

# RELAÇÃO ENTRE MARCADORES PROTÉICOS E A QUALIDADE TECNOLÓGICA DE TRIGOS CULTIVADOS NO BRASIL.

**Taiana França, Ana Christina Sagebin Albuquerque\***

*Núcleo de Biotecnologia Aplicada a Cereais de Inverno. NBAC. Embrapa Trigo.*

*\* Pesquisadora Embrapa Trigo Email: taifranca@gmail.com*

## RESUMO

Visando a melhoria da qualidade do trigo nacional, análises eletroforéticas das proteínas de reserva do grão são realizadas junto ao Núcleo de Biotecnologia Aplicada a Cereais de Inverno da Embrapa Trigo (NBAC), disponibilizando informações sobre as cultivares recomendadas nas distintas regiões tritícolas brasileiras Centro, Centro-sul e Sul. A extração das gluteninas de alto peso molecular (Glu-APM) é realizada com o agente redutor 2-mercaptoetanol e o detergente aniônico sulfato dodecil de sódio, e a separação se dá por eletroforese em gel de poliacrilamida. A análise de 100 genótipos recomendados para cultivo no Brasil, no período de 2000 a 2004, demonstrou que 55% das cultivares apresentam subunidades indicativas de glúten forte (maior aptidão panificativa), quais sejam, 1 ou 2\* e 5+10. A combinação 1 ou N e 2+12, sugerindo glúten fraco, foi observada em 45% das cultivares. Entretanto 69% do germoplasma indicado para cultivo no Brasil, nos últimos 5 anos, apresentam classificação tipo pão ou melhorador. A relação de 0,8 verificada entre a presença de subunidades de Glu-APM indicativas de glúten forte e a classificação comercial tipo pão ou melhorador das cultivares de trigo recomendados para cultivo neste período sugere a interferência de outros fatores, além do tipo de gluteninas de alto peso molecular, na definição da aptidão panificativa do trigo.

Palavras-chave: gluteninas de alto peso molecular, eletroforese.

## 1 INTRODUÇÃO

Pela sua importância econômica e social, o trigo é um cereal cuja a auto-suficiência é buscada por muitos países, dentre eles o Brasil. Nos últimos anos ocorreu uma mudança na qualidade do trigo nacional. Atualmente as cultivares apresentam-se adaptadas às mais diversas condições climáticas, com qualidade adequada ao consumidor mais exigente. O Rio Grande do Sul, por exemplo, detém um trigo excelente para fabricação de bolachas, enquanto o trigo produzido no norte do Paraná é ideal para fabricação de massas finas (Cunha, G.R. 2000).

Para fins de padronização muitos países adotam diferentes classificações para o trigo. A consistência de qualidade entre lotes oriundos de regiões ou safras diferentes é muito importante para o usuário do produto, por isso os exportadores de trigo, embora com algumas diferenças, possuem sistemas próprios de classificação, visando manter a identidade de seus produtos. A classificação brasileira do trigo, validada pela INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 1, de 27 de janeiro de 1999, denominada NORMA DE IDENTIDADE E QUALIDADE DO TRIGO, enquadra o trigo nacional em cinco classes: trigo brando, trigo pão, trigo melhorador, trigo para outros usos e trigo durum. As quatro primeiras classes abrangem grãos provenientes da espécie *Triticum aestivum* L. e a última, os grãos da espécie *Triticum durum* comum.

A qualidade de panificação é um dos alvos mais importantes em programas de melhoramento de trigo e a habilidade da farinha de trigo de formar uma massa viscoelástica, requerida para a produção de pão, depende amplamente das propriedades físico-químicas peculiares de suas proteínas. Os genótipos que não apresentam boa aptidão panificativa, poderão apresentar ótimas características para outros fins industriais, como confecção de bolos e de biscoitos doces, que exigem trigos de glúten fraco.

Neste sentido, o Núcleo de Biotecnologia Aplicada a Cerais de Inverno (NBAC), da Embrapa Trigo, desenvolve trabalhos considerando as proteínas de reserva do trigo um fator decisivo na qualidade do produto final, em razão da sua habilidade em formar massa visco – elástica e definindo, então, sua estrutura e características. A fração protéica presente na farinha apresenta duas frações: solúvel e insolúvel. A principal proteína de reserva do trigo é o glúten, constituído por gliadinas (responsáveis pelas características de viscosidade) e gluteninas (alto e baixo peso molecular). As primeiras são prolaminas de baixo peso, pobres em cisteína, enquanto as Gluteninas, responsáveis pela elasticidade da massa, são estabilizadas por ligações dissulfeto que se formam a partir da ligação dos resíduos da cisteína, presentes ao longo de sua cadeia polimérica (Caldeira, 2000).

Com a utilização de marcadores protéicos e a técnica SDS-PAGE, baseada na eletroforese em gel de poliacrilamida e o uso de dodecil sulfato de sódio (SDS), é possível que variantes alélicas dos locos Glu-1, codificadores de gluteninas de alto peso molecular (Glu-APM) sejam facilmente detectadas. Isso permite que, em um programa de melhoramento, seja usada tal ferramenta para seleção dos alelos Glu-APM mais favoráveis, contribuindo, desta forma, para qualidade tecnológica do trigo.

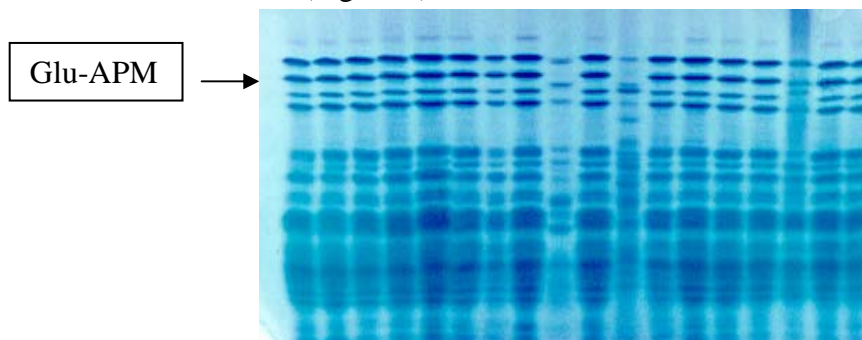
A análise de Glu-APM desenvolvida no NBAC - Embrapa Trigo para relacionar a qualidade panificativa do trigo nacional com a sua respectiva classificação, torna disponível informações sobre a qualidade das cultivares recomendadas nas distintas regiões tritícolas do Brasil, Centro, Centro-sul e Sul, ao mesmo tempo que auxilia o programa de melhoramento genético realizado nesta instituição de pesquisa, promovendo, ora a utilização de novas tecnologias, ora o resgate de métodos que podem contribuir com estudos molecular.

## 2 DESENVOLVIMENTO

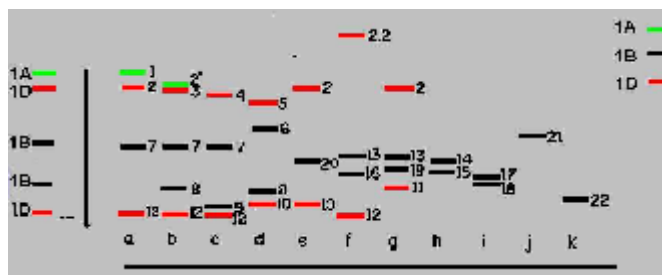
### 2.1 Material e Métodos

Foi realizada a retirada do embrião e maceração do endosperma dos grãos de trigo analisados. Após obtida uma farinha do endosperma macerado, as amostras foram alíquotadas em tubos *Eppendorf* - 1,5mL, com um peso entre 9 e 136 mg. As amostras foram submetidas ao processo de digestão com o agente redutor 2-mercaptoetanol e o detergente aniônico sulfato dodecil de sódio, pelo período de 1 hora em temperatura ambiente e mais 10 minutos em banho-maria a 65°C.

Passado o período de digestão das Glu-APM, as amostras foram submetidas ao processo de eletroforese vertical em gel de poliacrilamida, em sistema descontínuo. O sistema descontínuo é caracterizado pela presença de um gel principal e de gel empilhador, que diferem em relação ao pH e a concentração de poliacrilamida. Em seguida, foi realizada a migração das moléculas, a uma voltagem de 25 V, para cada gel e os mesmos coloridos por 24 – 48 horas e fixados para posterior leitura (Figura 1), esta realizada conforme sistema de bandas padronizado e universal (Figura 2).



**Figura 1** Gel (SDS-PAGE) para visualização de subunidades de Glu-APM de trigo hexaplóide (*Triticum aestivum* L.).

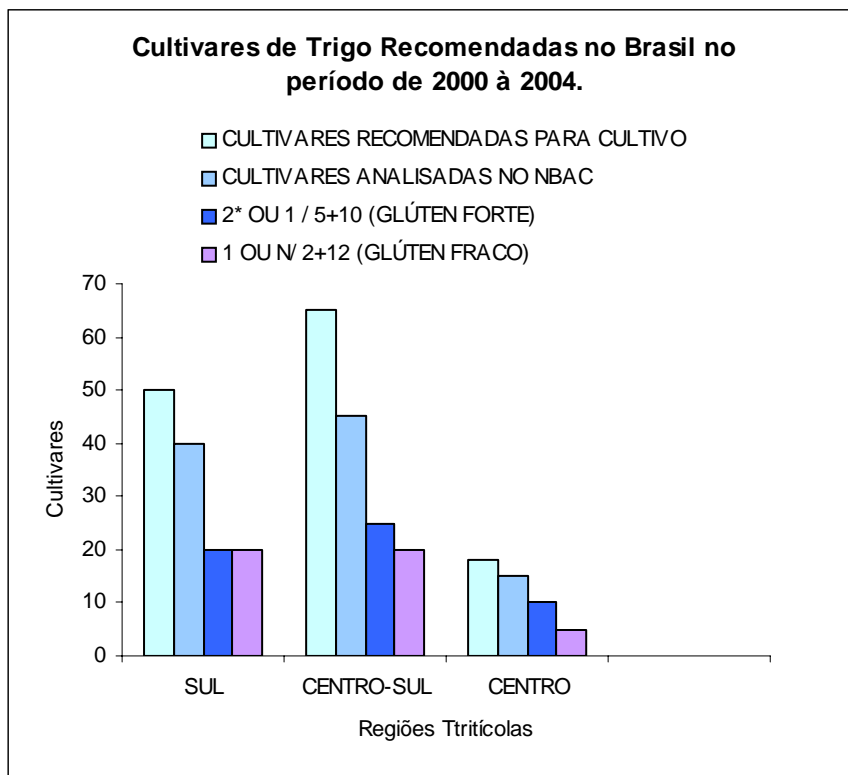


**Figura 2** Subunidades de Glu-APM, localizados no grupo 1 dos cromossomos de trigo, genomas A, B e D.

## 2.2 Resultados e Discussão

No período de 2000 a 2004, 133 cultivares de trigo foram recomendadas para plantio no Brasil. Dentre estas, 100 diferentes genótipos foram analisados em relação à composição de subunidades de Glu-APM, considerando os diferentes padrões de bandas apresentados em gel de poliacrilamida.

Entre o material avaliado, 55% apresenta subunidades indicativas de glúten forte e 45% apresentam bandas que sugerem germoplasma de glúten fraco. Todavia, 61% do germoplasma analisado apresentou classificação comercial Trigo Tipo Pão, mas apenas 37% destes genótipos apresentam subunidades associadas a glúten forte (2\* ou 1/5+10). Por outro lado, 31% das amostras analisadas são classificadas como Trigo Tipo Brando, das quais 61% apresentaram bandas indicativas de glúten fraco (1 ou N, 2+12). O Trigo Tipo Melhorador representa 8% do material analisado, sendo que 75% apresentam subunidades indicativas de glúten forte (Figura 3).



**Figura 3:** Presença de subunidades de Glu-APM indicativas de glúten forte (2\* ou 1/5+10) ou glúten fraco (1 ou N/2+12) em cultivares de trigo recomendadas para cultivo no Brasil entre 2000 e 2004.

Utilizando marcadores protéicos como ferramenta biotecnológica para este estudo e considerando os resultados obtidos até o presente momento, verifica-se que, no trigo brasileiro, a combinação de subunidades de Glu-APM 1 ou 2\* (genoma A) e 5+10 (genoma D) estão estreitamente ligadas à aptidão panificativa do trigo nacional. A análise dos resultados obtidos demonstram que a subunidade 5+10 está presente em 61% das cultivares que apresentam classificação Trigo Tipo Melhorador (TTM) e Trigo Tipo Pão (TTP), tratando-se um fator expressivo e determinante da aptidão panificativa destas cultivares. Entretanto pode ser observado que outros fatores, além destes pesquisados, têm significativa interferência na classificação do trigo nacional, pois 39% destas cultivares classificadas como TTM ou TTP apresentam como subunidades de Glu-APM 2+12, sugerindo glúten fraco.

Portanto, nas cultivares de trigo recomendadas no Brasil nos últimos 5 anos a relação entre a presença de subunidades de Glu-APM indicativas de glúten forte e a classificação comercial tipo pão e melhorador é de 0,8, sugerindo a interferência de outros fatores, a identificação da melhor combinação de subunidades de outras proteínas como as gluteninas de baixo peso molecular (Glu-BPM) complementar o trabalho até agora realizado com Glu-APM, no sentido de obter cultivares de trigo com qualidade tecnológica adequada aos fins propostos. O estudo e definição de um padrão de bandas para as Glu-BPM é um dos desafios a serem superados na área biotecnológica, visando a criação de cultivares de trigo com qualidade tecnológica superior, atendendo as demandas crescentes do mercado interno e externo.

### **3 CONCLUSÃO**

Considerando que as Glu – APM são responsáveis por aproximadamente 80% da aptidão panificativa do trigo, a pesquisa de outros tipos de proteínas de reserva, a exemplo das Glu-BPM, virá complementar a pesquisa em qualidade tecnológica do trigo nacional, representando um grande desafio diante da sua padronização. A aptidão panificativa das cultivares analisadas demonstram que as subunidades 5+10 são um dos fatores determinantes na classificação Trigo Tipo Melhorador e Trigo Tipo Pão, evidenciando, também, interferência de outros fatores. Por outro lado, o trigo nacional apresenta um potencial panificativo que pode ser incrementado significativamente com o desenvolvimento de técnicas biotecnológicas associadas às informações de síntese das proteínas, permitindo a associação entre marcadores protéicos e moleculares.

### **4 REFERÊNCIAS**

**Indicações Técnicas da Comissão Sul-Brasileira de Pesquisa de Trigo – Safra 2000 à 2004.** Passo Fundo, RS.

**Informações Técnicas para cultura do Trigo na Região do Brasil-Central – Safra 2000 à 2004.** Rio Verde, GO.

**Recomendações da Comissão Centro Brasileira de Pesquisa de Trigo – Safra 2000 à 2004.** Uberaba, MG.

CUNHA, G.R. org. **Trigo no Brasil: rumo ao século XXI.** Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2000. 194p.

PAYNE, P.I.; JACKSON, E.A.; HOLT, L.M.; LAW, C.N. **Genetic linkage between endosperm protein genes on each of the short arms of chromosomes 1A and 1B in wheat. Theoretical and Applied Genetics**, v.67, p.235-243, 1984.

BRAMMER, S. P.; IORCZESSKI, E. J. **Atualização em Técnicas Celulares e Moleculares aplicadas ao Melhoramento Genético Vegetal**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2002.

ARRAÚJO, J.M.A. **Química de Alimentos teoria e prática**. Viçosa: Editora da UFV, 1999.

CALDEIRA, M.T.M; LIMA, V.L.A.; SEKI, H.A.; RUMJANEK, F.D. Trigo. **BIOTECNOLOGIA Ciência e Desenvolvimento**, v.16, p.44-48, 2000.