



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

“EFECTO DE LA PRESENCIA DE UN SEGMENTO DE
CROMOSOMA 1R DE CENTENO (*Secale cereale*) EN
LAS CARACTERISTICAS DE CALIDAD DE
PANIFICACION DEL TRIGO (*Triticum aestivum*)”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA DE ALIMENTOS
P R E S E N T A :
ORTEGA CHAVEZ MARISA



MEXICO, D.F.

2000

2000



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

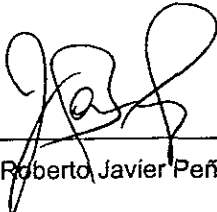
Jurado asignado:

Presidente	Prof. Federico Galdeano Bienzobas
Vocal	Prof. María del Rocío Santillana Hinojosa
Secretario	Dr. Roberto Javier Peña Bautista
1er Suplente	Dr. Alfredo Salazar Zazueta
2do Suplente	Prof. Luz Sandra Sánchez Del Angel

Sitio donde se desarrollo el tema:

Laboratorio de Calidad de Trigo de CIMMYT (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo).

Asesor del tema:



Dr. Roberto Javier Peña Bautista

Sustentante:



Marisa Ortega Chávez

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la oportunidad de vivir, una familia y mucha salud.

A Daddy por ser la persona que cada mañana de mi vida se ha levantado preocupado por mi, y enseñandome todo lo que sabe para que cada día sea un ser humano con mejores virtudes y cualidades.

A Mamy por darme siempre su amor de madre, cariño, y apoyo incondicional en los momentos tristes y alegres de mi vida.

Al gordito mi hermano que siempre está ahí junto a mi, y que tantas veces me ha solapadó.

A Mamamama por enseñarme a amar a Dios por sobre todas las cosas y poner en sus manos cada uno de los instantes de mi vida.

A Karlis por escucharme, entenderme y ayudarme. Gracias por aquella cartita que aún guardo y que me ayudó tanto.

A Tita y Fato por estar siempre al pendiente de mi y cuidarme siempre que era necesario sin importar la distancia y el tiempo necesario.

A mis tíos Roberto y Letty por ayudarme cada vez que tenía algún tipo de problema, y darme sus consejos cada fin de semana.

A Tía Reyna y Mateo por siempre preocuparse por mi, cuidandome, ayudandome y apoyandome cada vez que se los pidiera.

A Chavita y Amparo por ser personas que a pesar de la distancia siempre están dispuestos a ayudarme dandome su opinion, utilizando la verdad.

A Mario por enseñarme que la vida se debe disfrutar día a día, dando lo mejor de si y agregandole una sonrisa a todo sin importar que tan bueno o malo puede ser la situación. Gracias por darme tanto cariño y apoyarme en todo momento.

A Javier Peña por dedicarme mucho de su tiempo, enseñándome a hacer las cosas de la mejor manera y escuchándome cada vez que necesitaba de una persona con quien hablar. Gracias por el apoyo incondicional que me diste durante todo este tiempo en CIMMYT.

A Hectorín por tenerme tanta paciencia en este largo tiempo, por enseñarme a utilizar power point como master, y por brindarme su ayuda y amistad.

A Karla D, Lauris y Begonia por ser mis amigas, estar al pendiente de mi, cuidarme y por supuesto escucharme cada vez que caíamos en el cafesito. Gracias Karla por ser siempre mi compañera de equipo en el laboratorio.

A Angie y Oscarín por ser mis amigos, preocuparse por mi y las tareas y por estar siempre conmigo durante clases haciéndolas tan divertidas como nuestras visitas al búho.

A Carmenchú por tenerme tanta paciencia en los primeros semestres, por dedicarme parte de sus ratos libres para explicarme cada una de las cosas que simplemente no entendía. Gracias.

A Becky por ser en todo momento mi amiga, darme su apoyo siempre y consolarme cada vez que tenía algún problema, aún estando tan lejos.

A mis amigos Mirna, Roberto, Marcela, Erendi, Luz, Beto, América, Adriana Esparza, Maygreen, Guadalupe, Naielli, por ser personas que de alguna manera me dieron parte de su tiempo para ayudarme y contribuir a que mi vida escolar y personal fuera mejor.

A mis amigos de tennis Paco, Mayra, Fer, Lulú, Marisa.S, Shanat, Luís, Rubí, y Marco por ser mis amigos, escucharme siempre, y por contribuir a cada uno de esos regaños semanales que me daban, pero que bien valían la pena.

A la Q. Rocío Santillana, I:Q. Federico Galdeano y al Dr. Alfredo Salazar por darme parte de su tiempo, proporcionandome su experiencia y puntos de vista que ayudaron a realizar mi tesis.

A Lucy y Agustín por brindarme su apoyo y ayuda durante toda la carrera.

A René por ayudarme cada vez que tenía algún problemas de tipo escolar ó personal, sin importar el momento. Gracias rana.

A todos mis amigos del laboratorio de calidad de trigo Gaby, Jessi, Faustito, Don Chui, Don Joaquín, Orlandito, Bruce y Raúl. Gracias por su amistad y por enseñarme tantas cosas y hacerme tan divertida la estancia en el laboratorio.

A todos los maestros que me transmitieron parte de sus conocimientos, los cuales contribuyeron a mi formación y que estoy segura que seran necesarios tanto a nivel personal como laboral.

A la mejor universidad y Facultad de Química por darme la oportunidad de pertenecer a esta escuela, por brindarme lo necesario para crecer y ser mejor ser humano,, enseñandome a luchar y seguir adelante sin importar los tropiezos.

INDICE

CAPITULO I

1 Introducción

1.1	Generalidades del trigo	1-4
1.1.1	Descripción y clasificación botánica	1
1.1.2	Análisis proximal del trigo	3
1.2	Producción y demanda del trigo	4-5
1.2.1	Consumo y producción mundial	5
1.2.2	Cosecha y valor de la producción en México	5
1.3	Composición química del trigo	6-13
1.3.1	Grasas	6-7
1.3.2	Carbohidratos	7-8
1.3.3	Proteínas	8-13
1.3.3.1	Gluteninas	9-10
1.3.3.2	Gliadinas	11-12

1.4	Evaluación de la calidad en trigos harineros (<i>Triticum aestivum</i>)	12-13
1.4.1	Métodos de evaluación de propiedades físicas en harina de trigo	12
1.4.1.1	Determinación del contenido de proteína por Kjeldahl	12
1.4.1.2	Estimación de la fuerza de gluten	13
1.4.1.3	Parámetros de calidad en panificación	14
1.5	Enfermedades fungales del trigo	14
1.6	Translocaciones de tipo 1BL/1RS	15-16
1.7	Trigos con translocación y la actual comercialización del trigo en México	17

CAPITULO II

2	Objetivos	18
----------	------------------	-----------

CAPITULO III

3	Materiales y Métodos	19
----------	-----------------------------	-----------

3.1	Características bioquímicas de las proteínas	21
-----	--	----

3.1.1	Fraccionamiento electroforético en gel de Poliacrilamida	22-26
-------	--	-------

3.2	Análisis fisicoquímicos de la harina	26
3.2.1	Contenido de proteína (análisis de reflectancia en equipo NIR)	26
3.2.2	Sedimentación con SDS (fuerza de gluten)	27
3.2.3	Índice de calidad de gluten	27
3.3	Evaluaciones reológicas de la masa de harina	28
3.3.1	Características Mixográficas	28-29
3.3.2	Características Alveográficas	30-31
3.4	<i>Evaluación de características de panificación</i>	32
3.4.1	Prueba de panificación	32
3.4.2	Evaluación sensorial de la textura de miga	33
3.4.3	Determinación de volumen de pan	34
3.5	Análisis estadístico	34

CAPITULO IV

4 Resultados y Discusión	35
4.1 Características bioquímicas de las proteínas	35
4.1.1 Composición de las gluteninas de alto y bajo peso molecular	35
4.2 <i>Características de calidad de trigos Translocados y No Translocados</i>	39-42
4.3 Características de calidad de trigos Translocados y No Translocados que poseen misma composición de gluteninas de alto peso molecular 1, 7+9, 5+10	43-44
4.4 Características de calidad de trigos No Translocados que contrastan en su composición de gluteninas de alto peso molecular (5+10 vs 2+12) ambos grupos poseen 1, 17+18	45-46
4.5 Características de calidad de trigos No Translocados que contrastan en su composición de gluteninas de alto peso molecular (2* vs 1). Ambos grupos poseen 17+18, 2+12	47-49
4.6 Características de calidad de trigos Translocados que contrastan en su composición de gluteninas de alto peso molecular (5+10, 2+12). Grupos homogéneos (2*, 7+9 y 1, 7+9)	49-52

4.7 Características de calidad de trigos Translocados que contrastan en su composición de gluteninas de alto peso molecular (2*, 1). Grupos homóneos 7+9, 5+10 y 7+9, 2+12	52-54
--	-------

CAPITULO V

5 Conclusiones	55
5A Bibliografía	57-61
5B ANEXOS	62-63

CAPITULO I

1 Introducción

1.1 Generalidades del trigo

El trigo es una de las plantas que actualmente se cultiva con mayor amplitud en todo el mundo (Camacho, 1997), siendo un alimento básico en más de 40 países, proporciona 1/5 parte de las calorías consumidas por el ser humano y es un vehículo importante de varios nutrientes, tales como proteínas, vitaminas y aminoácidos esenciales, al consumirse junto con otros alimentos de origen animal y vegetal (Pomeranz, 1971).

1.1.1. Descripción y clasificación botánica

Se conocen tres especies botánicas utilizadas comercialmente en el medio de los alimentos: *Triticum aestivum*, *Triticum durum* y *Triticum compactum* (Kettlewell and Henry, 1996). De estas tres especies los dos primeros son los más utilizados comercialmente.

Con respecto a su número de cromosomas (constitución genética) los trigos pueden presentar hexaploidía ó tetraploidía (Pomeranz, 1971; Kettlewell and Henry, 1996), lo cual resulta en diferencias en las propiedades físicas, químicas y reológicas entre estos dos tipos de trigo (Cuadro 1). Estas diferencias son responsables de que los trigos hexaploides (harineros o panaderos) y los trigos tetraploides (cristalinos o macarroneros), tengan usos distintos en la industria alimentaria (Cuadro 1 y 2). Una clasificación reciente basada en propiedades como textura y fuerza de gluten se presenta en el cuadro dos.

Los trigos también son clasificados de acuerdo a su hábitat de crecimiento en trigos invernales y primaverales (Camacho, 1997).

Cuadro 1. Clasificación genética y genotípica de dos especies de trigo (*Triticum aestivum* y *Triticum durum*) utilizados en la industria alimentaria.

Especies de trigo	Clasificación Cromosómica	Color de grano	Textura de grano	Uso
<i>Triticum aestivum</i>	Hexaploide (42 cromosomas)	blanco ó rojo	grano duro a semiduro suave	panificación galletas
<i>Triticum durum</i>	Tetraploide (28 cromosomas)	ámbar	grano duro (cristalino)	pastas alimentarias

El trigo harinero o panadero (*Triticum aestivum*) es el de nuestro interés en el presente trabajo. Está constituido por 21 pares de cromosomas ($2n = 42$) acomodados en tres grupos genómicos (A, B, D) con 7 subunidades cada uno (ej: el genomio A posee los cromosomas 1A, 2A, 3A,...7A). Cada cromosoma está constituido por dos brazos, uno mas largo que otro (Hoseney and Peña, 1997; Pomeranz, 1987).

Cuadro 2. Clasificación del trigo a partir de sus propiedades físicas (textura), reológicas (fuerza de gluten) y de su uso

Grupo de Calidad	Propiedades del gluten	Proceso de mecanización	Propiedades de la masa	Producto
1	gluten fuerte y extensible	panificación mecanizada	debe tolerar el trabajo intenso	pan de molde
2	gluten medio fuerte y extensible	proceso manual y semimecanizado	fermentables y no fermentables	pan blanco hojaldra
3	gluten débil endospermo suave	manual poca tolerancia al sobre mezclado	contenido de proteína menor que en gpos 1 y 2	galletas y repostería
4	gluten tenaz (poco extensible)	poca tolerancia al sobre mezclado	deficiencia en expansión	indeseable en elaborar pan
5	medio a fuerte y tenaz (Trigo cristalino)	resistente al mezclado	densas	pastas alimentaria

1.1.2. Análisis Proximal del Trigo

Se basa en determinar la composición química de una muestra a partir de métodos químicos, como Kjeldahl, determinación de grasa por Soxhlet, etc.

El trigo se caracteriza por tener un bajo porcentaje de proteína, alto contenido de carbohidratos: almidón (> a 70%) dextrinas, pentosanas, rico en ácidos grasos (ácidos linoleico), ácido pantoténico, rivotlavina (Orth and Shellenberger 1988) y bajas concentraciones de calcio y lignina (Cuadro 3).

Cuadro 3. Análisis proximal del grano de trigo *

NFE **	71.7 %	Ac Pantoténico	1 mg/100g
Proteína	12.3 %	Rivotlavina	0.12 mg/100g
Humedad	10.0 %	Niacina	7.4 mg/100g
Cenizas	1.4 %	Tiamina	0.57 mg/100g
Fibra	2.5 %		
Grasa	1.9 %		

Fuente: Simmonds, 1978, Lockhart and Nesheim, 1978.

* Valores expresados en porcentaje de peso humeo

**NFE: Siglas en inglés para extracto libre de nitrógeno. Medida aproximada de contenido de almidón.

1.2. Producción y demanda del trigo

En las últimas décadas el consumo de trigo se ha incrementado en un 3.1 % a escala mundial, solo se ha incrementado en una tasa de 3.3% (CIMMYT, 1987, 1988), lo cual implica que hay autosuficiencia de trigo en el mundo en desarrollo.

1.2.1. Consumo y producción anual en el mundo

Con respecto al ciclo 1998-99, China fue el país con mayor producción de trigo (108 millones de toneladas) seguido por India (71 millones de toneladas), y en tercer lugar E.U.A con 61.5 millones de toneladas (Figura 1).

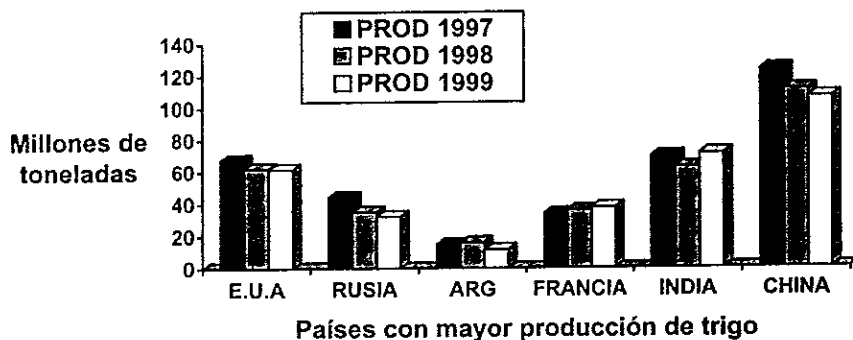


Figura 1. Países con mayor producción en los últimos tres años.

Fuente: FAO 1999

1.2.2 Cosecha y valor de la producción en México

En México el trigo se cultiva principalmente en los estados de Sonora, Sinaloa, Baja California, Guanajuato y Michoacán (Camacho, 1997). El consumo per capita anual de trigo en México ha mostrado un comportamiento inestable, muy relacionado a los volúmenes de producción (Figura 2) y al crecimiento en la población.

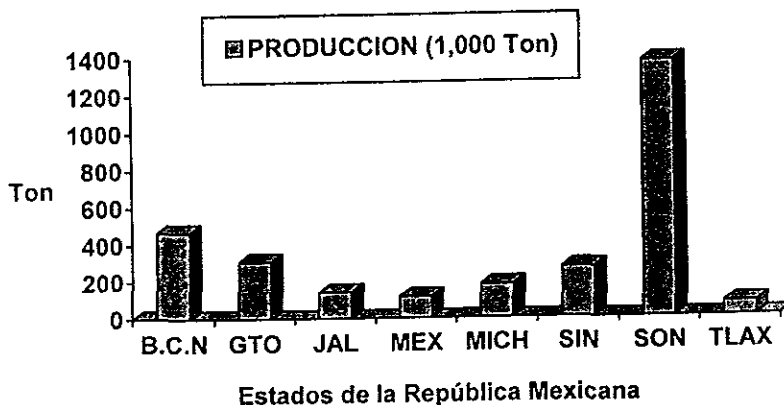


Figura 2. Estados de la República Mexicana con mayor producción en el año de 1999.

Fuente: Secretaria de Agricultura

1.3. Composición Química del trigo

1.3.1. Grasas

La mayor proporción de los lípidos presentes en el grano de trigo se concentran en el embrión (80%). La distribución de lípidos en la harina se muestra en la Figura 3. Aún cuando el contenido de lípidos en la harina es muy bajo (menor a 2.5%), estos, son importantes ya que por acción de la enzima lipoxidasa oxidan los grupos sulfhidrilos de las proteínas pudiendo modificar las propiedades reológicas de las harinas (Pomeranz, 1971; Hosenev, 1986).

Los diferentes tipos de lípidos presentes en la harina se indican en el siguiente diagrama:

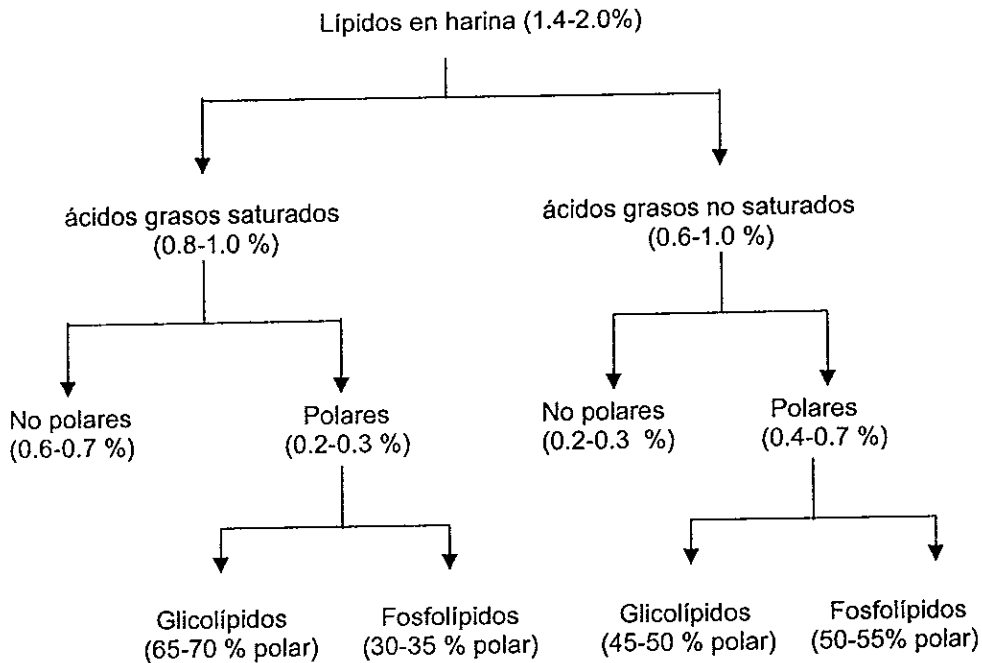


Figura 3. Clasificación de lípidos en harinas de trigo.

*Clasificación de acuerdo a Pomeranz and Chung (1978).

1.3.2. Carbohidratos

El carbohidrato el componente más abundante en el trigo, está constituido por diversos tipos de polisacáridos de los cuales predomina el almidón, seguido por pequeñas cantidades de pentosanas (xilosas y arabinosa), celulosa, hemicelulosa, y lignina. También se encuentran pequeñas cantidades de oligosacáridos y disacáridos (Hoseney, 1986; Pomeranz, 1971). La composición de los principales carbohidratos del grano de trigo se presentan en el cuadro numero 4.

Las pentosanas son de interés debido a que se caracterizan por ser altamente higroscópicas lo cual, tiene efectos sobre la absorción y retención de humedad de la masa, y por tanto sobre la textura del pan.

Cuadro 4. Composición (%) de carbohidratos en el grano del trigo*

Disacáridos	Oligosacáridos		Polisacáridos			(1-3,1-4) β-D-glucan
			Almidón	Celulosa	Pentosanas	
Sucrosa	Maltosa	Rafinosa	Almidón	Celulosa	Pentosanas	1
0.06	0.12	0.2 - 0.68	63.2	2.71	7.62	

*Valores dados en por ciento en peso húmedo

1.3.3. Proteínas

Aún cuando el contenido de proteína en la harina es menor a 15%, esta juega un papel determinante en la definición de las características reológicas asociadas con la calidad de panificación. Esto se debe principalmente a que la mayoría (85-90%) de la proteína del endospermo (y consecuentemente de la harina), es insoluble y presenta, en contacto con el agua, propiedades visco-elásticas las cuales son adquiridas por las masas de panificación y pastificación (Peña et al, 1998).

Las proteínas del grano del trigo son divididas según su grado de solubilidad en: globulinas (solubles en soluciones salinas), albúminas (solubles en agua), gluteninas (solubles en álcali y ácido) y gliadinas (solubles en alcohol) (Hoseney, 1986; Zarco, 1999).

Las proteínas del grano con mayor influencia en la calidad de panificación del trigo son las gluteninas y gliadinas ya que al entrar en contacto con el agua forman el gluten que confiere visco-elasticidad a la masa, lo cual favorece la aireación (durante la fermentación) y la expansión de la misma durante la elaboración de pan.

La composición de las gluteninas y gliadinas, la cual se encuentra bajo control genético y por lo tanto es una característica varietal, es responsable de las diferencias en características visco-elásticas (reológicas) que existen entre harinas de distintas variedades de trigo (Shewry, 1986). Tanto el contenido de proteína como la composición del gluten están directamente correlacionados con características importantes de las masas de panificación tales como tiempo de mezclado y tolerancia al mezclado, fuerza, extensibilidad y características de manejo. En su conjunto estas propiedades reológicas determinan la aptitud panadera así como el volumen de pan y la estructura de la miga (Graybosch et al, 1990). Es por todo esto que la calidad de las proteínas tiene tanto peso en el estudio de la calidad industrial del trigo.

1.3.3.1 Gluteninas

Estas proteínas se clasifican en gluteninas de alto peso molecular (APM) 90,000-150,000 Da (Shewry 1986) y gluteninas de bajo peso molecular (BPM) 44,000-51,000 Da (Shewry and Tatham, 1990). Las gluteninas de APM son codificadas por genes localizados en la región cercana al centrómero, en el brazo largo de los cromosomas 1A, 1B, y 1D, en tanto que las de BPM en la parte distal del brazo corto de los mismos cromosomas (Cuadro 5). El grupo complejo de genes que controlan las gluteninas de APM es denominado Loci *Glu-1* y el que controla las gluteninas de BPM *Glu-3* (Bietz et al, 1975; Payne et al, 1980). Cada locus que controla subunidades de APM y de BPM (*Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* y *Glu-A3*, *Glu-B3*, *Glu-D3*, respectivamente) puede presentar 2 o más variantes alélicas las cuales resultan en subunidades de gluteninas de APM y BPM con distintas características de movilidad electroforética influenciada por tamaño (peso molecular) del péptido y la composición del mismo (Gupta et al, 1990). Estos polímeros presentan grupos sulfhidrilo que les permiten

interconectarse para formar polímeros de gran tamaño (2-3 millones de Da). Estos macro polímeros conforman la estructura principal del gluten (Lafiandra et al, 1999).

Las subunidades de glutenina de APM y BPM pueden ser determinadas directamente a partir de una separación electroforética (en gel de poliacrilamida con dodecil-sulfato sódico, SDS-PAGE por sus siglas en inglés) y pueden ser clasificadas de acuerdo a una nomenclatura que utiliza números o letras para denominar variaciones alélicas (Gupta et al, 1990; Payne Lawrence, 1983; Jovornik et al, 1991).

Cuadro 5. Proteínas que conforman el gluten del trigo.

Proteínas	Locus	Cromosoma
Gluteninas:		
Alto Peso Molecular	<i>Glu-A1, Glu-B1, Glu-D1</i>	1AL, 1BL, 1DL
Bajo Peso Molecular	<i>Glu-A3, Glu-B3, Glu-D3</i>	1AC, 1BC, 1DC
Gliadinas:		
γ - y ω - gliadinas	<i>Gli-A1, Gli-B1, Gli-D1</i>	1AC, 1BC, 1DC
α - y β - gliadinas	<i>Gli-A2, Gli-B2, Gli-D2</i>	6AC, 6BC, 6DC

Fuente: (Peña, 1996)

La composición de gluteninas de APM y de BPM es de gran importancia en la definición de la calidad de una variedad de trigo ya que entre las variaciones alélicas (subunidades) de un locus algunas subunidades contribuyen positivamente mientras otras lo hacen negativamente. Por ejemplo, entre las variaciones del locus *Glu-B1*, las subunidades 20, 7, 13+19 tienen efecto negativo mientras que 7+8, 7+9, 17+18 contribuyen positivamente a la obtención de gluten fuerte y extensible (Gupta et al, 1990; Peña et al, 1990). El efecto en calidad de las subunidades de glutenina de APM que más frecuentemente se presentan en trigo harinero se presenta en el Cuadro 6.

Aun cuando ya se conocen los efectos que en calidad ejercen algunas subunidades de glutenina de BPM, la definición de efectos cualitativos de las variaciones controladas por el loci *Glu-3* todavía no está bien definido (Gupta et al, 1990).

Cuadro 6. Efecto de algunas gluteninas de APM sobre las características de calidad panadera (fuerza de gluten) del trigo harinero (*T. aestivum*)

Locus	subunidades de glutenina APM (variaciones alélicas)		
	Efecto positivo	Efecto medio	Efecto negativo
<i>Glu-A1</i>	1 ó 2*	-	0 (alélo nulo)
<i>Glu-B1</i>	7+8, 17+18	7+9	7, 20, 13+19
<i>Glu-D1</i>	5+10	2+12	3+12, 4+12

1.3.3.2. Gliadinas

Las gliadinas son péptidos de estructura globular (forman puentes disulfuro intra-peptídicos) por lo cual se mantienen en forma monomérica que se clasifican a partir de su movilidad en: alfa, beta, gamma y omega. Los tipo α - y β - tienen pesos moleculares entre 20000 y 40000 da (Mechan, 1980), los γ - tiene pesos moleculares entre 30000 y 40000 da (Bietz, 1977) y los ω - presentan pesos moleculares 50000 y 700000 da (Payne, 1983). En general las gliadinas interaccionan entre sí y con las gluteninas a través de hidrofobicidad y de interacciones iónicas, para contribuir principalmente con

la extensibilidad y cohesividad del gluten. El contenido de gliadinas está relacionado con volumen de pan, tiempo de mezclado y absorción de agua.

1.4. Evaluación de la calidad en trigos harineros

La definición de calidad de trigo puede variar dependiendo de quien lo defina (agricultor, molinero, panadero etc.). En general se puede decir que los criterios de calidad aplicados a los trigos panaderos se deben caracterizar por poseer una buena textura, ser resistentes a la desintegración, y tener estructura firme ó consistencia al dente (Zarco, 1999).

La evaluación de la calidad puede ser una cuestión compleja ya que las características determinadas en un programa de mejora van encaminadas a detectar las diferencias genotípicas, mientras que desde el punto de vista comercial irán enfocadas hacia su aptitud industrial (Damidaux, 1980 en Zarco, 1999).

En general los criterios para evaluar la calidad industrial panadera en trigo se pueden clasificar en: determinación de propiedades físicas, características de fuerza de gluten, y aptitud panadera (Hoseney, 1986; Pomeranz, 1997; Peña et al, 1990).

1 4.1. Métodos de evaluación de propiedades físicas en harina de trigo

1.4.1.1 Determinación del contenido de proteína por Kjeldahl y NIR

El contenido de proteína puede ser determinado por el método de Kjeldahl el cual mide el contenido de nitrógeno proteínico del material de prueba. Para obtener el contenido de proteína a partir de la determinación de nitrógeno, se utiliza el factor 5.7 ($5.7 \times N = \text{contenido de proteína}$) (Iturbe et al, 1998).

En la actualidad se utiliza la tecnología que permite medir la reflectancia del material de prueba (harina o grano entero), en el rango conocido como infrarrojo cercano (NIR, siglas en inglés para Near Infrared Reflectance). Cuando se logra una buena calibración, utilizando como valores de calibración aquellos obtenidos por el método de Kjeldahl, la tecnología NIR permite la evaluación rápida y confiable de proteína en grano y en harina. Es importante determinar el porcentaje de proteína ya que el efecto de estas actúa sobre las propiedades de la masa (Harris, 1986)

1.4.1.2 Estimación de la fuerza del gluten

Los métodos para determinar la fuerza del gluten se clasifican en indirectos (índice de gluten, sedimentación SDS), métodos reológicos los cuales miden la fuerza de gluten a partir de las propiedades de mezclado de las masas (utilizando mixógrafo y farinógrafo) y aquellos que miden la fuerza gluten basándose en las propiedades viscoelásticas (donde se emplea el alveógrafo, viscoelastógrafo y texturómetro).

El utilizar uno u otro método va a depender de las características que presente nuestra muestra y de la rapidez con que se quiera llevar a cabo la determinación.

1.4.1.3 Parámetros de calidad en panificación

Las pruebas más definitivas para determinar la calidad en una línea de trigo es la elaboración misma del producto. Para poder obtener una calidad aceptable en nuestro producto (pan) se deben utilizar fórmulas y condiciones de prueba que no limiten la expresión de las características de calidad de la harina a evaluar. Los parámetros que mejor reflejan la calidad en la prueba de panificación son el volumen de pan, estructura de miga, color y textura del producto (Henry and Kettlewel, 1996)

1.5. Enfermedades fungales del trigo

Entre las enfermedades fungales del cultivo de trigos (Cuadro 7), las royas (hongos del género *Puccinia* spp) son particularmente importantes ya que estas se encuentran ampliamente distribuidas en la mayoría de las áreas donde se cultiva el trigo, y porque su infección causa grandes pérdidas en la producción de este cereal. Es por esta razón que los fitomejoradores ponen especial atención en incorporar genes de resistencia al ataque de los hongos. Es indispensable que las variedades a ser cultivadas en las principales áreas productoras de trigo en México posean resistencia al ataque de las royas. De no ser así, el productor tiene el riesgo de perder gran parte de su cosecha en el caso de que alguna de las especies de roya ataquen su cultivo.

Cuadro 7. Principales enfermedades fungales del trigo

<i>Fusarium</i> spp.	Atacan la espiga (fusariosis de la espiga) y el grano Produciendo en este último toxinas letales
<i>Septoria</i> spp.	Presencia de manchas en las hojas, disminuyendo la productividad del cultivo
<i>Puccinia</i> spp.	Hongos que atacan hojas, tallos y espigas, disminuyendo la productividad del cultivo

(Pomeranz 1986, Camacho 1990, Zarco-Hernández 1999).

1.6 Translocaciones 1BL/1RS

Uno de los objetivos principales del mejoramiento genético del trigo es la obtención de variedades con alto potencial de rendimiento de grano, el cual no se vea amenazado por posibles ataques de royas al cultivo. Una de las estrategias más efectivas para evitar que los cultivos de trigo fueran atacados por la roya de la hoja, ha sido la incorporación de genes de resistencia a este hongo que se encuentran en el cromosoma 1R (brazo corto) del centeno.

La introducción del material genético del centeno en trigo fue lograda a través de la translocación 1BL/1RS. En una translocación 1BL/1RS, el segmento terminal del brazo corto del cromosoma 1B de trigo se encuentra reemplazado por un segmento del brazo corto del cromosoma 1R del centeno. Este brazo corto a su vez se encuentra unido al brazo largo 1B del trigo (Figura 4). Las primeras translocaciones 1BL/1RS fueron logradas en cuatro lugares: dos en Alemania entre 1920 y 1930, otra en Japón en 1960 y una mas en E.U.A. en 1970 (Zarco-Hernández, 1999).

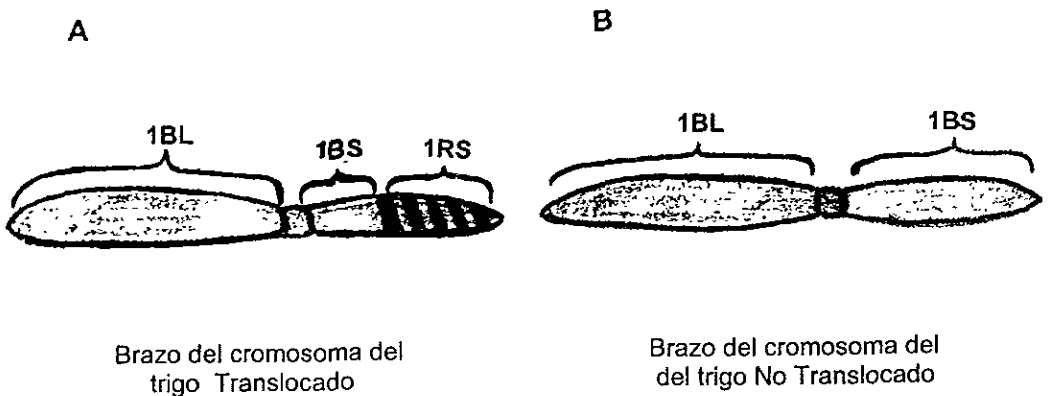


Figura 4. A: Presencia de un brazo de un cromosoma con translocación,
B: Presencia de cromosoma sin translocación.

El programa de Mejoramiento de Trigo del CIMMYT, con sede en México, al igual que otros centros de mejoramiento genético de cereales en el mundo, han recurrido en las últimas dos décadas al uso extensivo de trigos con translocación con el objetivo de incrementar continuamente los rendimientos de Ton/ha en variedades modernas de trigo. Aún cuando los logros en productividad han sido muy significativos, existen problemas asociados con la calidad de panificación de trigos que poseen la translocación 1BL/1RS.

La influencia de la translocación 1BL/1RS en la calidad de los trigos panaderos es un poco controvertida, la controversia podría deberse principalmente a la gran variabilidad genética de los trigos experimentales utilizados en diversos estudios (Graybosch et al, 1990; Peña et al, 1990; Dhaliwal et al, 1988; Fenn et al, 1994; Mc Kendry et al, 1996).

Por otra parte, parece ser que las diferencias ocasionadas por la presencia de la translocación solo se manifiestan en algunos parámetros con los que se evalúa la calidad panadera del trigo (Payne et al 1987; Gupta et al 1989; Pogna et al, 1995).

Se ha encontrado que el efecto de la translocación 1BL/1RS sobre el rendimiento de harina parece ser positivo en un gran número de variedades (Dhaliwal et al, 1987; Peña 1990; Fenn, 1994), así como en algunos de los aspectos físicos del grano tales como: peso hectolítrico, dureza del grano y peso del grano (Bullrich et al, 1998; Dhaliwal et al, 1987; Martin and Stewart, 1986).

La mayor parte de los estudios realizados sobre la translocación 1BL/1RS en trigos harineros se ha centrado en determinar el efecto ocasionado en la calidad de proteína. En cuanto a fuerza de gluten, la mayoría de los artículos informan haber obtenido, como respuesta promedio, una menor fuerza de gluten en los trigos con translocación 1BL/1RS al compararlos con trigos normales (Zeller et al, 1982; Payne 1987; Dhaliwal, 1987; Graybosch et al, 1993; Fenn, 1994; Lee et al, 1995; Mc Kendry et al, 1996). Sin embargo, a pesar de este valor inferior, se ha observado una gran variabilidad dentro de los trigos que poseen la translocación, por lo que es posible

seleccionar aquellos trigos translocados cuyas características de calidad sean superiores.

La menor calidad de los trigos con translocación ha sido asociada a las diferencias en solubilidad y en la composición de las proteínas. Los trigos con translocación 1BL/1RS tienen una mayor proporción de proteína hidrosoluble (Dhaliwal et al, 1988; Dhaliwal and MacRitchie 1990; Graybosch et al, 1990), altos niveles de proteína soluble en KOH (Graybosch et al, 1990) y menor cantidad de gluteninas (Dhaliwal and MacRitchie 1990; Graybosch 1993). Otros relacionan el deterioro de la calidad a la composición de las gluteninas de bajo peso molecular (BPM) al perderse parte de estas con la ausencia del brazo corto del cromosoma 1B en el cual se encuentran localizados genes que codifican para gluteninas de BPM, muy importantes en la definición de la calidad del gluten (Amaya et al, 1991; Graybosch 1993; Fenn 1994; Martin 1996).

Es posible, sin embargo, que el efecto negativo de la translocación en las características de fuerza de gluten pudiera compensarse al desarrollar nuevas variedades que posean las mejores combinaciones de gluteninas de alto peso molecular (APM) las cuales, como se indicó anteriormente, tienen una gran influencia en la determinación de la fuerza de gluten de una variedad de trigo. Por ejemplo, una variedad que posea las subunidades de glutenina APM 17+18 ó 7+8 y 5+10, siempre tendrá mejor fuerza de gluten que otra que posea 7+9 y 2+12 ó 3+12. Esta idea va de acuerdo con varios investigadores que postulan que la selección y la utilización de progenitores de alta calidad en nuevos cruzamientos, puede ayudar a obtener nuevas líneas experimentales con calidad aceptable (Graybosch et al, 1990, 1993; Mc Kendry et al, 1996; Martin 1996).

1.7 Trigos con translocación y la actual comercialización del trigo en México

En años recientes, con la entrada en vigor del TLC, la industria de la panificación ha podido incrementar su importación de trigo de alta proteína y alta calidad proveniente de Canadá y de E.U.A., Por esta razón, la industria de panificación de México ha *elevado sus requerimientos de calidad* para el trigo producido localmente, exigiendo ahora tipos de calidad similares a los que poseen los trigos del mercado de importación, es decir, mayor contenido de proteína y un gluten fuerte y poco pegajoso, satisfactorio para la producción de pan de alta calidad (Mérigo-Orellana, 1997). Lotes de trigo nacional que provienen de regiones de alta productividad tienden a poseer niveles medios de proteína y, por lo tanto, niveles de calidad que no satisfacen al mercado. Por lo tanto, estos tienden a ser rechazados. Para evitar que se incremente la cantidad de trigo importado a niveles que pongan en riesgo a los productores nacionales, es necesario desarrollar variedades que sean altamente productivas y que a la vez posean alta calidad de panificación.

Dada la importancia que tienen los trigos con translocación 1BL/1RS en el desarrollo de variedades con resistencia a royas y alta productividad en México, sería importante examinar la hipótesis de que utilizando progenitores de alta calidad en nuevos cruzamientos es posible obtener nuevas líneas experimentales con calidad de panificación aceptable. Sobre todo si se logra conocer cuales son las mejores combinaciones de gluteninas de APM que puedan compensar los efectos desfavorables ligados a la translocación 1BL/1RS.

CAPITULO II

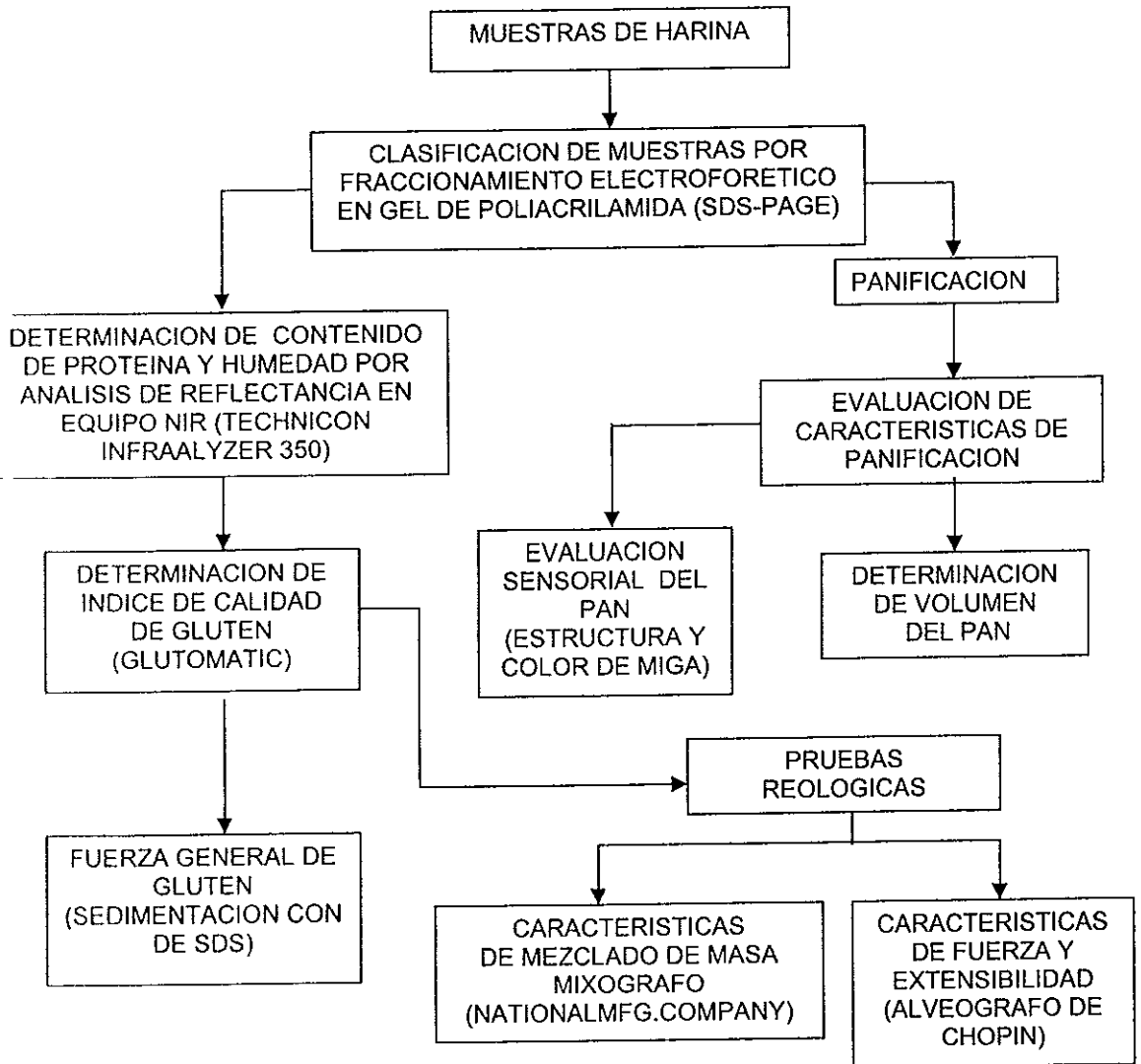
2. Objetivos

1. Determinar las características electroforéticas que permitan establecer la presencia o ausencia del brazo cromosómico corto 1RS de centeno (*presencia de secalinas de 1RS y ausencia de gluteninas de bajo peso molecular de 1BS*) en trigos harineros a partir de análisis electroforético (SDS-PAGE) de extractos de proteína totales de grano o harina.
2. Determinar la variabilidad en *características físicoquímicas, reológicas y de calidad de panificación* entre líneas isogénicas de trigo con Translocación 1BL/1RS y entre líneas isogénicas de trigos normales (sin Translocación).
3. Determinar diferencias en *características físicoquímicas, reológicas y de calidad de panificación* entre *líneas isogénicas con relación a la presencia y ausencia de la translocación 1BL/1RS* en el trigo.
4. Determinar la influencia de la composición de gluteninas de alto peso molecular sobre las características de fuerza de gluten y calidad de panificación en trigos con y *sin translocación*.

CAPITULO III

3 Materiales y Métodos

DIAGRAMA DE TRABAJO



En el presente estudio se utilizaron originalmente harinas refinadas de 30 muestras de trigo harinero (*Triticum aestivum*); 16 sin translocación (NT) y 14 con translocación (T) 1BL/1RS. Las muestras de trigo que generaron las harinas de prueba son líneas hermanas (líneas isogénicas) originadas de una cruce entre un trigo con translocación (variedad Seri) y uno sin translocación (variedad Nacozari), efectuada en el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). Todas las determinaciones se efectuaron por duplicado.

3.1 Características bioquímicas de las proteínas

3.1.1 Fraccionamiento electroforético en gel de poliacrilamida

Se efectuó la separación de proteínas de alto y bajo peso molecular a partir de una electroforesis en gel de poliacrilamida en presencia de dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE, por sus siglas en inglés). Se utilizaron geles de poliacrilamida al 10 %. Las proteínas de alto peso molecular (APM) fueron clasificadas de acuerdo a la nomenclatura de Payne y Lawrence (1983).

La metodología empleada fue la recomendada por BIORAD, fabricantes del equipo electroforético, en los manuales para la separación de proteínas por electroforesis en sistema discontinuo de geles de poliacrilamida que acompaña al equipo para electroforesis Protean II (BIORAD).

Reactivos:

1) 1M TRIS, pH 8.8**

Disolver 30.75 g de TRIS en 20 ml de agua destilada. Ajustar el pH a 8.8 utilizando HCl concentrado, y aforar a 250 ml con agua destilada (refrigerar).

2) 1M TRIS, pH 6.8

Disolver 12.11 g de TRIS** en 80 ml de agua destilada. Ajustar el pH a 6.8 con HCl concentrado, y aforar a 100 ml con agua destilada (refrigerar).

**Trizma* Base: (Tris: hidroximetilaminometano)

Reactivo analítico Sigma: catalogo 1800 – T 8404

Formula condensada: [C₄H₁₁NO₃]

3) Solución acuosa al 10% de SDS (Dodecil Sulfato de Sodio)**

Disolver 5 g de SDS en 40 ml de agua destilada, y aforar a 50 ml (mantener a temperatura ambiente 15-30° C).

**SDS (dodecil sulfato de sodio)

Reactivo analítico Sigma: catalogo 1800 – L3771

Formula condensada: C₁₂H₂₅O₄SNa

4) Solución Stock de Acrilamida para aplicación y corrimiento de geles

Pesar 0.52 g de bisacrilamida*** y 39.48 g de acrilamida. Disolver en aproximadamente 70 ml de agua destilada y aforar a 100 ml. Filtrar. 40%T, 1.3% C (utilizar guantes y cubre boca cuando se trabaje con acrilamida** y introducir la solución en un recipiente ámbar y guardar en refrigeración).

***Bisacrilamida:

Reactivo analítico Sigma catalogo 1800 – A 3449

Formula condensada: [C₇H₁₀N₂O₂].

**Acrilamida:

Reactivo analítico Sigma: catalogo 1800 – A 3553

Formula condensada: [C₃ H₅N].

5) Solución Stock de Tris-Glicina** para Buffer de Tanque

Introducir 30 g de TRIS e un vaso de 100 ml y agregar 887 ml de agua destilada, agitar constantemente y al mismo tiempo agregar 144 g de glicerina y después 10 g de SDS. El pH de nuestra solución debe estar en 8.3. Si el pH es mayor a 8.3, no ajustar con HCl u otro ácido, ya que se alteraría la fuerza iónica deseada.

****Glicina:**

Reactivo analítico Sigma: catalogo 1800 – G 8898

Formula condensada: [C₂H₅NO₂]

6) Stock de buffer Tris-Glicina pH 6.8 para extracción de proteínas

Disolver 12 g de glicerol en 36 ml de agua destilada. Agregar 0.757 g de TRIS, 4.0 g SDS y 6.0 mg d azul de bromofenol**. Determinar el pH y ajustarlo a 7.4 con HCl.

Inmediatamente después ajustarlo a pH 6.8 utilizando una solución de HCl (utilizar 3.059 ml de HCl concentrado, y aforar a 50 ml con agua destilada.

****Azul de bromofenol: (3',3'',5',5''Tetrabromofenol – sulfoneftalina)**

Reactivo analítico: Sigma: catalogo 1800 – B 8026

Formula condensada: [C₁₉H₉Br₄O₅SN₄]

7) Buffer para extracción de proteínas

Mezclar 27 ml de agua destilada con 30 ml del stock de buffer pH 6.8 y 3.0 ml de beta-mercaptoetanol**

****mercaptoetanol:**

Reactivo analítico Sigma catalogo 1800 - M 7154

Formula condensada: [C₂H₆O₈]

8) Solución de tinción de geles

Para una 1 L de solución se adicionan 4 g de Azul Brillante de Coomasie (CBB) R-250 a mezcla que contiene 400 ml de metanol, 70 ml de ácido acético glacial y 530 ml de agua. Filtrar antes de su uso en tinción de geles.

9) Solución para fijación de bandas electroforéticas

Disolver 120 g de ácido tricloroacético **+ 880 ml de agua destilada.

**Acido tricloroacético

Reactivo analítico: Sigma catalogo numero 1800 – T 8657

Formula condensada: $[C_2HCl_3O_2]$

10) Solución de Persulfato de Amonio (APS) al 15%**

Para preparar dos geles se utilizan 75 mg en 5 ml de agua

**Persulfato de amonio

Reactivo analítico Sigma: catalogo numero 1800 – A 3678

Formula condensada: $[(NH_4)_2S_2O_8]$

11) TEMED (N,N,N',N' – Tetrametiletilendiamina

Reactivo analítico Sigma (catalogo numero 1800 – T 9281)

Formula condensada: $[C_6H_{16}N_2]$

A) Extracción de proteínas:

1. - Se pesaron 40 mg de cada muestra y se introdujeron en un tubo Ependorff. Se adicionó 1 ml de buffer de extracción y se agitó el tubo por medio de un vortex durante 5 min.
2. - Para la extracción de proteínas se incubó la muestra durante 5 min en agua casi a ebullición (95° C). este paso tuvo como finalidad el romper las uniones disulfuro entre los péptidos por medio de la acción de reducción del mercaptoetanol.
3. - La muestra, una vez incubada, se centrifugó durante 1 min a 500rpm. El sobrenadante fue utilizado para aplicar extracto de proteína para su separación por electroforésis.

B) Formación de geles

Gel de corrimiento 9%, para dos geles de 17 cm de largo (1.0mm de espesor)

Se agregaron 24.67 ml de Tris pH 8.8 + 14.63 ml de Stock Acrilamida + 23.71 ml de agua destilada, se mezcló y desgasificó por medio de un aspirador de aire conectado a una llave de agua durante 5 min, enseguida se le adicionaron 0.65 ml de SDS al 10% + 1.3 ml de APS (el cual se prepara al momento de usarse) + 0.03 ml de TEMED y se homogeneizó la mezcla con movimientos suaves durante 3 min. Posteriormente se adicionaron 45 ml de esta mezcla entre los cristales de formación de gel. Inmediatamente después se le agregaron 1.5 ml de agua sobre la superficie del gel para eliminar la formación de menisco en la superficie de la solución de gel. Se dejó gelificar la mezcla por espacio de 1 hora y media, una vez cumplido este tiempo se removió el agua que se aplicó al último para dar paso a la formación del gel de aplicación.

Gel de Aplicación 4.8% (para dos geles)

La solución de gel de aplicación consistió en una mezcla de 1.10 ml Tris + 1.05 ml de Stock de acrilamida + agua destilada + 0.09 ml de SDS al 10% + 0.38 ml de APS + 0.01 ml de TEMED. Esta mezcla se agitó durante 3 min para llevar a cabo la homogeneización de la mezcla. Se agregaron aproximadamente 1.5 ml de la solución de gel sobre el gel de corrimiento previamente formado, y se instaló el formador de carriles de gel (peines) evitando la formación de burbujas al momento de colocarlos. Se deja reposar la mezcla durante 1 hora permitiendo la formación del gel, posteriormente se extrae cuidadosamente el peine, se deja escurrir el exceso de solución no gelificada, y se adicionan unos cuantos ml de buffer de tanque sobre el gel para asegurar la salida de la solución restante no gelificada.

Se aplicaron 4 microlitros de extracto de proteína de cada muestra por carril de separación. El corrimiento electroforético se efectuó a 15^o C, 9 miliamperes de corriente por gel, y 16-18 h de separación, o hasta que el colorante de frente de corrimiento estuviera a punto de salir del gel de separación.

La tinción de geles se efectuó por 24h y la destinción de los mismos (en agua) por 24-36h, o hasta que las el fondo del gel perdiera el colorante, quedando teñidas solamente las bandas de proteína.

3.2 Análisis fisicoquímico de la harina de trigo

3.2.1 Determinación del contenido de proteína

El contenido de proteína fué determinado con el aparato Technicon InfraAlyzer 350 (Technicon Tarrytown, N.Y.) previamente calibrado utilizando la determinación de proteína por el método de Kjeldahl (N x 5.7, AACC, 1995, método 46-14).

3.2.2 Sedimentación con SDS

El método utilizado fue el de Axford et al (1978) modificado por Peña et al (1990). Se pesó 1.0 g de muestra, se introdujo en una probeta graduada de 25 ml y se le añadió 8 ml de solución (0.2%) acuosa del colorante CBB R250 (comassie brilliant blue R250). La muestra fue suspendida agitando la probeta por 10 seg. sobre la plancha de un agitador tipo vortex, posteriormente la agitación se repitió a los 2.5 min. y 4.75 min. Inmediatamente después se agregaron 12 ml de una solución conteniendo 1.7 partes de ácido láctico diluido y 48 partes de una solución acuosa al 2% de dodecil sulfato de sodio (SDS). La solución stock de ácido láctico contiene 1ml de ácido láctico al 85% y 8ml de agua. La probeta se colocó en un agitador horizontal oscilatorio por 1 min. para después retirarla y dejarla en reposo en posición vertical por 14 min.

Finalmente se tomó la lectura del volumen del sedimento, expresando tal valor en mililitros. La determinación se llevó a cabo por duplicado a una temperatura de 20-22° C.

3.2.3 Índice de calidad de gluten

La determinación se desarrolló de acuerdo al método 38-12 de la AACC (AACC 1995). Se empleó el aparato Glutomatic (Perten Instrument North America, Inc., Reno, NV) para lavado e índice de calidad de gluten.

Para llevar a cabo el lavado y determinar el índice de gluten se utilizó la siguiente técnica:

Reactivos:

Solución de cloruro de sodio al 2%

Esta solución fue preparada diariamente antes de usarse.

Técnica:

Para poder iniciar el lavado de gluten se procedió a determinar el peso de harina requerido para evaluar el contenido de gluten en 10 g de harina al 14 % de humedad.

Primeramente se adaptó una malla de poliéster de 80 micrones al recipiente de plástico del aparato y se adicionaron 4.2 ml de solución salina al 2%. Enseguida se ajusto el recipiente de plástico de manera semifija para continuar con el amasado automático durante 1 min. Al concluir el minuto de amasado, se sujetó el recipiente de plástico de manera fija dando paso al lavado automático durante 5 min*. Al término de este proceso se llevo acabo el lavado a mano (10 min.) el cual completó el lavado de gluten La muestra de gluten así obtenida fue centrifugada durante 1 min, utilizando un soporte con una malla de poliamida de 840 micrones de que permite, de acuerdo a las propiedades viscoelásticas, el paso parcial del gluten. El índice de calidad de gluten (ICG) se obtiene calculando el porcentaje de gluten que no paso a través de la malla. A mayor valor del ICG, mejor característica viscoelástica del mismo.

3.3 Evaluación reológica de la masa de harina

3.3.1 Características mixográficas

La determinación de características Mixográficas se efectuó utilizando 10 g de harina de acuerdo al método 54-40 de la AACC (AACC1995), para el Mixógrafo de Swason (National Manufacturing Co, Lincoln NE). La absorción de agua para la prueba se determinó, en relación directa con su contenido de proteína, basándose en la función: $Y=1.5X + 43.6$ (método 54-40 de la AACC, 1995).

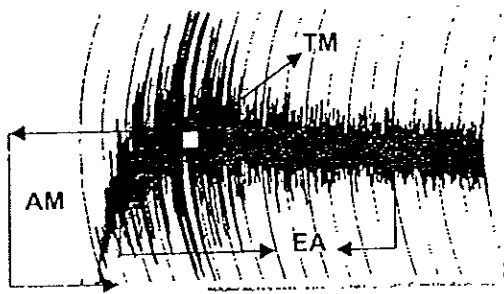
Donde:

X = contenido de proteína en harina (al 14 % de humedad)

Y = absorción de agua (%).

Para llevar a cabo esta prueba reológica se utilizó la siguiente técnica:

A 10 g de muestra depositados en el tazón del Mixógrafo, se le añadió la cantidad de agua (ml) correspondiente a la absorción de la muestra previamente calculada de la función arriba mencionada. Ya sujetado el tazón al Mixógrafo con clavijas fijas en sus extremos, se procedió a determinar las características de mezclado de la masa. La Figura 5 ilustra el registro (mixograma) de las características de amasado de una mezcla harina- agua.



TM: Tiempo de mezclado

EA: Estabilidad en el amasado

AM: Altura del mixograma

Figura 5. Criterios de calidad panadera determinados a partir de un mixograma

En una prueba Mixográfica se pueden determinar:

1). Tiempo de Mezclado (TM): es el tiempo requerido para el alcanzar el desarrollo óptimo de la masa (tiempo en que la parte media de la curva alcanza la máxima altura).

2). Altura de Mixograma (AM): Altura máxima de la parte media de la curva (altura al tiempo óptimo de mezclado). Este parámetro se relaciona con la absorción de la masa y, de manera general, con la fuerza del gluten.

3). Estabilidad al amasado (EA): Es el tiempo que se mantiene la altura máxima de la curva. Este parámetro indica principalmente que tan tolerante será una masa al sobre mezclado sin perder su condición óptima de desarrollo.

3.3.2 Características Alveográficas

Para determinar las características de fuerza (W) y de relación tenacidad/extensibilidad (P/G) en el Alveógrafo de Chopin (Tripette and Renaud Co Francia), se utilizaron 60 g de harina, siguiendo las recomendaciones de calibración de equipo y las condiciones del trabajo del equipo indicadas en el manual de instrucciones. Para formar la masa se utilizó una solución salina al 2% para alcanzar una absorción de 50%, la cual es la absorción estándar recomendada por el método 54-30A de la AACC (AACC, 1995).

Técnica:

Se introdujeron 60 g de harina (al 14 % de humedad) y la cantidad de solución salina necesaria para alcanzar la absorción deseada (50%). La muestra fue amasada por 8 min, extruída a un plato aceitado, moldeada en forma de un pequeño disco de masa, el cual fue reposado por 20 min, a una temperatura de 25° C dentro de la cámara de reposos del Alveógrafo. Finalmente, el disco de masa es prensado entre dos discos del equipo para que este forme una membrana delgada de masa la cual ese insuflada con aire a presión constante hasta que el alvéolo formado se revienta. Durante el evento, se obtiene un registro de la respuesta (resistencia) del alvéolo de masa al ser insuflada (Alveograma). Del Alveograma se calcula el valor de fuerza de masa, W, el cual esta en función de la resistencia que opone el alvéolo al trabajo aplicado, la relación entre tenacidad (altura máxima del Alveograma, P) y extensibilidad (longitud del Alveograma hasta el tiempo de ruptura de la burbuja, G), P/G.

La curva del alveograma siempre presentara una forma característica la cual se muestra en la Figura 6. Los parámetros obtenidos son:

P: es el diferencial de presión máxima, relacionado con las propiedades de la masa como la tenacidad.

G: es el índice de inflación que se relaciona con la extensibilidad que presenta la masa bajo presión antes de romperse.

W: representa la energía que se necesita para deformar la masa hasta que se rompe. Al calcular el parámetro W se toma en cuenta el área bajo la curva del Alveograma.

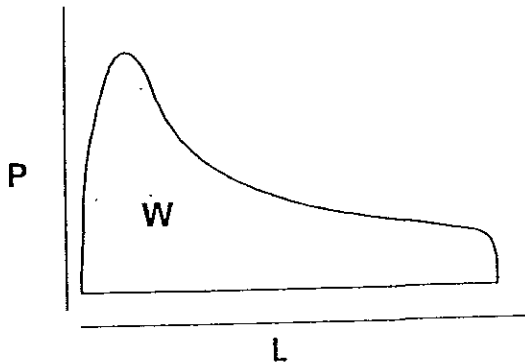


Figura 6. Criterios de calidad panaderos que son determinados a partir de un alveograma.

P: presión

P/G: relación tenacidad/extensibilidad

W: fuerza de gluten

3.4 Evaluación de características de panificación

3.4.1 Prueba de panificación

Las características de calidad de pan (volumen y estructura de miga) fueron determinadas utilizando el método 10-09 de la AACC (AACC, 1995), el cual comprende los siguientes pasos:

- 1.- Se pesan 60 g (en base de 14% de humedad) de harina, 2 g de grasa vegetal hidrogenada y 2 g de leche en polvo desengrasada en el recipiente de la amasadora de masa.
- 2.- Se adicionan, 15 ml de una suspensión de levadura al 12% y 15 ml de una solución de azúcar-sal (4% de Na Cl y 20% de azúcar).
- 3.- Mezclar las soluciones con la harina hasta obtener una masa homogénea, cohesiva y bien desarrollada (tersa y sin presencia de grumos).
- 4.- Las muestras son fermentadas durante 2 h con 25 min dentro de un gabinete de fermentación con humidificación (HR: 95-100%) y temperatura controlada(30° C).
- 5.- Durante la etapa de fermentación se aplica en dos ocasiones una desgasificación presionando las masas entre las palmas de la masa. El objetivo es el de dividir las celdas de gas, para que estas incrementen en número y se mantengan pequeñas durante toda la etapa de fermentación. Esto permite obtener hogazas de pan con miga de celda pequeña y uniforme.
- 6.- Al término de la etapa de fermentación se presiona la masa, se aplana, y se forma un cilindro el cual se coloca dentro del molde en el cual se cuece el pan. La masa, ya dentro del molde, se fermenta nuevamente por 55 min dentro del gabinete de fermentación, para enseguida honearlo por 25 min a 225° C.

3.4.2 Evaluación sensorial de la textura de miga

Se llevo a cabo una inspección sensorial del pan a partir de un análisis visual de la estructura de la miga (uniformidad en la distribución de las celdas de la miga y el tamaño de las mismas).

Se calificó la estructura de la miga con una escala 0 a 3 de acuerdo a como se indica en el cuadro 8.

Cuadro 8. Calificación de la estructura de miga del pan

Estructura de miga	Evaluación	Calificación
Alvéolo pequeño, alargado, uniforme	Muy bueno	3
Alvéolo pequeño, poco alargado, uniforme	Bueno	2
Alvéolo pequeño, redondo, uniforme	Regular	1
Alvéolo grande, Redondo, desuniforme	Pobre	0

Fuente: Peña 1990

3.4.3 Determinación del volumen de pan.

El volumen de pan (ml) fue determinado por desplazamiento de un volumen conocido de semilla de mostaza en un recipiente adaptado con un cilindro de vidrio graduado en ml).

3. 5 Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente utilizando el programa SAS de estadística (SAS 1989). Los parámetros de todas las evaluaciones fueron determinados por duplicado. Los tratamientos y variables se describen a continuación. Estos fueron utilizados para efectuar análisis de varianza para conocer diferencias estadísticas entre las variable comparadas.

Número de observaciones: 44

Número de tratamientos: 2 (T y NT)

Número de réplicas: 2

Número de Variables: 10 (PH, SDS, W, P/G, ICG, AM, EA, TM, VP, EM)

A continuación se presentan las siglas utilizadas para cada variable evaluada.

NT = No Translocados

T = Translocados

PH = Proteína en Harina

SDS = Sedimentación con SDS

ICG = Índice de Calidad de Gluten

TM = Tiempo de Mezclado

AM = Altura del Mixograma

EA = Estabilidad de Amasado

W = Resistencia que tiene la masa al aplicarse trabajo (10^{-4} J)

P/G = Tenacidad/extensibilidad

VP = Volumen de pan

EM = Estructura de miga

CAPITULO IV

4. Resultados y Discusión

4.1. Características bioquímicas de las proteínas

4.1.1 Composición de las gluteninas de alto y bajo peso molecular

La separación electroforética de proteínas totales tuvo como objetivos principales: a), identificar a las muestras que presentaran uniformidad genotípica para ser utilizadas como materiales experimentales. Muestras no uniformes (con mezcla de proteínas de 2 o más genotipos) fueron eliminadas de este estudio genético; b), determinar si la separación electroforética de extractos de proteínas totales permiten determinar la presencia/ausencia de la translocación 1BL/1RS; y c), la determinación de la composición de gluteninas de alto y de bajo peso molecular (APM y BPM, respectivamente).

El análisis electroforético mostró que algunas de las muestras utilizadas poseían patrones electroforéticos indicativos de mezcla de genotipos (un mayor número de bandas de las esperadas). El resultado (no se presenta) del análisis electroforético permitió seleccionar aquellas muestras que representaban genotipos uniformes, sin contaminaciones por mezcla con otros genotipos distintos (Figura 7, 8). El eliminar aquellas muestras que presentaran mezcla de genotipos (de proteínas) era necesario ya que uno de los objetivos principales de este estudio es el conocer la influencia en la calidad de proteínas que se encuentran bajo control genético. Por lo tanto, se deben de utilizar sólo genotipos uniformes.

El análisis electroforético permitió identificar claramente las líneas que presentan translocación. La característica mas determinante de la presencia de la translocación fue la pérdida (o ausencia) de bandas en la región de las gluteninas de bajo peso molecular. Esto se ilustra en la Figura 6. Las líneas No Translocadas (o normales) muestran la presencia de un grupo muy compacto de bandas las cuales no aparecen en las líneas con translocación. Este resultado demuestra que es posible utilizar esta técnica electroforética para diferenciar entre líneas con y sin translocación. Es necesario, sin embargo, siempre utilizar como controles o referencia en este diagnostico dos trigos a los cuales ya se les conozca como Translocados y No Translocados.

La composición de gluteninas de alto peso molecular de las muestras utilizadas en este estudio se presenta en el cuadro 9. En los trigos translocados (T) se observaron variaciones para las proteínas controladas en cromosomas 1A y 1D, mientras que las gluteninas de APM controladas en cromosoma 1B pertenecen a Seri, el padre con translocación. En los trigos No Translocados (NT) también se observaron variaciones en la composición de subunidades controladas por cromosomas 1A y 1D. La muestra no. 370 fue diferente a las demás muestras NT en cuanto a que presentó la subunidad de glutenina de APM de cromosoma 1B 7+9, la cual pertenece al progenitor con Translocación (Seri). Por otro lado, se observó que una de las muestras NT presentó una subunidad híbrida entre Seri (7+9) y Nacozari (17+18), 17+9. Este tipo de recombinaciones (entre componentes de una subunidad) es considerado como muy raro.

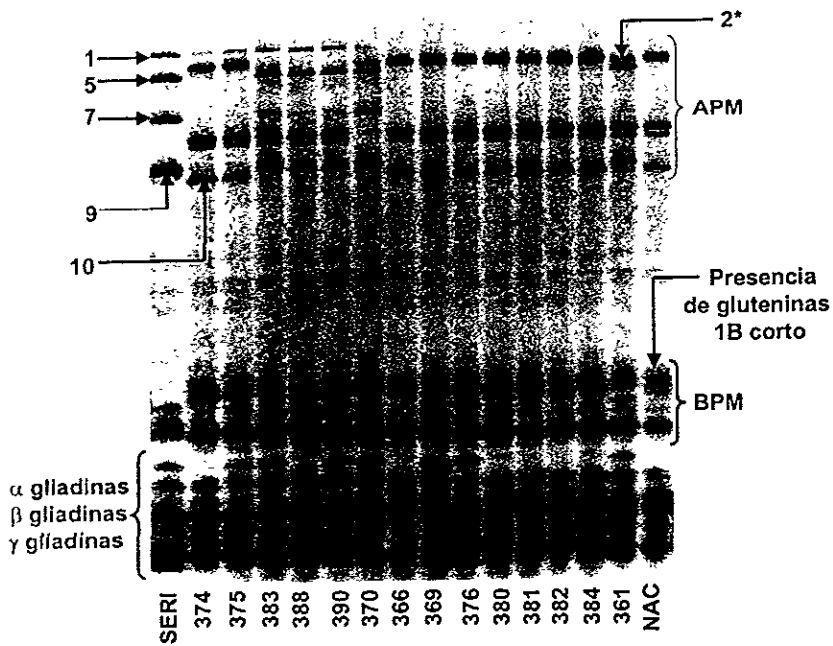


Figura 7. Electroforésis SDS-PAGE de trigos No Translocados

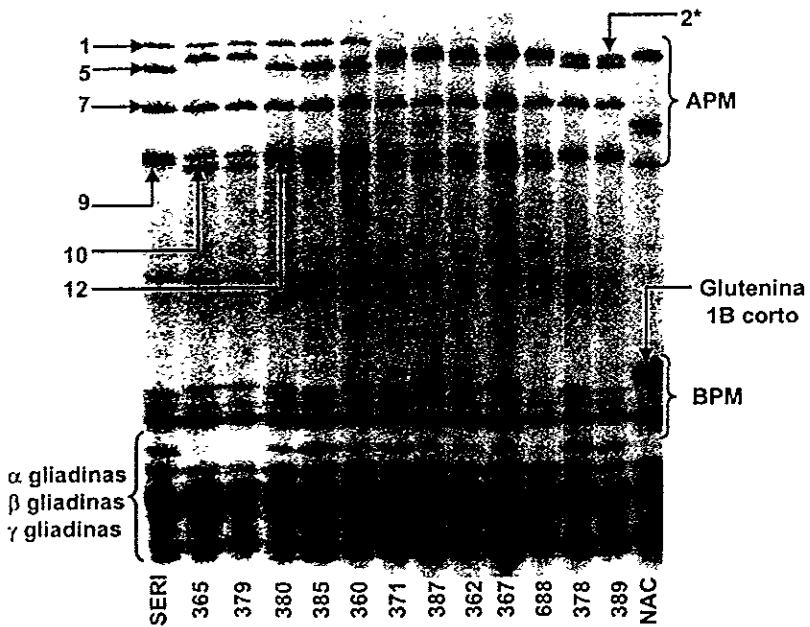


Figura 8. Electroforésis SDS-PAGE de trigos Translocados

Cuadro 9. Subunidades de glutenina de APM de las muestras experimentales

Numero de muestra	Tipo de trigo	Gluteninas de APM
Seri	Control	1, 7+9, 5+10
360	T	2*, 7+9, 5+10
371	T	2*, 7+9, 5+10
372	T	1, 7+9, 5+10
385	T	1, 7+9, 5+10
387	T	1, 7+9, 5+10
362	T	2*, 7+9, 2+12
367	T	2*, 7+9, 2+12
368	T	2*, 7+9, 2+12
378	T	2*, 7+9, 2+12
365	T	1, 7+9, 2+12
379	T	1, 7+9, 2+12
Nacozari	Control	2*, 17+18, 2+12
361	NT	2*, 7+18, 2+12
369	NT	2*, 7+18, 2+12
366	NT	2*, 7+18, 2+12
376	NT	2*, 7+18, 2+12
380	NT	2*, 7+18, 2+12
381	NT	2*, 7+18, 2+12
382	NT	2*, 7+18, 2+12
384	NT	2*, 7+18, 2+12
383	NT	1, 17+18, 5+10
370	NT	1, 7+9, 5+10
374	NT	1, 17+18, 2+12
375	NT	1, 17,+18, 2+12
386	NT	1, 17+9, 5+10

4.2. Características de calidad de trigos Translocados (T) y No Translocados (NT)

Ambos grupos de trigo (Translocados y No Translocados, T y NT, respectivamente) presentaron variabilidad en cuanto a: sedimentación (SDS), índice de calidad de gluten (ICG), tiempo de mezclado (TM), altura del mixograma (AM), estabilidad al amasado (EA), fuerza y tenacidad/extensibilidad en el Alveógrafo (W y P/G, respectivamente), volumen de pan (VP), y estructura de miga (EM) (Tabla I). En seguida se anexan a medias y desviaciones estandard de cada uno de los parámetros analizados tanto en Trigos translocados y como en No Translocados.

Cuadro 10. Medias y desviación estandard de cada uno de los parámetros de calidad encontrados en trigos No Translocados

Parámetro de calidad	Nº de muestras	media	DS
SDS en proteína	26	8.90	0.55
Proteína en harina	26	11.36	0.37
Fuerza de gluten	26	340.76	74.41
Extensibilidad en masa	26	5.49	1.53
Tiempo de mezclado	26	2.44	0.47
Estabilidad en mixograma	26	3.95	1.20
Altura del mixograma	26	5.48	0.47
Índice de calidad de gluten	26	0.87	0.08
Volumen de pan	26	451.92	42.14
Estructura de miga	26	1.84	0.78

Cuadro 11. Medias y desviación estandard de cada uno de los parámetros de calidad encontrados en trigos Translocados

Parámetro de calidad	N ^o de muestras	media	DS
SDS en proteína	18	7.95	0.69
Proteína en harina	18	11.06	0.24
Fuerza de gluten	18	323.18	55.97
Extensibilidad en masa	18	6.34	1.71
Tiempo de mezclado	18	1.97	0.38
Estabilidad en mixograma	18	3.95	0.72
Altura del mixograma	18	5.03	0.64
Índice de calidad de gluten	18	0.80	0.07
Volumen de pan	18	424.10	65.44
Estructura de miga	18	0.95	1.13

Las características de calidad entre líneas isogénicas de trigos T y NT fueron comparadas entre sí. Se observaron diferencias significativas en contenido de proteína y en la mayoría de los parámetros relacionados con calidad de panificación (Tablas 1A y 2A). No se observaron diferencias significativas en cuanto a fuerza de gluten determinada en el Alveógrafo (valor W) y en cuanto a estabilidad al amasado. La diferencia más notable fue la mayor extensibilidad de los trigos NT (menor valor de P/G).

La mayor calidad industrial en trigos NT en relación con los trigos T, se podría atribuir principalmente a las mejores propiedades de mezclado y a un gluten de mayor extensibilidad (Figura 9) proveniente de una mejor composición de gluteninas de BPM. La presencia de la translocación, disminuyó el contenido de gluteninas las cuales son necesarias para tener una adecuada extensibilidad de masa y expansión de la misma durante la panificación.

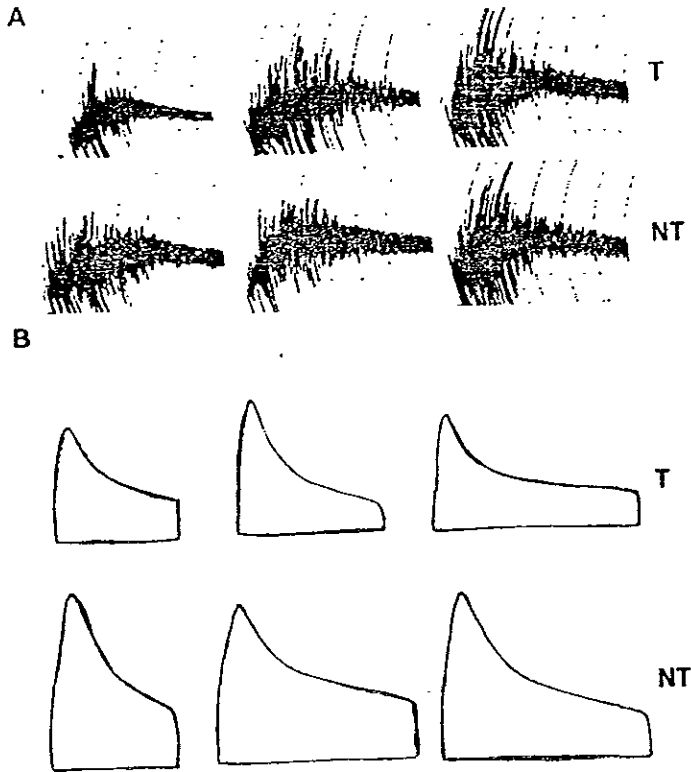


Figura 9. Variabilidad encontrada en alveogramas y mixogramas entre trigos Translocados y No Translocados.

A: La extensibilidad en mixogramas va aumentando, esto se observa al ver como la caída de la curva del mixograma va siendo más lenta.

B: La extensibilidad observada en cada uno de los alveogramas va incrementando de izquierda a derecha, esto se observa al ver la longitud de los alveogramas.

Tabla IA. Características de calidad de trigos Translocados y No Translocados

Grupo Genotípico	n	PH	ICG	Mixogramas		
				TM	AM	EA
NT	9	11.4a*	87.2a	2.5a	5.5a	3.9a
T	7	11.0b	74.4b	2.0b	5.0b	3.9a

* Valores en una misma columna seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p < 5.0\%$).

Tabla IB. Características de calidad de trigos Translocados y No Translocados

Grupo Genotípico	n	SDS	Alveograma		Panificación	
			W	P/G	VP	EM
NT	9	9.0a*	341a	5.5a	452a	1.9a
T	7	7.8b	325a	6.8b	412b	0.6b

* Valores en una misma columna seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p < 5.0\%$)

Algunos investigadores han encontrado que la presencia de la translocación 1BL/1RS confiere un carácter pegajoso a las masas de panificación (Dhaliwal and MacRitchie, 1990, Graybosch, R., Peterson., C, et.al, 1990, Amaya, A., Peña, R, 1991,

Peña, R, Amaya, A, Rajaram, S, 1990). Es importante mencionar que en el presente estudio se efectuó una evaluación manual (sensorial) de pegajosidad de masa durante la prueba de panificación. La prueba consistió en presionar 12 veces la masa de panificación entre las palmas de las manos. Se asignaría una calificación de 1, 2, 3, 4, para muestras muy pegajosas, pegajosas, ligeramente pegajosas, no pegajosas, respectivamente de acuerdo con el procedimiento utilizado por Peña et al (1990). Las diferencias en características de pegajosidad de masa entre muestras con Translocación y sin Translocación fueron no significativas en todos los casos (no se muestran resultados). Este resultado podría tener dos interpretaciones: a), la translocación no causó diferencias significativas en pegajosidad de masa con respecto a las muestras normales para los genotipos estudiados, o b), la prueba sensorial de pegajosidad utilizada no fue capaz de detectar diferencias en pegajosidad de masa entre trigos Translocados y No Translocados. Se sugiere efectuar pruebas sensoriales con un texturómetro que permita detectar adhesividad de superficie de muestra.

4.3 Características de calidad de trigos Translocados y No Translocados que poseen misma composición de gluteninas de APM (1, 7+9, 5+10)

El comparar las características de calidad de los trigos T y NT, con mismas gluteninas de APM (7+9, 5+10), tuvo como objetivo el examinar las diferencias entre estos dos grupos eliminando el posible efecto ejercido por la composición en gluteninas de APM. De esta manera, se pretendió determinar de manera específica el efecto en calidad de la presencia de la translocación. El resultado de esta comparación se muestra en las Tablas IIA y IIB.

Se observaron diferencias significativas en cuanto a PH, TM y P/G. Aún cuando la diferencia en PH fue significativa, esta fue muy pequeña como para considerarla como una diferencia importante o determinante. En contraste, las diferencias en extensibilidad (menor P/G) y TM, mucho mayores en los trigos NT, pueden considerarse como notables. Las reducciones en extensibilidad de gluten y en tiempo

de mezclado de masa en los trigos T, pueden considerarse como los mayores efectos negativos de la translocación en las propiedades del gluten de trigo.

Las diferencias en características reológicas de masa no disminuyeron, en relación con los trigo No Translocados, la calidad panadera de los trigos T. Este último resultado podría deberse a la presencia de gluteninas de APM, particularmente 5+10, que poseen efectos positivos sobre la fuerza de gluten; ambos grupos de trigos mostraron tener gran fuerza de gluten (valor W por arriba de 300).

Tabla IIA Características de calidad de trigos Translocados y No Translocados que poseen misma composición de gluteninas de APM (1, 7+9, 5+10)

Grupo Genotípico	n	PH	ICG	Mixogramas		
				TM	AM	EA
NT	3	10.7a*	79.0a	3.2a	5.0a	4.7a
T	3	11.0b	76.1a	2.3b	5.2a	4.6a

*Valores en una misma columna seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p < 5.0$).

Tabla IIB Características de calidad de trigos Translocados y No Translocados que poseen misma composición de gluteninas de APM (1, 7+9, 5+10)

Grupo Genotípico	n	SDS	Alveograma		Panificación	
			W	P/G	VP	EM
NT	3	9.0a*	350a	5.3a	388a	1.0a
T	3	7.6a	378a	7.6b	387a	0.3a

*Valores en una misma columna seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p < 5.0$).

4.4 Características de calidad de trigos No Translocados que contrastan en su composición de gluteninas de APM (5+10 vs. 2+12). Ambos grupos poseen 1, 17+18

Al comparar los efectos que poseen las gluteninas APM 5+10 y 2+12 en la calidad de los trigos No Translocados (NT), se observaron diferencias significativas en cuanto a ICG, TM, SDS y W (Tablas IIIA, IIIB). Las muestras con 5+10 presentaron mayor tiempo de mezclado y mayor fuerza de gluten en el Alveógrafo, mientras que aquellas con las gluteninas APM 2+12 tuvieron valores mayores de índice de calidad de gluten y de sedimentación. Aún cuando no significativamente, las muestras con 5+10 mostraron mayor estabilidad al amasado y mayor extensibilidad que aquellas con 2+12.

Al examinar las propiedades reológicas en su conjunto de los dos grupos comparados, se observa que aquellos con 5+10 poseen mucho mayor fuerza que los que tienen 2+12. Los trigos 2+12, a pesar de tener un gluten con menor extensibilidad (mayor P/G) que los que poseen 5+10, parecen tener un gluten con mejor capacidad de

expansión de masa la cual se manifiesta en buen volumen de pan. En contraste, los trigos con 5+10 necesitarían mejor extensibilidad ($P/G < 6.1$) para permitir que una masa con tal fuerza ($W > 450$) pueda tener mayor expansión y mayor volumen de pan.

Tabla IIIA Características de calidad de trigos No Translocados con gluteninas de APM 5+10 y gluteninas 2+12. Ambos grupos poseen 1, 17+18

Grupo Genotípico	n	PH	ICG	Mixogramas		
				TM	AM	EA
5 + 10	1	11.5a*	78.0a*	3.1a	5.8a	4.3a
2 + 12	2	11.5a	93.4b	2.2b	5.9a	3.0a

*Valores en una misma columna seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p < 5.0$).

El hecho de que los valores de índice de calidad de gluten, ICG, y de sedimentación, SDS, de los trigos con 5+10 hayan sido menores a los presentados por aquellos con 2+12, sugiere que estos parámetros se ven influenciados más por el equilibrio (o balance) entre fuerza y extensibilidad, que por alguno de los parámetros individuales. Ambos parámetros son mayores en muestras con 2+12 que con 5+10 (Tablas IIIA, IIIB).

Tabla IIIB Características de calidad de trigos No Translocados con gluteninas de APM 5+10 y gluteninas 2+12. Ambos grupos poseen 1, 17+18

Grupo Genotípico	n	SDS	Alveograma		Panificación	
			W	P/G	VP	EM
5 + 10	1	8.3a*	465a	6.1a	445a	2.0a
2 + 12	2	9.6b	293b	7.0a	480a	1.8a

*Valores en una misma columna seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p < 5.0$).

Podemos concluir que los trigos Translocados que presentan subunidades de gluteninas 5+10 tienen mejores condiciones (fuerza) en la elaboración de pan a nivel industrial, mientras que los trigos que presentan subunidades de gluteninas 2+12 pueden ser utilizados en panificación de tipo semimecanizado o manual (pan casero), ya que en estos casos no se utilizaran sistemas tan mecanizados que puedan romper las estructuras proteicas y no se necesitará de tanta extensibilidad.

4.5 Características de calidad de trigos No Translocados que contrastan en su composición de gluteninas de APM (2* vs. 1). Ambos grupos poseen 17+18, 2+12

El objetivo de este análisis fue el de determinar si existen diferencias significativas en características de calidad entre subunidades 1 y 2* de los trigos NT. Los trigos NT con glutenina APM 1 presentó un valor de sedimentación ligeramente mayor que aquellos con la subunidad 2*. Aún cuando los trigos con subunidad 2* mostraron mejor estabilidad al amasado y fueron más extensibles que los que poseen

la subunidad 1, las diferencias no fueron significativas, ni se manifestaron en un mayor volumen de pan. Por lo que únicamente podemos decir que estas gluteninas no influyen en los criterios de calidad de panificación de los trigos NT.

Tabla IVA Características de calidad de trigos No Translocados con glutenina de APM 2* y con glutenina 1. Ambos grupos poseen 17+18, 2+12

Grupo Genotípico	n	PH	ICG	Mixogramas		
				TM	AM	EA
2*	8	11.4a*	87.8a	2.3a	5.5a	3.8a
1	2	11.5a	93.4a	2.2a	5.9a	3.0a

*Valores en una misma columna seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p < 5.0$).

Tabla IVB Características de calidad de trigos No Translocados con gluteninas de APM 2* y glutenina 1. Ambos grupos poseen 7+9,2+12

Grupo Genotípico	n	SDS	Alveograma		Panificación	
			W	P/G	VP	EM
2*	8	8.8a*	338a	5.4a	448a	1.9a
1	2	9.6b	293a	7.0a	480a	1.8a

*Valores en una misma columna seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p < 5.0$).

Los trigos T con subunidades de gluteninas 2+12 presentaron menor TM, y menor fuerza de gluten en el Alveógrafo (W) que aquellos con 5+10. En contraste, los primeros fueron mas extensibles (menor P/G) y tuvieron, aunque no de manera significativa, menor volumen de pan que los primeros (Tablas VA, VB, VIA, VIB).

El hecho de que no ocurra lo esperado, que 5+10 contribuya a mayor extensibilidad y mejor volumen de pan que 2+12, sino todo lo contrario, podría deberse a que en los trigos T la ausencia de algunas gluteninas de BPM no permiten que se incremente la extensibilidad y, por tanto, al incrementarse la fuerza de gluten, se incrementa el desbalance en la viscoelasticidad del gluten (se incrementa a la vez P/G), limitando la capacidad de expansión de masa durante la panificación (Tabla VA, VB, VIA VIB).

4.6 Características de calidad de trigos Translocados que contrastan en su composición de gluteninas de APM (5+10 vs. 2+12). Grupos homogéneos 2*, 7+9 y 1, 7+9

Uno de los objetivos principales de esta investigación es el de examinar los efectos de gluteninas de APM que afectan las características de fuerza de gluten en los trigos normales (No Translocados), en las características de calidad de trigos Translocados (T). La finalidad es la de determinar si es posible, manipulando la composición de gluteninas de APM, compensar los efectos negativos en calidad que acompañan a la translocación. En este caso, se compararon los efectos de las subunidades alternativas 5+10 vs. 2+12 (un genotipo uniforme u homogéneo, sólo puede tener una de las dos variantes).

Tabla VA Características de calidad de trigos Translocados con gluteninas de APM 5+10 y con gluteninas 2+12. Ambos grupos poseen 2*, 7+9

Grupo Genotípico	n	PH	ICG	Mixogramas		
				TM	AM	EA
5+10	2	11.1a*	80.0a	2.3a	4.3a	3.7a
2+12	2	11.2a	82.3a	1.7b	5.2a	3.2a

*Valores en una misma columna seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p < 5.0$).

Tabla VB Características de calidad de trigos Translocados con gluteninas de APM 5+10 y con gluteninas 2+12. Ambos grupos poseen 2*, 7+9

Grupo Genotípico	n	SDS	Alveograma		Panificación	
			W	P/G	VP	EM
5+10	2	8.1a	354a	7.5a	365a	0.0a
2+12	2	8.0a	274b	6.4b	451a	0.8a

*Valores en una misma columna seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p < 5.0$).

Estos resultados sugieren que en el desarrollo de nuevas variedades de trigo que posean la translocación, para poder obtener gluten con buena extensibilidad y calidad de panificación aceptable, es recomendable introducir 2+12 en lugar de 5+10, contrario a lo que se recomienda para los trigos normales.

Tabla VIA Características de calidad de trigos Translocados con gluteninas de APM 5+10 y con gluteninas 2+12. Ambos grupos poseen 1, 7+9

Grupo Genotípico	n	PH	ICG	Mixogramas		
				TM	AM	EA
5+10	3	11.0a	76.1a*	2.3a	5.2a	4.6a
2+12	2	11.0a	77.3a	1.2b	5.2a	4.0a

*Valores en una misma columna seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p < 5.0$).

Tabla VIB Características de calidad de trigos Translocados con gluteninas de APM 5+10 y con gluteninas 2+12. Ambos grupos poseen 1, 7+9

Grupo Genotípico	n	SDS	Alveograma		Panificación	
			W	P/G	VP	EM
5+10	3	7.6a*	378a	7.6a	387a	0.3a
2+12	2	7.6a	269b	5.2b	458a	1.5a

*Valores en una misma columna seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p < 5.0$).

4.7 Características de calidad de trigos Translocados que contrastan en su composición de gluteninas de APM (2* vs. 1). Grupos homogéneos 7+9, 5+10 y 7+9, 2+12

Al comparar las características de calidad de trigos T que poseen la subunidad de glutenina APM 1 con las de aquellos que tienen la subunidad 2*, ambas bajo el control de genes presentes en cromosoma 1A, se observó que, a excepción de que los trigos T que poseen la subunidad 1 tuvieron mayor altura de mixograma (AM) que aquellos con la subunidad alternativa 2*, cuando 7+9 y 5+10 estuvieron presentes (Tabla VIIA), no hubo diferencias significativas en calidad asociada con esta variación alternativa de gluteninas de APM (Tablas VIIA, VIIB, VIIIA, VIIB).

Tabla VIIA Características de calidad de trigos Translocados con gluteninas de APM (2*, 1) ambos grupos poseen 7+9, 5+10

Grupo Genotípico	n	PH	ICG	Mixogramas		
				TM	AM	EA
2*	2	11.0a*	80.0a	2.3a	4.3a	3.7a
1	3	11.0a	76.1a	2.3a	5.2b	4.6a

*Valores en una misma columna seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p < 5.0$).

Tabla VIIB Características de calidad de trigos Translocados con gluteninas de APM (2*, 1) ambos grupos poseen 7+9, 5+10

Grupo Genotípico	n	SDS	Alveograma		Panificación	
			W	P/G	VP	EM
2*	2	8.1a*	354a	7.5a	365a	0.0a
1	3	7.6a	378a	7.6a	387a	0.3a

*Valores en una misma columna seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p < 5.0$).

Tabla VIIIA Características de calidad de trigos Translocados con gluteninas de APM (2*, 1) ambos grupos poseen 7+9, 2+12

Grupo Genotípico	n	PH	ICG	Mixogramas		
				TM	AM	EA
2*	2	11.2a*	82.3a	1.7a	5.2a	3.2a
1	2	11.0a	77.3a	1.2a	5.2a	4.0a

*Valores en una misma columna seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p < 5.0$).

Tabla VIII B Características de calidad de trigos Translocados con gluteninas de APM (2*, 1) ambos grupos poseen 7+9, 2+12

Grupo Genotípico	n	SDS	Alveograma		Panificación	
			W	P/G	VP	EM
2*	2	8.0a*	274a	6.4a	451a	0.8a
1	2	7.6a	269a	5.2a	458a	1.5a

*Valores en una misma columna seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p < 5.0$).

Estos resultados son similares a los observados para la misma comparación pero en el caso de los trigos sin Translocación (NT). Podemos concluir, entonces, que la presencia alternativa de las subunidades glutenina de APM 1 y 2*, no tienen efecto significativo en la definición de las características de calidad de panificación.

Con la finalidad de conocer si la composición de gluteninas de APM podrían compensar efectos negativos en calidad asociados con la presencia de la translocación 1BL/1RS, en este estudio fue posible examinar los posible efectos en calidad de variantes alternativas de subunidades de glutenina de APM bajo el control genético de los cromosomas 1A (1 vs. 2*) y 1D (5+10 vs. 2+12). No se contó con muestras que fueran distintas en la composición de gluteninas bajo el control genético del cromosoma 1B (7+9 vs. 17+18), por lo cual no fue posible examinar el efecto de la presencia alterna de estas subunidades sobre las características de calidad de ambos tipos de trigo (NT y T). Debido a que se sabe que en trigos normales las subunidades de glutenina APM del cromosoma 1B ejercen efectos diferenciales sobre las propiedades reológicas y de panificación (Payne, 1987; Pogna et al., 1992), será importante poder efectuar este análisis en trigos T en algún otro estudio.

CAPITULO V

5. CONCLUSIONES

Las enfermedades, particularmente las royas, revisten un importante papel en la producción del trigo debido a que su incidencia tiene efectos negativos tanto en la productividad del cultivo como en las características de calidad del grano de trigo. Gracias a esfuerzos nacionales e internacionales se han logrado desarrollar nuevas variedades que poseen resistencia a dichas enfermedades. Sin embargo, las actuales exigencias en calidad establecidas por la industria, podrían hacer ver a los trigos que poseen translocación 1BL/1RS como poco deseables si es que estos presentan de manera consistente una calidad de panificación inferior a lo demandado.

El método electroforético utilizado permite identificar líneas experimentales o variedades que posean la translocación. Esto es posible siempre y cuando se utilice un trigo con translocación 1BL/1RS y otro sin translocación como referencia para poder detectar la ausencia de algunas gluteninas de BPM. La técnica electroforética tendrá valor principalmente en la tarea de mejoramiento de trigo durante el desarrollo de nuevas variedades.

A pesar de que ambos tipos de trigo, No Translocados y Translocados, presentaron similar fuerza de gluten, la calidad de panificación de los primeros fue mejor que la de los Translocados debido a que los primeros presentaron una mejor extensibilidad de gluten así como un mayor tiempo de mezclado. Por lo tanto, la presencia de la Translocación afectó mas que la fuerza las propiedades de viscoelasticidad de masa, particularmente la extensibilidad de la misma.

La incorporación de la subunidad de glutenina de APM 5+10 es recomendable para elevar la calidad de panificación (mejor manejo mecanizado de masa durante la panificación industrial) de los trigos sin translocación, debido a que confieren mayor

fuerza y extensibilidad de masa que la subunidad alternativa 2+12. Sin embargo, la presencia de la subunidad 5+10 en los trigos Translocados confiere menor calidad de panificación que la subunidad 2+12, ya que, la subunidad 5+10 al contribuir con mayor fuerza de masa, promueve un mayor desequilibrio viscoelástico, en las masas. Esto se podría deber principalmente a que los trigos T, al perder parte del brazo corto del cromosoma 1B, pierden gluteninas de BPM que son importantes para la extensibilidad de gluten (masa).

En general, se observó que para el germoplasma utilizado en este estudio, las variaciones alternativas controladas por cromosoma 1A (gluteninas APM 1 o 2*) no juegan un papel importante en la definición de las características de calidad tanto en trigos normales (NT) como en los Translocados (T).

Los resultados de este estudio sugieren que el desarrollo de nuevas variedades de trigo con translocación, debe contar con subunidades de gluteninas de APM 2+12 para evitar un exceso en fuerza de gluten que provoque disminución en propiedades viscoelásticas, sobre todo en extensibilidad de masa, y que permitan tener una calidad de panificación aceptable para la industria mecanizada.

5A BIBLIOGRAFIA

AACC. (1995). American Association of Cereal Chemists Official Methods of Analysis., 9 th edition, St. Paul, MN.

Amaya, A., Peña, R.J., Zarco, Hernández, J., R., Rajaram, S., and Mujeeb-Kazi, A. (1991), Quality characteristics of normal 1B/1B and translocation1B/11R wheat varying in dough stickiness character at two mixing speed. *Cereal Food World* , 36:701-704.

Bullrich, L., Tranquilli, G., Surrey, E., and Barneix, A.J. (1998), Bread making quality and yield performance of 1BL/1RS wheat isogenic lines. *Plant Breed*, 117:119-122.

Camacho, C.M, (1997), El trigo en el contexto de la producción agrícola nacional y mundial, (es.). Primer Simposium Internacional de Trigo, 7-9 Abril, Inifap, Cd.Obregon, México, p.p. 19 –23.

Dexter, J.E., Preston, K.R., Martin, D.G., and Gander, E.J. (1994). The effect of protein content and starch damage on the dough properties and bread-making quality of Canadian durum wheat. *Journal of Cereal Science*, 20: 139-151.

Dhaliwal, A.S., Mares, D.J and Marshall, D.R. (1987). Effect of 1B/1R Chromosomes Translocation on Milling and Quality Characteristics of Bread Wheats. *Cereal Chemistry*, 64: 72-76.

Dhaliwal, A.S, and MacRitchie, F. (1990). Contribution of protein fractions to dough handling properties of wheat-rye translocation cultivars. *Journal of Cereal Science*, 12:113-122.

Fenn, D., Lukow, M., Bushuk, W., and Depauw, R. (1994), Milling and baking quality of 1BL/1RS translocation Wheat's., I. Effects of genotype and environment. *Cereal Chemistry*, 71:189-195.

Graybosch, R.A., Peterson, C.J., Hansenm L.e, Worral, D., Shelton, D.R., and Lukaszewski, A. (1990). Comparative flour quality and protein characteristics of 1BL/1RS and 1AL/1RS wheat-rye translocation lines. *Journal of Cereal Science*, 17: 95-106.

Graybosch, R.A., Peterson, C.J., Hansen, L.E., and Mattern, P.J. (1990). Relationship between protein solubility characteristics 1BL/1RS, high molecular weight glutenin composition, and use quality in winter germplasm. *Cereal Chemistry*, 67: 342-348.

Gupta, R.B., Bekes, F., Wrigley, C.W., and Moss, H.J. (1990). Prediction of wheat quality in breeding on the basis of LMW and HMW glutenin subunit composition. In: *Wheat Breeding Society of Australia. Sixth Assembly, Tamworth, NSW.* p.p. 217-225.

Gupta, R.B. and Shepherd, K.W. (1992). Identification of rye chromosome 1R translocation and substitution in hexaploid wheat using storage protein as genetic markers. *Plant Breed*, 109:130-140.

Hanson,R. (1996). Relationship between protein solubility characteristics 1B/1R HMW glutenin composition and end use quality in wheat germplasm. *Cereal Chemistry*, 67: 342, 349.

Hoseney, R.C. (1986), *Principles of Cereal Science and Technology. A general reference on cereal foods*, AACC, (eds.). American Association of Cereal Chemists. St, Paul, Minnesota, USA, p.p. 73, 74, 96 –100, 327.

Hoseney, R.C. and Peña, R.J. (1997), *Wheat Quality "Importance for the bread and pasta industries and for the world grain trade, current status and its perspectives for the 21 first century.* (eds.). *Primer Simposium Internacional de trigo*, 7-9 Abril, Inifap. Cd. Obregón, Sonora, Mexico, p.p. 121-124

Kettlewell, P.S. (1996). Agronomy and cereal quality in cereal. In: Henry R.J. and Kettlewell, P.S. (eds.). Chapman and Hall, London, pp. 413-435.

Lafiandra, D., Blumenthal, C., and Wrigley, C. (1999). The Formation of Glutenin Polymer in Practice. *Feature*: 44:572-576.

Mérigo-Orellana, E. (1997). La industria panificadora mecanizada: Situación actual y perspectivas para el siglo XXI. En: Primer Simposium Internacional de Trigo, Abril 7-9, 1997, Cd Obregón Sonora, p.p: 171-177

Milovanovic, M., Perovic, O., Prodanovic, S., Jestrovic, Z., and Protic, R. (1998). The Influence of 1BL/1RS Translocation on technological quality of winter wheat. *Cereal Research Communication*, 26: 321-329.

Moonen, H.E. and Zeven, A.C. (1984). SDS -PAGE of high-molecular-weight subunits of wheat glutenin and the characterization of 1R (1B) substitution and 1BL/1RS translocation lines. *Euphytica*, 33: 3-8.

Ohm, J.B. and Chung, O.K. (1999). Gluten, pasting, and mixograph parameters of hard winter flours in relation to breadmaking. *Cereal Chemistry*, 76: 606-613.

Orth, R.A. and Shellenberger, J.A. (1988). Origin, production, and utilization of wheat. In: Pomeranz, Y. (eds) *Wheat Chemistry and Technology: American Association of Cereal Chemists*, Minnesota, pp. 1-14.

Payne, P.I. and Lawrence, C.J. (1983). Catalogue of alleles for the complex gene loci, *Glu A1*, *Glu B1*, and *GluD1*, which code for the high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheats. *Cereal Research Communication*, 11: 29-35.

Payne, P.I. (1987). Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread making quality. *Ann Rev. Plant Physiol*, 8:141-153.

Peña, R.J. (1996). Wheat quality for bread and baked food needs. In: Nagarajan, S., Singh, G., and Tyagi, B.S. (eds.). Wheat research needs beyond 2000 AD, August, 1997, Karnal, India. Narosa Publishing House, New Delhi, pp. 302-312.

Peña, R.J., Amaya, A., Rajaram, S., and Mujeeb-Kazi, A. (1990). Variation in quality characteristics associated with some spring 1B/1R translocation wheats. *J. Cereal Science*, 12: 105-112.

Peña, R.J., Ortiz-Monasterio, J.I. y Sayre, K.D. (1998). Estrategias para mejorar (o mantener) la calidad panadera en trigo de alto potencial de rendimiento. En: Kohli, M. M. y Martino, L.D. (editores). Explorando altos rendimientos de trigo. Octubre 1997, Colonia, Uruguay, p.p: 289-306.

Peña, R.J., Zarco, J., Amaya, A., and Mujeeb-Kazi, A. (1993). Relationship between chromosomes 1B-encoded glutenin subunit composition and bread-making quality characteristics of some durum wheat (*Triticum turgidum*) cultivars. *Journal of Cereal Science*, 19: 243-249.

Pogna, N.E., Radaelli, R., Dackevitch, T., Curioni, A., and Dal Belin Peruffo A. (1992). Benefits from genetics and molecular biology to improve the end use properties of cereals. In P. Feillet, ed. *Cereal chemistry and technology: Along past and a bright future*, p. 83-93. INRA, Montpellier, France.

Pomeranz, Y. (1971). *Wheat Chemistry and Technology*, American Association of Cereal Chemists, E.U.A, p.p: 301, 304, 360-364, 718, 719.

Pomeranz, Y. (1987). *Modern Cereal Science Technology*, VCH Publishers, Inc., p.p: 34,35, 184,185,186.

Queensberry, L.P. (1967). *Wheat and Wheat improvement*, American Society of Agronomy, Madison Wisconsin, p.p: 7,8,16,17,19-23,226.

McKendry, A. L., Tangué, Finney, P.L., and Miskin., K.E. (1996). Effect of 1BL / 1RS on agronomic performance of soft red winter wheat. *Crop Science*, 36: 844-847.

Norma Oficial Mexicana NOM-FF-36-1995-SCFI

Villareal, R., Bañuelos, O, Mujeeb-Kazi, A., and Rajaram, S. (1998). Agronomic performance of chromosomes 1R and 1B/1RS near-isolines in the spring bread wheat Seri M82.. *Euphytica*, 103: 195-202.

Weggels, L., Orsel, R., Pijpekamp, A., Lichtendonk, W., Hamer, R., and Schofield, J. (1995). Functional properties of low Mr. wheat proteins, II. Effects on dough properties. *Journal of Cereal Science*, 21: 117--126.

Wrigley, W. and Bekes, F. (1999). Glutenin- protein formation during the continuum from anthesis to processing. *Feature*: 44: 572-576.

Zeven, A. and Moonen, H. (1984). SDS-PAGE of the high-molecular weight subunits of wheat glutenins and the characterization of 1R (1B) substitution and 1BL/1RS translocation lines. *Euphytica*, 33: 3-8.

5B ANEXOS

CLASIF.	HUMI 1	HUMI 2	PROF 1	PROF 2	MIXTIM 1	ESTAB 1	ALATURA	MIXTIM 2	ESTAB 2	ALATURA 2	PAC 1	PAC 2	PA 1	PA 2	W1	W2	GLUTEN 1	GLUTEN 2	SIF 1	SIF 2	VOI PAN 1	VOI PAN 2	TEXT 1	TEXT 2	COLOM 1	COLOM 2	
17992+10	Y	127	124	115	113	2	42	47	21	4	48	6	59	16	15	325	387	0.88	0.85	7.5	7.5	350	360	F	F	MP	C
	Y	126	125	106	108	2.5	33	52	2.5	34	23	9.2	9	28	26	324	379	0.7	0.74	9	8.5	335	375	F	F	LP	C
	Y	121	119	11	109	2.5	52	51	24	52	52	7.1	7.4	19	10	306	397	0.81	0.81	8.5	8.5	300	360	F	F	MP	C
17993+10	Y	124	124	111	111	2	23	53	2	33	57	5.8	6.1	22	24	328	343	0.76	0.78	7.5	7.5	480	460	F	F	P	C
	Y	126	127	109	109	2.3	52	52	2.3	51	51	10.2	9	32	29	379	427	0.7	0.71	7	7	350	310	F	F	MP	C
	Y	127	126	111	111	14	32	5	2	31	52	5.2	5.1	12	11	343	377	0.9	0.85	7.5	7	400	420	F	F	P	C
17994+12	Y	127	127	115	114	14	23	53	1.9	42	52	4.7	4.5	11	10	327	361	0.72	0.84	8.5	8.5	405	448	MB	B	P	C
	Y	128	127	111	111	2	23	53	2	31	52	4.8	4.8	11	10	328	361	0.78	0.78	8.5	8.5	405	448	MB	B	P	C
	Y	124	124	113	112	2	52	53	1.5	31	52	7.6	7.5	22	19	274	331	0.73	0.79	8.5	9	500	425	B	R	MP	C
17995+12	Y	128	128	111	111	2	43	54	1.8	42	55	4.9	5.3	12	13	265	327	0.76	0.73	8	8	400	440	F	B	LP	C
	Y	121	118	109	107	2.1	4	5	14	35	51	5.1	5.3	16	13	233	247	0.79	0.81	7	7.5	495	495	B	B	P	C
	Y	121	121	119	119	33	53	53	32	55	53	7.1	6.5	19	15	387	481	0.88	0.9	8.5	8	410	415	B	R	P	C
17996+10	Y	121	126	114	115	21	23	58	2	33	58	6.3	6.7	16	17	256	288	0.89	0.91	9.5	9.5	475	501	MB	MB	MP	C
	Y	126	124	111	112	22	22	52	2	33	56	5.1	5.1	15	13	258	295	0.73	0.74	9	8.5	430	430	B	B	LP	C
	Y	127	126	111	109	2.5	35	54	24	35	58	5.5	5.7	13	13	320	355	0.91	0.91	9	9	485	478	B	B	LP	C
17997+10	Y	125	125	117	117	23	33	61	24	33	57	4.6	4.8	11	10	350	411	0.4	0.9	9	8.5	465	490	B	B	LP	C
	Y	126	124	114	115	2.5	44	49	2.5	5	5	5	5	13	12	337	342	0.86	0.87	9.5	9	480	375	B	R	MP	C
	Y	122	122	116	117	23	42	52	22	4	53	4.5	4.4	11	11	402	442	1	0.99	9	8.5	510	500	MB	P	P	C
17998+10	Y	123	124	109	109	21	43	53	1.5	42	57	4.1	34	1	0.8	296	340	0.81	0.84	8	8.5	460	425	R	R	P	C
	Y	125	125	115	114	3	41	58	32	44	57	6.5	5.7	17	12	402	529	0.78	0.78	8	8.5	450	440	B	B	P	C
	Y	129	129	107	108	31	41	56	33	52	43	5.2	54	12	12	342	358	0.78	0.8	8.5	8.5	375	400	R	R	LP	C
17999+12	Y	125	125	119	12	2	-23	61	2	23	61	8.1	8.2	22	22	286	304	0.99	1.03	10	9.5	495	480	B	B	LP	AC
	Y	125	126	112	11	24	4	57	23	34	57	5.7	5.9	14	14	283	315	0.87	0.84	9.5	9.5	495	450	B	R	MP	C
	Y	128	123	113	115	24	63	48	24	83	5	2.5	2.6	43	47	338	331	0.87	0.9	9	9.5	515	480	B	MB	LP	C

'Chinese Spring' HMW subunits (standards)

