007).

A classificação comercial do trigo em classes, é realizada com base nos valores de força de glúten, estabilidade e número de queda da massa. De maneira geral, estas análises são muito onerosas, em função de exigirem mão de obra qualificada e equipamentos sofisticados. Além disso, requerem uma grande quantidade de farinha, o que é limitante nas fases iniciais dos programas de melhoramento, em função da baixa quantidade de grãos disponíveis (MITTELMANN et al., 2000; TONON, 2010). Neste sentido, análises utilizando marcadores moleculares são de extrema importância, visto que as mesmas são facilmente reproduzíveis e de custo relativamente baixo. Os marcadores moleculares, como os microssatélites, visam a identificação de polimorfismos no DNA, os quais podem estar associados a determinada característica fenotípica de interesse agrônomo, possibilitando, a seleção de genótipos superiores (BUSO et al., 2009).

O genoma dos eucariontes apresenta sequências curtas de mono, di, tri ou tetranucleotídeos repetidas em *tandem*, as quais são conhecidas como SSR (*Simple Sequence Repeats*), ou também microssatélites. O número de vezes que estas sequências são repetidas varia entre os genótipos, o que gera o polimorfismo molecular. Como a qualidade de panificação do trigo é determinada pela proporção entre gliadinas e gluteninas, vários marcadores moleculares já foram desenvolvidos para identificar polimorfismos nos genes responsáveis por codificar estas proteínas (BUSO et al., 2009).

Segundo Goel et al. (2018), a qualidade de panificação do trigo é governada por uma complexa rede de genes, conhecida como herança poligênica, dificultando a seleção artificial e

reduzindo a eficiência dos programas de melhoramento genético. Com a disponibilidade de informações a respeito dos genes que governam a qualidade de panificação do trigo, é possível relacionar a presença dos mesmos com as características de panificação de um determinado genótipo. Esta relação pode ser avaliada a partir de uma análise de correlação canônica, visando neste caso, a identificação e a quantificação da associação entre as variáveis genotípicas e fenotípicas. Desta forma, algumas das análises químicas e reológicas poderiam ser dispensadas pelos programas de melhoramento genético do trigo, no processo de seleção de linhagens/genótipos.

O objetivo do presente trabalho foi verificar a correlação entre fragmentos de DNA amplificados com o marcador microssatélite, relacionados a qualidade de panificação e as análises de qualidade tecnológica da farinha, proveniente de linhagens de trigo pertencentes ao programa de melhoramento genético da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL VEGETAL E EXTRAÇÃO DE DNA

Foram utilizadas trinta linhagens de trigo, pertencentes ao programa de melhoramento genético da Universidade Estadual de Ponta Grossa, e duas cultivares comerciais (Safira® e Quartzo®). A extração do DNA foi realizada a partir de plântulas germinadas em papel Germitest®, em câmara de crescimento a 25°C, por um período de oito dias.

O DNA foi extraído a partir do tecido da parte aérea das plântulas, o qual primeiramente foi fragmentado em nitrogênio líquido. Em sequência, foi seguido o protocolo de extração proposto por Hoisington e Khairallah (1994). Após a extração do DNA, foi realizada a quantificação em espectrofotômetro Eppendorf BioPhotometer D30, obtendo também os valores de absorbância das relações A_{260}/A_{280} (DNA/proteínas) e A_{260}/A_{230} (DNA/polissacarídeos). Os valores da quantificação e das relações estão apresentados na Tabela 1.

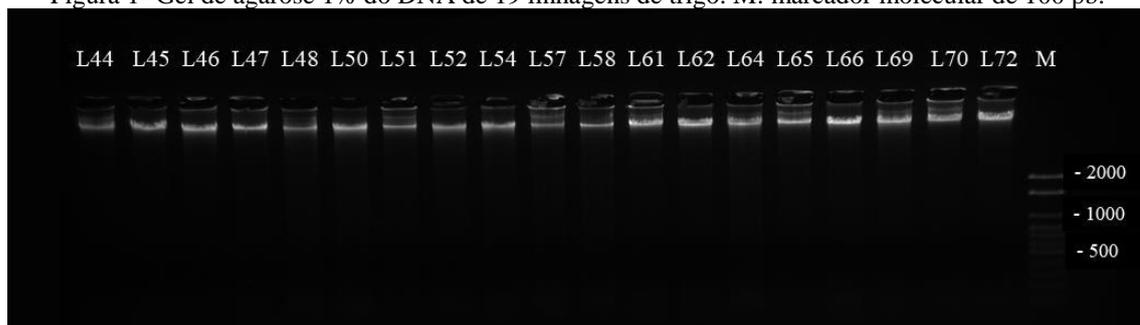
Tabela 1- Concentração de DNA, relação A_{260}/A_{280} (DNA/proteínas) e relação A_{260}/A_{230} (DNA/polissacarídeos) do DNA extraído dos genótipos de trigo.

Genótipos	Concentração de DNA (ng μL^{-1})	A_{260}/A_{280}	A_{260}/A_{230}
L44	241,2	1,88	0,94
L45	293,0	1,84	1,98
L46	124,4	1,73	1,85
L47	122,4	1,76	1,74
L48	212,8	1,72	1,72
L50	255,5	1,82	1,82
L51	130,5	1,71	1,13
L52	175,3	1,68	1,63

L54	191,4	1,77	1,58
L57	292,7	1,88	0,67
L58	222,8	1,80	1,99
L61	406,6	1,85	1,93
L62	267,2	1,83	2,07
L64	231,7	1,82	2,08
L65	368,9	1,82	1,97
L66	405,3	1,85	2,08
L69	148,0	1,74	1,94
L70	296,5	1,81	1,51
L72	367,7	1,86	2,19
L73	324,2	1,83	1,50
L74	436,2	1,82	1,54
L75	575,5	1,83	2,16
L76	516,6	1,88	2,34
L77	1475,1	1,83	2,15
L78	1909,0	1,83	2,12
L79	1140,1	1,91	2,16
L80	1060,2	1,87	2,25
L81	330,9	1,89	2,26
L82	837,0	1,88	2,16
L87	1065,3	1,90	2,29
Quartzo®	1811,0	1,78	1,77
Safira®	1129,3	1,89	2,21

Para visualizar a integridade do DNA extraído, foi realizado uma eletroforese em gel de agarose a 1%, o qual posteriormente foi visualizado e fotodocumentado no equipamento AlphaImager HP System (Figura 1). Após confirmar a quantidade e a qualidade do DNA extraído, as amostras de DNA concentrado foram diluídas para a concentração de 10 ng μL^{-1} , e posteriormente, armazenadas a - 20°C, para posterior utilização.

Figura 1- Gel de agarose 1% do DNA de 19 linhagens de trigo. M: marcador molecular de 100 pb.



2.2 AMPLIFICAÇÃO DOS LOCI SSR

Foram testados quinze loci SSRs associados à qualidade de panificação em trigo, os quais foram selecionados a partir do mapa de ligação consenso da cultura (RÖDER et al., 1998) e do Marker Assisted Selection in Wheat - MASWheat (<http://maswheat.ucdavis.edu/>). Deste total, sete loci foram otimizados em reações de PCR (reação em cadeia da polimerase), o que tornou possível identificar o polimorfismo genético entre os genótipos de trigo analisados. As

sequências (forward e reverse) e a temperatura de anelamento dos loci utilizados nas reações de PCR, estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 - Nome do locus, sequência forward/reverse e temperatura de anelamento dos loci microssatélites.

Loci	Sequência 5' - 3'	Temperatura de Anelamento (°C)
<i>GluA3a</i>	F: AAA CAG AAT TAT TAA AGC CGG R: GGT TGT TGT TGT TGC AGC A	48,6
<i>GluA3f</i>	F: AAA CAG AAT TAT TAA AGC CGG R: GCT GCT GCT GCT GTG TAA A	54 – 66
<i>GluA3ac</i>	F: AAA CAG AAT TAT TAA AGC CGG R: GTG GCT GTT GTG AAA ACG A	54 – 66
<i>UMN19</i>	F: CGA GAC AAT ATG AGC AGC AAG R: CTG CCA TGG AGA AGT TGG A	55 – 60
<i>UMN25</i>	F: GGG ACA ATA CGA GCA GCA AA R: CTT GTT CCG GTT GTT GCC A	55 – 66
<i>Dx5</i>	F: CGT CCC TAT AAA AGC CTA GC R: AGT ATG AAA CCT GCT GCG GAC	58
<i>PPO33</i>	F: CCA GAT ACA CAA CTG CTG GC R: TGA TCT TGA GGT TCT CGT CG	61

As reações de PCR foram realizadas em microtubos de 200 μL , utilizando os seguintes reagentes: tampão 1X InvitrogenTM; 1,5 mM MgCl_2 ; 0,2 mM de solução de dNTP (100 mM, InvitrogenTM); 0,25 μM de primer (forward e reverse); 1 U de *Taq* DNA polimerase (5 U μL^{-1} , InvitrogenTM) e 20 ng de DNA molde, completando um volume final de 20 μL de reação.

Para as reações de PCR, foram utilizados dois programas básicos, sendo um de ciclagem normal (RÖDER et al., 1998) e outro do tipo *Touchdown* (HE et al., 2007). As reações foram realizadas no termociclador ESCO SwiftTM Max Pro. Os produtos da PCR foram submetidos a eletroforese em gel de agarose 2%. Os géis foram fotodocumentados e os fragmentos polimórficos foram genotipados para presença (1) ou ausência (0), gerando uma matriz de dados binários.

Partindo dos dados fenotípicos avaliados por Furlan (2018) para os parâmetros relacionados à qualidade de panificação: índice de glúten (IG), glúten seco (GS), glúten úmido (GU), peso do hectolitro (PH), rendimento de moagem (RM) e coloração de farinha, dos mesmos genótipos de trigo que foram genotipados para os loci microssatélites, buscou-se verificar a existência de correlações canônicas. O primeiro grupo de dados representa as variáveis independentes (genotipagem) e o segundo grupo, as variáveis dependentes (fenotipagem). Dessa forma, foi possível determinar duas funções canônicas ou dois pares de variáveis estatísticas canônicas.

Foram estimadas as cargas canônicas, ou seja, as correlações entre as variáveis originais e suas respectivas variáveis estatísticas canônicas, e as cargas canônicas cruzadas, que representam a correlação entre uma variável original de um determinado grupo e a variável

estatística canônica do outro grupo. As análises foram realizadas no software R (R Core Team, 2013), com o auxílio do pacote CCA (GONZALEZ; DÉJEAN, 2009).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

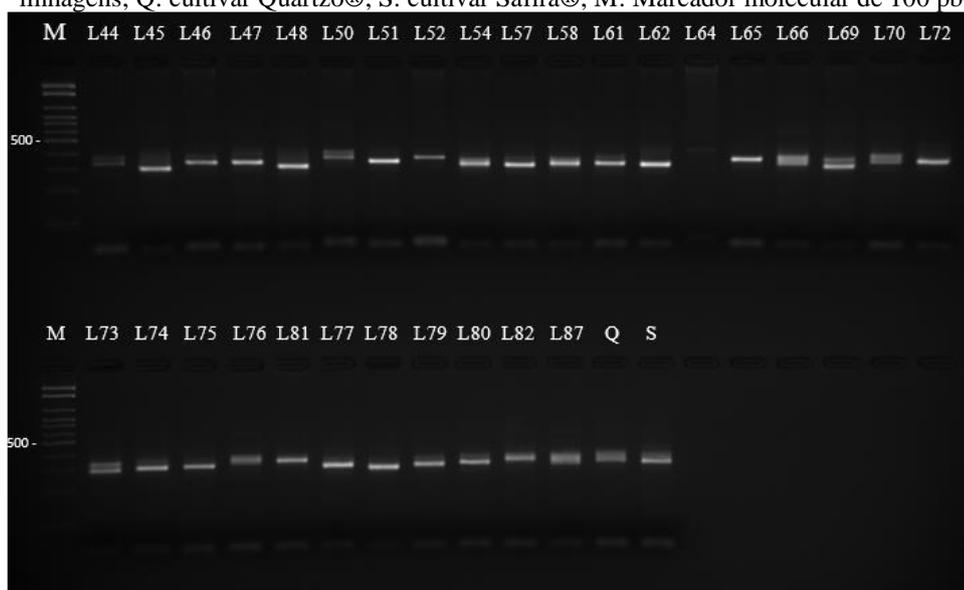
3.1 POLIMORFISMO MOLECULAR

Os sete loci microssatélites (SSR) geraram doze fragmentos amplificados, entre os trinta e dois genótipos de trigo, com tamanhos variando entre 281 a 552 pares de base (pb), conforme observado na Tabela 3. Os maiores fragmentos foram obtidos para os loci SSR: *GluA3f* (1A), *GluA3ac* (1A) e *Dx5* (1D) (Tabela 3). De modo similar, Roder *et al.* (1998) utilizaram 230 primers para obter um mapa genético com o marcador microssatélite em trigo, os resultados demonstraram 279 fragmentos amplificados com o conjunto de primers utilizados. Os autores destacaram que o marcador SSR é altamente adequado para mapear genes de interesse agrônomico. Plaschke *et al.* (1995) demonstraram a eficiência desse marcador em detectar polimorfismos genéticos. Neste trabalho o locus SSR *UMN19* amplificou dois fragmentos, sendo um de 300 e outro de 400 pares de base (Figura 2).

Tabela 3 - Loci microssatélites com o tamanho dos fragmentos amplificados e o respectivo genoma avaliado.

Loci SSR	Tamanho dos fragmentos (pb)	Genoma
<i>GluA3a</i>	300 – 450	1A
<i>GluA3f</i>	552	1A
<i>GluA3ac</i>	480 – 550	1A
<i>UMN19</i>	340 – 400	1A
<i>UMN25</i>	281 – 299	1D
<i>Dx5</i>	478	1D
<i>PPO33</i>	290 – 481	2A

Figura 2 - Gel de agarose 2%. Visualização dos fragmentos amplificados para o locus microssatélite *UMN19*. L: linhagens; Q: cultivar Quartzo®; S: cultivar Safira®; M: Marcador molecular de 100 pb.



3.2 ANÁLISE DE CORRELAÇÃO CANÔNICA

A análise de correlação canônica é utilizada para a identificação e quantificação da associação entre dois grupos de variáveis (CHAVES NETO, 2002). Em alguns casos, o interesse pode não ser em uma única variável dependente, e sim nas relações entre conjuntos de múltiplas variáveis dependentes e independentes (LIRA, 2004). Na Figura 3 é possível observar o grau de associação entre as variáveis de qualidade de farinha (FURLAN, 2018) e os dados de genotipagem obtidos pelo marcador microssatélite utilizados no presente trabalho. A partir do conjunto de variáveis analisadas podem ser obtidos até 10 correlações canônicas (CCAs). As duas primeiras CCAs explicaram 75,32% da variação fenotípica total dos conjuntos de variáveis estudadas, sendo consideradas adequadas para as correlações obtidas (Tabela 4). Butt *et al.* (2000) relataram alta correlação quando utilizaram esta análise para estimar a associação do volume do pão e atributos de panificação com 16 variáveis de qualidade em *Triticum aestivum*.

Tabela 4 - Estimativas dos autovalores λ_j associados às correlações canônicas, proporção explicada (λ_j %) e a proporção acumulada (%).

Correlações	Δ_j	λ_j (%)	Proporção Acumulada (%)
CCA1	0,1181	47,65	47,65
CCA2	0,6859	27,67	75,32
CCA3	0,0349	14,10	89,42
CCA4	0,0099	4,00	93,42
CCA5	0,0075	3,04	96,47
CCA6	0,0050	2,05	98,52
CCA7	0,0017	0,71	99,24
CCA8	0,0013	0,53	99,77
CCA9	0,0004	0,17	99,95
CCA10	0,0001	0,04	100

A partir dos coeficientes dos autovetores foi possível identificar quais variáveis foram mais importantes para a formação de cada uma das correlações canônicas (Tabela 5). Para a CCA1 a variável de qualidade de farinha luminosidade (L) (0,63) foi correlacionada com os marcadores M450 (3,87) e M550 (0,59) em contraste com as variáveis *falling number* (FN) (-0,92) e peso do hectolitro (PH) (-0,36), as quais foram mais bem correlacionadas com o marcador M281 (-0,53). Na CCA2, a variável coordenada de cromaticidade vermelho – verde (b*) (0,45) apresentou melhor correlação com os marcadores M290 (0,40) e M552 (0,37), sendo contrastante com as variáveis índice de glúten (IG) (-0,34), L (-0,35) e coordenada de cromaticidade azul – amarelo (a*) (-0,31) correlacionadas com os marcadores M281 (-0,79) e M450 (-0,53). A análise de correlação canônica demonstrou maior amplitude de variação entre os dados de qualidade de farinha e as linhagens estudadas, quando comparadas aos marcadores moleculares. Estes resultados podem ser comprovados pela distância dos vetores em relação à origem do plot para cada uma das variáveis de qualidade da farinha (Figura 3).

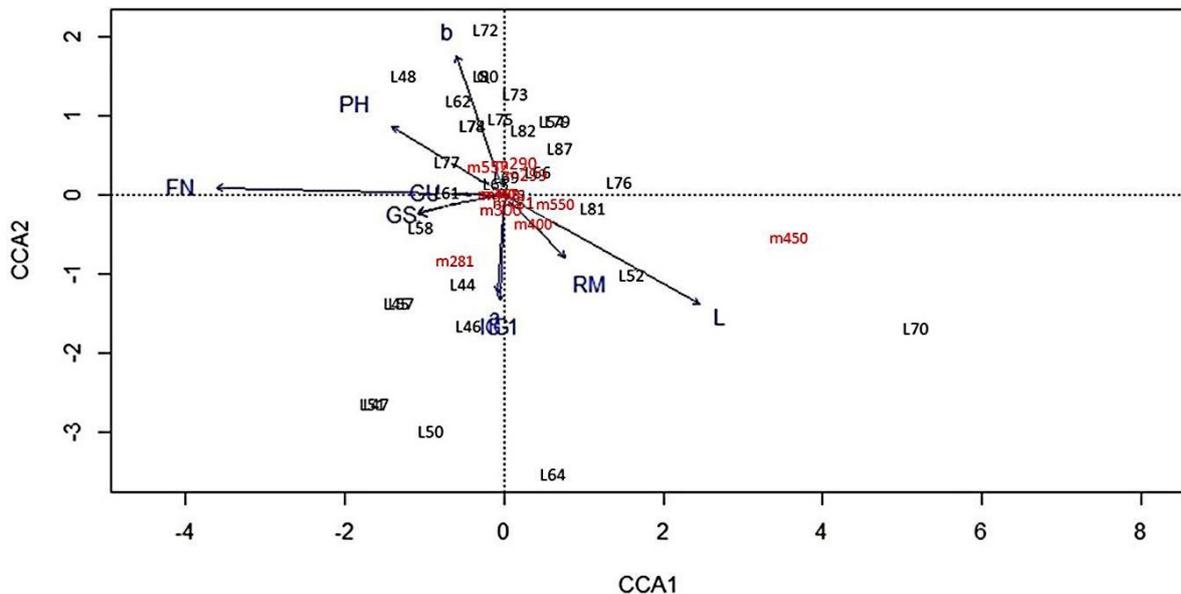
Tabela 5 - Autovetores das duas primeiras correlações canônicas.

Variáveis	CCA1	CCA2
IG	-0,01	-0,34
GU	-0,12	0,01
GS	-0,20	-0,04
L	0,62	-0,35
a*	-0,02	-0,31
b*	-0,15	0,45
PH	-0,36	0,22
RM	0,19	-0,20
M281	-0,53	-0,79
M290	0,11	0,40
M299	0,20	0,25
M300	-0,02	-0,17
M340	-0,10	0,04
M400	0,33	-0,30
M450	3,86	-0,53
M478	-0,03	-0,03
M480	-0,25	0,05
M481	0,09	-0,06

M550	0,58	-0,07
M552	-0,21	0,37

IG = índice de glúten; GU = glúten úmido; GS = glúten seco; L = luminosidade; a = coordenada de cromaticidade vermelho – verde; b* = coordenada de cromaticidade amarelo – azul; PH = peso do hectolitro; RM = rendimento de moagem; M281 = fragmento amplificado de 281 pb.

Figura 2 - Gel de agarose 2%. Visualização dos fragmentos amplificados para o locus microssatélite *UMN19*. L: linhagens; Q: cultivar Quartzo®; S: cultivar Safira®; M: Marcador molecular de 100 pb.



O locus microssatélite *PPO33* amplificou dois fragmentos de 290 e 481 pb (M290 e M481). He *et al.* (2007) ao estudar a variação alélica de genes relacionados à enzima Polifenol-Oxidase através do primer SSR *PPO33* apresentaram resultados semelhantes. Os autores relataram que os fragmentos 481 e 290 pb indicam, respectivamente, baixa e alta atividade da enzima polifenol-oxidase. As polifenóis-oxidases catalisam a oxidação dos fenóis, resultando no escurecimento enzimático, o que gera um impacto negativo na cor, sabor, propriedades nutricionais e vida de prateleira dos produtos (TARANTO *et al.*, 2017). Dessa forma, a seleção de linhagens com baixa atividade da enzima é desejada, dando origem a uma farinha mais branca.

Na Figura 3 pode ser visualizado que o fragmento amplificado de 290 pb do locus SSR *PPO33* (M290) apresenta proximidade do vetor b*, enquanto a linhagem L75 localiza-se próxima a ambos. Os valores da linhagem L75 em relação aos componentes de coloração, L, a* e b* foram de 91,897, -0,877 e 14,483, respectivamente. Ao analisar os valores de coloração da farinha propostos por Ortolan (2010), a linhagem L75 não possui brancura adequada. De acordo com a autora, considera-se farinha de coloração branca quando esta apresenta valores

de luminosidade (L^*) acima de 93, coordenada de cromaticidade a^* próxima a 0 (positivo ou negativo, $\pm 0,5$) e coordenada de cromaticidade b^* próxima a 8. O fragmento M290 caracteriza alta atividade da enzima polifenol-oxidase, que causa escurecimento enzimático, corroborando com os resultados obtidos para a coloração da farinha proveniente da linhagem L75. De modo geral, o consumidor dá preferência a farinhas de coloração mais claras, motivo pelo qual a seleção artificial dessa característica é de extrema importância.

As linhagens L87, L82 e L81 apresentaram alto rendimento de moagem, e encontram-se próximas do vetor b^* e do marcador M290. De acordo com Hatcher & Kruger (1997) pode-se relacionar a alta taxa de extração de farinha ($>70\%$) a altas concentrações da polifenol-oxidase.

A linhagem L72 encontra-se na extremidade do vetor b^* e oposta ao vetor IG (índice de glúten). Seu valor para a cromaticidade b^* (11,053) não é o mais alto entre as linhagens estudadas, porém sua localização no plot foi influenciada por seu valor para o índice de glúten (IG), o mais baixo em comparação às demais linhagens analisadas (Tabela 6).

A linhagem L70 destacou-se por estar deslocada no quadrante inferior direito do *plot* (Figura 3). Ao analisar os valores médios de coloração (Tabela 6) observa-se luminosidade superior a 93, com cromaticidade a^* de -0,15 e b^* de 9,973, considerada muito branca de acordo com os valores propostos por Ortolan (2010). Em contrapartida, a linhagem L44 apresentou o maior valor de IG entre as linhagens do programa de melhoramento da UEPG estudadas e encontra-se próxima do marcador *UMN25* (M281). O marcador molecular *UMN25* é capaz de diferenciar os alelos de glutenina de alto peso molecular $Dx5$ e $Dx2$ no braço longo do cromossomo 1D, ao amplificar fragmentos de 281 e 299 pb, respectivamente (LIU *et al.*, 2008). Payne *et al.* (1987) demonstraram que a presença do par alélico $Dx5-Dy10$ traz ganhos na força da massa obtida, o que pode explicar o alto de índice de glúten (97,9%) obtido pela linhagem L44. Segundo D'ovidio; Anderson (1994), os alelos x e y são fortemente ligados, portanto, sendo possível selecionar apenas um dos componentes em vista de obter o par alélico.

Tabela 6 – Dados médios de coloração de farinha de 32 genótipos de trigo para os parâmetros luminosidade(L*), coordenada de cromaticidade a* (vermelho-verde) e coordenada de cromaticidade b* (amarelo-azul).

Genótipos	L*	a*	b*
L44	92,153	-0,287	11,323
L45	91,867	-0,680	13,470
L46	92,710	-0,503	11,383
L47	92,073	-0,327	11,393
L48	91,670	-0,313	11,850
L50	91,893	0,190	10,383
L51	91,990	-0,027	11,357
L52	92,433	-0,107	10,603
L54	92,087	0,143	10,270
L57	91,880	0,610	9,080
L58	92,290	0,183	9,627
L61	92,370	-0,250	11,207
L62	92,427	0,063	10,133
L64	92,320	0,400	9,267
L65	91,903	-0,013	10,890
L66	92,177	0,040	10,107
L69	92,187	-0,120	10,797
L70	92,993	-0,150	9,973
L72	92,293	-0,003	11,053
L73	92,047	-0,843	14,290
L74	92,093	-0,903	14,433
L75	91,897	-0,877	14,483
L76	91,647	-0,343	12,893
L77	91,953	-0,697	13,543
L78	91,577	-0,780	14,537
L79	92,290	-0,307	11,380
L80	92,123	-0,400	11,827
L81	91,963	-0,063	12,220
L82	92,073	-0,357	11,747
L87	92,090	0,203	9,773
Quartzo®	92,227	-0,043	10,840
Safira®	91,657	0,027	11,297

Fonte: Furlan (2018).

Alguns trabalhos publicados (MacRITCHIE *et al.*, 1991; TAKATA *et al.*, 2000) mostram que as diferentes subunidades de glutenina de alto peso molecular são importantes na determinação da força e elasticidade da massa. Lawrence *et al.* (1988) destacam que os loci presentes nos cromossomos 1B e 1D possuem maior efeito por produzir duas subunidades de glutenina (tipos x e y), diferente do cromossomo 1A que produz apenas uma do tipo x. Desta forma, a maior contribuição dos genomas B e D nesse aspecto deve-se a maior quantidade de glutenina de baixo peso molecular produzida, não a qualidade dos alelos. Entretanto, entre as subunidades que podem estar presentes no mesmo genoma, há diferenças de qualidade.

Na Figura 3, o fragmento de 281 pb é representado por “M281”. Pode-se perceber que o marcador está muito próximo dos vetores que representam o índice de glúten, podendo ser relacionado a essa característica. Sissons *et al.* (2005) afirmam que a variação no IG entre diferentes genótipos pode ser atribuída ao conteúdo de glutenina, além da razão glutenina/gliadina.

O locus SSR *UMN19* amplificou os fragmentos de 340 e 400 pb (M340 e M400). Liu *et al.* (2008) desenvolveram este marcador para diferenciar entre as subunidades Ax1, Ax2 ou do alelo nulo da glutenina de alto peso molecular presente no cromossomo 1A. Os autores destacam que tanto o alelo Ax2 quanto o Ax1 são responsáveis por efeitos positivos na qualidade de panificação da farinha obtida, enquanto o alelo nulo causa efeitos negativos. Através do fragmento M400 não foi possível distinguir o alelo nulo do alelo Ax1, sendo que apenas uma base nitrogenada difere entre eles. Esta pode ser a razão pela qual neste estudo o locus SSR *UMN19* não mostrou alta correlação com as características de panificação ou com as linhagens de trigo estudadas.

A partir das discussões apresentadas pode-se perceber uma correlação existente entre os marcadores SSR e as características de qualidade de panificação expressas na farinha de trigo.

4 CONCLUSÕES

Os sete loci SSR amplificaram doze fragmentos de tamanhos distintos, demonstrando o polimorfismo molecular presente entre as 30 linhagens de trigo do programa de melhoramento genético da Universidade Estadual de Ponta Grossa e as duas cultivares comerciais analisadas.

As duas primeiras correlações canônicas explicaram 75,32% da variação fenotípica total do conjunto de variáveis estudadas. Os marcadores moleculares SSR *PPO33* e *UMN25* destacaram-se por estarem fortemente correlacionados com as variáveis coloração da farinha e índice de glúten, respectivamente.

REFERÊNCIAS

- BRAMMER, S. P. **Atualização em técnicas celulares e moleculares aplicadas ao melhoramento genético vegetal**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2002. 404 p.
- BUSO, G. S. C.; YAMAGUISHI, A. T.; AZEVEDO, V. C. R.; LEÃO, D. A.; FERREIRA, M. A.; MORETZSOHN, M. C.; AMARAL, Z. P. S.; MAZZUCATO, A. **Manual de Utilização de Marcadores Moleculares para Análise de Diversidade Genética**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2009. 30 p. (Documentos / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 291).
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. Safra 2019/20 – Nono levantamento, v. 7, n. 9, p. 1 – 31, jun. 2020.
- D'OIDIO, R.; ANDERSON, O. D. PCR analysis to distinguish between alleles of a member of a multigene family correlated with wheat bread-making quality. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 88, [s. n.], p. 759 - 763, 1994.
- FRANCKI, M; APPELS, R. Wheat functional genomics and engineering crop improvement. **Genome Biology**, v. 3, n. 5, [s. p.], 2002.
- FURLAN, F. J. F. **Caracterização agrônômica e qualidade industrial da farinha de linhagens melhoradas de trigo para a região dos Campos Gerais**. 2018, 100 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2018.
- GOEL, S.; YADAV, M.; SINGH, K.; JAAT, R. S.; SINGH, N. K. Exploring diverse wheat germplasm for novel alleles in HMW-GS for bread quality improvement. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 8, p. 3257 - 3262, 2018.
- GONZÁLEZ, I.; DÉJEAN, S. Canonical Correlation Analysis (R package version 2.11.1.) 2009.
- HATCHER, D. W.; KRUGER, J. E. Simple Phenolic Acids in Flours Prepared from Canadian Wheat: Relationship to Ash Content, Color, and Polyphenol Oxidase Activity. **Cereal Chemistry**, v. 74, n. 3, p. 337 - 343, 1997.
- HE, X. Y.; HE, Z. H.; ZHANG, L. P.; SUN, D. J.; MORRIS, C. F.; FUERST, E. P.; XIA, X. C. Allelic variation of polyphenol oxidase (PPO) genes located on chromosomes 2A and 2D and development of functional markers for the PPO genes in common wheat. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 115, n. 1, p. 47 - 58, 2007.
- HOISINGTON, D.; KHAIRALLAH, M. **Laboratory protocols: CIMMYT applied molecular genetics laboratory**. CIMMYT, 1994.
- LIU, S.; CHAO, S.; ANDERSON, J. A. New DNA markers for high molecular weight glutenin subunits in wheat. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 118, [s. n.], p. 177 – 183, 2008.
- MITTELMANN, A.; BARBOSA NETO, J. F.; CARVALHO, F. I. F.; LEMOS, M. C. I.; CONCEIÇÃO, L. D. H. Herança de caracteres do trigo relacionados à qualidade de panificação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 5, p. 975 - 983, 2000.

ORTOLAN, F. **Genótipos de trigo do Paraná – Safra 2004: Caracterização e fatores relacionados à alteração da cor de farinha.** 2006. 140 f. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

PAYNE, P. I.; NIGHTINGALE, M. A.; KRATTIGER, A. F.; HOLT, L. M. The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality of British-grown wheat varieties. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 40, n. 1, p. 51 - 65, 1987.

PENG, J.; RICHARDS, D. E.; HARTLEY, N. M.; MURPHY, G. P.; DEVOS, K. M.; FLINTHAM, J. E.; BEALES, J.; FISH, L. J.; WORLAND, A. J.; PELICA, F.; SUDHAKAR, D.; CHRISTOU, P.; SNAPE, J. W.; GALE, M. D.; HARBERD, N. P. 'Green revolution' genes encode mutant gibberellin response modulators. **Nature**, v. 400, [s. n.], p. 256 - 261, 1997.

PIANA, C. F. B; CARVALHO, F. I. F. Trigo - A cultura que deu suporte à civilização. In: BARBIERI, R. L.; STUMPF, E. R. T. **Origem e evolução de plantas cultivadas.** Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. 909 p.

RÖDER, M. S.; KORZUN, V.; WENDEHAKE, K.; PLASCHKE, J.; TIXIER, M. H.; LEROY, P.; GANAL, M. W. A Microsatellite Map of Wheat. **Genetics**, v. 149, n. 4, p. 2007 - 2023, 1998.

SISSONS, M. J.; AMES, N. P.; HARE, R. A.; CLARKE, J. M. Relationship between glutenin subunit composition and gluten strength measurements in durum wheat. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, n. 14, p. 2445 - 2452, 2005.

SOUZA, T. L. P. O. Uso de marcadores moleculares no melhoramento de plantas para resistência a nematoides. In: XXXVI CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, Caldas Novas. Nematoides: da Ciência ao Campo (Artigo em anais de congresso). Campinas: Infobibos, 2019.

TAKATA, K.; YAMAUCHI, H.; NISHIO, Z.; FUNATSUKI, W.; KUWABARA, T. Effect of High-Molecular Weight Glutenin Subunits with Different Protein Contents on Bread-Making Quality. **Food Science Technology Resources**, v. 8, n. 2, p. 178 - 182, 2002.

TARANTO, F.; PASQUALONE, A.; MANGINI, G.; TRIPODI, P.; MIAZZI, M. M.; PAVAN, S.; MONTEMURRO, C. Polyphenol Oxidases in Crops: Biochemical, Physiological and Genetic Aspects. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 2, p. 377, 2017.

TONON, V. D. **Herança genética e estabilidade de características relacionadas à qualidade dos grãos e da farinha de trigo.** 2010. 117 f. Tese (Doutorado) Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010.

USDA - United States Department of Agriculture. **Grain and Feed Annual**, 2020.

WIESER, H. Chemistry of gluten proteins. **Food Microbiology**, v. 24, n. 2, p. 115 - 119, 2007.