

Diversidad alélica de gluteninas en trigos harineros de temporal en México*

Allelic diversity of glutenins in rainfed bread wheat in Mexico

Elie Martínez Cruz^{1§}, Héctor E. Villaseñor Mir¹, René Hortelano Santa Rosa, Patricia Pérez Herrera, Ma. Florencia Rodríguez García, Eduardo Espitia Rangel y Roberto J. Peña Bautista²

¹Campo Experimental Valle de México-INIFAP. Carretera los Reyes-Textcoco, km 13.5. Caotlínchán, Textcoco. Edo de Méx. C. P. 56250. Tel. (595) 92 12657. (villaseñor.eduardo@inifap.gob.mx; hortelano.rene@inifap.gob.mx; perez.patricia@inifap.gob.mx; rodriguez.maria@inifap.gob.mx; espitia.eduardo@inifap.gob.mx). Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. Carretera México-Veracruz, El Batán, km 45, Textcoco, Edo de Méx. C. P. 56130. Tel. (595) 9521900. (j.pena@cgiar.org.mx). [§]Autor para correspondencia: martinez.eliel@inifap.gob.mx.

Resumen

Se utilizó el grupo de progenitores del programa de trigo de temporal de México, con el objetivo de caracterizarlos con base en sus variantes de gluteninas de alto peso molecular (GAPM) y bajo peso molecular (GBPM). Las GAPM y GBPM se identificaron mediante electroforesis en geles de poliacrilamida. Las frecuencias se calcularon para los loci Glu-A1, Glu-B1, Glu-D1, Glu-A3, Glu-B3 y Glu-D3 así como para sus combinaciones de GAPM y GBPM. Se observó mayor polimorfismo en los loci Glu-B1 y Glu-B3 con 6 y 8 variantes individuales, respectivamente. Los alelos de GAPM de mayor frecuencia fueron 2* en Glu-A1, 17+18 en Glu-B1 y 5+10 en Glu-D1, y para el caso de GBPM lo fueron las variantes c en Glu-A3, h en Glu-B3 y b en Glu-D3. En los loci Glu-B1 y Glu-D1 se identificaron dos nuevos alelos 7*+15 y 2+T2/1.5+T2. Por otro lado la combinación de GAPM de mayor proporción fueron 2*, 17+18, 5+10 y de GBPM c, h, b. Con base en lo anterior, en el grupo de progenitores de trigo harinero de temporal de México, existen alelos y combinaciones de GAPM y GBPM que favorecen la generación de progenies con calidad apta para la elaboración de productos de panificación, galletería y repostería.

Palabras clave: caracterización, gluteninas de alto y bajo peso molecular, trigo harinero.

Abstract

The parent group from the rainfed wheat program in Mexico was characterized based on their high (HMW-G) and low (LMW-G) molecular weight glutenin variants. The HMW-G and LMW-G were identified by polyacrylamide gel electrophoresis. Frequencies were calculated for the Glu-A1, Glu-B1, Glu-D1, Glu-A3, Glu-B3 and Glu-D3 *loci* as well as for their HMW-G and LMW-G combinations. Greater polymorphism was observed in the Glu-B1 and Glu-B3 *loci* with 6 and 8 individual variants respectively. HMW-G alleles with higher frequency were 2* in Glu-A1, 17+18 in Glu-B1 and 5+10 in Glu-D1, and for LMW-G were the c variants in Glu-A3, h in Glu-B3 and b in Glu-D3. In the Glu-B1 and Glu-D1 *loci* two new alleles 7*+15 and 2+T2/1.5+T2 were identified. Furthermore the HMW-G combination with higher proportion were 2*, 17+18, 5+10 and for LMW-G c, h, b. Based on the above, there are alleles and HMW-G and LMW-G combinations in the parent group of rainfed bread wheat in Mexico, favoring progeny generation with suitable quality for the bakery, biscuit and pastry products preparation.

Keywords: characterization, high and low molecular weight glutenins, bread wheat.

* Recibido: enero de 2014
Aceptado: abril de 2014

El 90.4% de la producción del trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) en México es procesada por la industria molinera nacional, por lo que debe de cumplir con variables de calidad físicas y químicas del grano, así como de fuerza y extensibilidad de la masa (CANIMOLT, 2010). Éstas dos últimas variables dependen parcialmente de cantidad y la calidad de las proteínas, gluteninas y gliadinas, presentes en la harina (Souza *et al.*, 2013), las cuales son codificadas por los loci Glu-A1, Glu-A3, Gli-A1 y Gli-A2 (Payne y Lawrence, 1983). Dado que las gluteninas y gliadinas se encuentran bajo control genético, éstas pueden ser manipuladas y recombinadas mediante el fitomejoramiento.

Diferentes estudios a nivel nacional (Martínez-Cruz *et al.*, 2010b) y mundial (Liang *et al.*, 2010) indican el efecto de las GAPM, GBPM y gliadinas sobre la fuerza y extensibilidad de la masa. En un programa de mejoramiento genético una premisa es conocer el germoplasma utilizado en los cruzamientos para generar variabilidad para el carácter deseado. En México, para el desarrollo de una variedad mejorada de trigo harinero deben de conjuntarse alto potencial de rendimiento, tolerancia a la sequía, resistencia a enfermedades (roya amarilla y de la hoja) así como calidad industrial específica (elaboración de pan y galletas). Por lo que el objetivo de esta investigación fue identificar los alelos de GAPM y GBPM de los genotipos que conformaron el grupo de progenitores del programa de trigo harinero de temporal del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP).

Se utilizaron 99 genotipos del grupo de progenitores de trigo del programa de temporal del INIFAP. Los materiales se establecieron durante el ciclo primavera-verano de 2011 en Chapingo, México. La parcela experimental consistió de cuatro surcos de 3 m de longitud con una separación entre ellos de 30 cm. El análisis electroforético se realizó en 40 mg de harina integral, la cual se obtuvo de un molino UDY-ciclón con una malla de 0.5 mm moliendo los granos de una espiga por parcela. El método electroforético utilizado fue el descrito por Peña *et al.* (2004), usando geles de poli(acrilamida) en condiciones de pH básico y dodecil sulfato de sodio como agente desnaturante. Las GAPM se identificaron con la nomenclatura propuesta por Payne y Lawrence (1983) y las GBPM de Glu-A3 y Glu-B3 se designaron de acuerdo con Singh *et al.* (1991) y Jackson *et al.* (1996); mientras que la denominación de Branlard *et al.* (2003) se utilizó para los alelos del locus Glu-D3. Se

Overall 90.4% bread wheat production (*Triticum aestivum* L.) in Mexico is processed by the domestic milling industry, thus physical and chemical variables of grain quality must be met, as well as dough strength and extensibility (CANIMOLT, 2010). These last two variables are partially dependent on quantity and quality of the glutenin and gliadin proteins, present in the flour (Souza *et al.*, 2013), which are encoded by the Glu-A1, Glu-A3, Gli-A1 y Gli-A2 *loci* (Payne and Lawrence, 1983). Since glutenins and gliadins are under genetic control, they can be manipulated and recombined through plant breeding.

Several national (Martínez-Cruz *et al.*, 2010b) and international (Liang *et al.*, 2010) studies indicate the effect of HMW-G, LMW-G and gliadins on dough strength and extensibility. A prerequisite in breeding programs is knowledge about the germplasm used in crosses to generate variability for the desired trait. In Mexico, developing an improved bread wheat variety require the combination of high yield potential, drought tolerance, disease resistance (yellow and leaf rust) and specific industrial quality (bread and biscuits preparation). Therefore this research aimed to identify the HMW-G and LMW-G alleles in the parent group genotypes from the rainfed bread wheat program of the National Institute for Forestry, Agriculture and Livestock (INIFAP).

Overall 99 genotypes from the parent group in the INIFAP rainfed wheat program were used. The materials were established during the spring-summer season 2011 in Chapingo, Mexico. The experimental plot consisted of four rows, 3 m long with a 30 cm spacing among them. Electrophoretic analysis was performed on 40 mg of flour, obtained from an UDY cyclone mill with a 0.5 mm mesh, grinding grains from one spike per plot. The electrophoretic method used was described by Peña *et al.* (2004), using polyacrylamide gels in basic pH conditions and sodium dodecyl sulfate as denaturing agent. The HMW-Gs were identified by the nomenclature proposed by Payne and Lawrence (1983) and the LMW-Gs at Glu-A3 and Glu-B3 were designated according to Singh *et al.* (1991) and Jackson *et al.* (1996), while Glu-D3 alleles were named according to Branlard *et al.* (2003). Allele frequencies were calculated for the Glu-A1, Glu-B1, Glu-D1, Glu-A3, Glu-B3 and Glu-D3 *loci* as well as for the HMW-G and LMW-G combinations.

calcularon las frecuencias alélicas para los loci Glu-A1, Glu-B1, Glu-D1, Glu-A3, Glu-B3 y Glu-D3 así como para las combinaciones de GAPM y GBPM.

El mayor polimorfismo de GAPM se observó en el locus Glu-B1; mientras que los loci Glu-A1 y Glu-D1 presentaron menor e igual número de variantes alélicas. Siendo los alelos de mayor frecuencia 2* en Glu-A1, 17+18 en Glu-B1 y 5+10 en Glu-D1, quienes representaron 71.1, 52.5 y 82.8%, respectivamente, (Cuadro 1). Dichas frecuencias son comparables con las reportadas por Liang *et al.* (2010) quienes evaluaron 273 genotipos del programa de riego del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). Las variantes de menor frecuencia fueron 0 en Glu-A1, 13+16, 7*+15 y 7+8 en Glu-B1 y 2+T2/1.5+T2 en Glu-D1. Es importante indicar que las variantes, 7*+15 y 2+T2/1.5+T2, no se habían identificado anteriormente en el grupo de progenitores, con base en lo reportado por Espitia *et al.* (2008) y Martínez-Cruz *et al.* (2010a) quienes los analizaron en los ciclos primavera-verano, 2001 y primavera-verano, 2008, respectivamente.

The highest HMW-G polymorphism was observed in the Glu-B1 locus, while Glu-A1 and Glu-D1 loci had lower and equal number of allelic variants. The most frequent allele were: 2* in Glu-A1, 17+18 in Glu-B1 and 5+10 in Glu-D1, with 71.1, 52.5 and 82.8% respectively (Table 1). These frequencies are comparable to those reported by Liang *et al.* (2010) who evaluated 273 genotypes from the irrigation program of the International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT). Less frequent variants were 0 in Glu-A1, 13+16, 7*+15 and 7+8 in Glu-B1 and 2+T2/1.5+T2 in Glu-D1. Importantly, the 7*+15 and 2+T2/1.5+T2 variants, had not been previously identified in the parent group, according to reports from Espitia *et al.* (2008) and Martínez-Cruz *et al.* (2010a) who analyzed them in the spring-summer 2001 and spring-summer 2008 cycles respectively.

For 2+T2/1.5+T2 a genotypic mixture of two alleles was found (separated by the slash), which comes from *Triticum tauschii* L. one of the wheat ancestors (Pilch, 2007). The Figure 1 shows the variants encoding LMW-G. Greater

Cuadro 1. Frecuencia de los alelos de GAPM del grupo de progenitores del programa nacional de trigo harinero de temporal del INIFAP. Chapingo primavera-verano, 2011.

Table 1. HMW-G allele frequency in the parent group from the INIFAP national rainfed bread wheat program. Chapingo spring-summer 2011.

Glu-A1	F (%)	Núm. líneas	Glu-B1	F (%)	Núm. líneas	Gu-D1	F (%)	Núm. líneas
2*	71.7	71	17+18	52.5	52	5+10	82.8	82
1	26.3	26	7+9	26.3	26	2+12	16.2	16
0	2.0	2	7	9.1	9	2+T2/1.5+T2	1.0	1
			13+16	4.0	4			
			7*+15	4.0	4			
			7+8	4.0	4			

En el caso de 2+T2/1.5+T2 indica la mezcla genotípica de dos alelos (separadas por la diagonal), la cual proviene de *Triticum tauschii* L. uno de los ancestros del trigo (Pilch, 2007). En la Figura 1 se muestran las variantes que codifican para GBPM. Se observó mayor polimorfismo en el locus Glu-B3 donde se identificaron siete variantes alélicas y cuatro mezclas de alelos. Para el caso de los loci Glu-A3 y Glu-B3 se identificaron cinco para cada uno de ellos. De esta manera, los alelos c en Glu-A3, h en Glu-B3 y b en Glu-D3, se presentaron en el 57.6, 38.4 y 59.6% del total de los genotipos analizados, respectivamente. Los alelos individuales de menor frecuencia fueron, f en Glu-A3, j en

polymorphism was observed at locus Glu-B3 where seven allelic variants and four allele mixtures were identified. Five *loci* were identified at each of the Glu-A3 and Glu-B3 *loci*. Thus, the c alleles in Glu-A3, h in Glu-B3 y b in Glu-D3, appeared in 57.6, 38.4 and 59.6% of the genotypes analyzed, respectively. Individual alleles of lowest frequency were f in Glu-A3, j in Glu-B3 as well as d in Glu-D3. The h allele in Glu-B3 was found at similar frequencies to genotypes evaluated by Liang *et al.* (2010), while the j variant associated with adverse effects on dough strength and extensibility (Martínez-Cruz *et al.*, 2012) appeared at low frequency.

Glu-B3 así como a? y d en Glu-D3. El alelo h de Glu-B3 se encontró en frecuencias similares con los genotipos evaluados por Liang *et al.* (2010); mientras que la variante j asociada con efectos desfavorables sobre la fuerza y extensibilidad de la masa (Martínez-Cruz *et al.*, 2012) se presentó en baja frecuencia.

La combinación 2*, 17+18, 5+10 de GAPM fue la de mayor frecuencia (30.3%), seguida por 2*, 7+9, 5+10 y 1, 17+18, 5+10 con porcentajes de 15.2 y 14.1, respectivamente; mientras que hubo nueve combinaciones que se presentaron en 1% (Cuadro 2). Para el caso de las GBPM la combinación de mayor frecuencia fue c, h, b presentándose en 15 genotipos, seguida por c, h, b y c, b, b asociada a 6 materiales. Por otro lado se presentaron 23 combinaciones con porcentajes iguales a 1, Figura 2. De tal modo que las combinaciones 2*, 17+18, 5+10 y c, h, b de mayor proporción presentaron alelos apropiadas para derivar líneas para productos panificables de acuerdo con lo reportado por Martínez-Cruz *et al.* (2010b). Pero también existen combinaciones 2*, 17+18, 2+12 y c, g, b que pueden recombinarse para generar genotipos aptos para la elaboración de galletas.

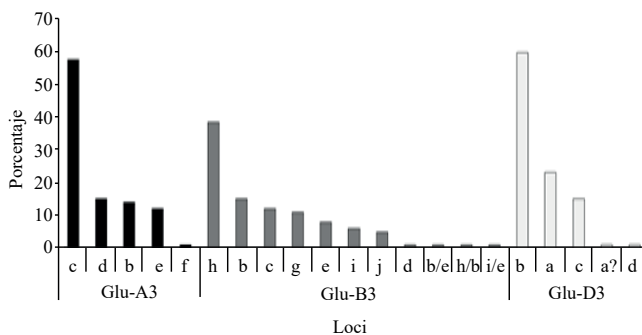


Figura 1. Frecuencia de los alelos de GBPM del grupo de progenitores del programa nacional de trigo harinero de temporal del INIFAP. Chapingo primavera-verano, 2011.

Figure 1. LMW-G allele frequency in the parent group from the INIFAP national rainfed bread wheat program. Chapingo spring-summer 2011.

The HMW-G 2*, 17+18, 5+10 combination was the most frequent (30.3%), followed by 2*, 7+9, 5+10 and 1, 17+18, 5+10 with 15.2% and 14.1%, respectively, while there were nine combinations that occurred in 1% (Table 2). For the LMW-G, the c, h, b combination showed the highest frequency,

Cuadro 2. Frecuencia de las combinaciones de GAPM del grupo de progenitores del programa nacional de trigo harinero de temporal del INIFAP. Chapingo primavera-verano, 2011.

Table 2. HMW-G combinations frequency in the parent group from the INIFAP national rainfed bread wheat program. Chapingo spring-summer 2011.

Glu-A1	Glu-B1	Glu-D1	Frecuencia	Núm. líneas
2*	17+18	5+10	30.3	30
2*	7+9	5+10	15.2	15
1	17+18	5+10	14.1	14
2*	7	5+10	9.1	9
2*	17+18	2+12	6.1	6
1	7+9	5+10	6.1	6
2*	7+9	2+12	4.0	4
2*	7+8	2+12	2.0	2
2*	13+16	5+10	2.0	2
2*	7*+15	5+10	2.0	2
1	13+16	2+12	1.0	1
0	17+18	2+12	1.0	1
1	7*+15	2+12	1.0	1
1	7+9	2+12	1.0	1
0	17+18	2+T2/1.5+T2	1.0	1
1	13+16	5+10	1.0	1
1	7*+15	5+10	1.0	1
1	7+8	5+10	1.0	1
2*	7+8	5+10	1.0	1

