

**JACEK WAGA****MARIA STACHOWICZ****KATARZYNA KARSKA**

Zakład Roślin Zbożowych

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Kraków

## Polimorfizm białek gliadynowych i gluteninowych a zmienność cech technologicznych u mieszańców orkiszu i pszenicy zwyczajnej

### Polymorphism of gliadins and HMW glutenins and variability in quality traits in hybrid genotypes of spelt and common wheat

Czterdzieści osiem linii mieszańcowych orkiszu i pszenicy zwyczajnej (Oberkummler Rotkorn × LAD 480) analizowano pod kątem różnicowania białek zapasowych (gliadyn i glutenin wysokocząsteczkowych [HMW]) oraz ważniejszych cech jakościowych: liczby sedimentacji, procentowej zawartości białka ogółem, zawartości glutenu, a także właściwości reologicznych określonych na podstawie analizy farinograficznej i ekstensograficznej. Badane linie podzielono na trzy grupy. Każda grupa obejmowała po dwa, blisko spokrewnione biotypy. Rośliny w obrębie grupy były jednolite fenotypowo natomiast biotypy różniły się gliadynami kontrolowanymi przez dwa alleliczne warianty w obrębie jednego locus. Na podstawie testu *t* Studenta stwierdzono istotne różnicowanie średnich wartości liczby sedimentacji biotypów różniących się pod względem białek warunkowanych przez locus *Gli B2* (chromosom 6B) oraz brak takiego różnicowania w przypadku locus *Gli B1* (chromosom 1B). Z kolei biotypy różniące się pod względem trzech loci (*Gli B1*, *Gli D1* oraz *Gli A2*) oraz podjednostek glutenin [HMW] (5+10 i 2+12 kontrolowanych chromosomem 1D) wykazywały znaczne różnicowanie większości cech technologicznych — liczby sedimentacji, procentowej zawartości białka ogółem oraz parametrów reologicznych. Uzyskane wyniki dowodzą, że bloki białek gliadynowych warunkowanych przez locus *Gli B2* są silnie powiązane ze zmiennością cech jakościowych co sugeruje możliwość ich wykorzystania do selekcji genotypów mieszańcowych o lepszych właściwościach technologicznych.

**Słowa kluczowe:** orkisz, gliadyny, gluteniny, cechy jakościowe

Spelt wheat cultivar Oberkummler Rotkorn and common wheat breeding line LAD 480 differ in the composition of storage proteins and in some important quality traits. Moreover, cv. Oberkummler Rotkorn contains two specific gliadin blocks coded by chromosomes 1B and 6B (*Gli B1-6* and *Gli B2-3*). Such blocks have not so far been observed among wheat genotypes cultivated and examined in Poland. The aim of the study was to estimate the genetic relationships between spelt specific gliadin protein blocks and variability in sedimentation value, total protein content and gluten content as well

as rheological properties evaluated by farinograph and extensograph analyses. Differentiation of average values for quality traits in closely related F<sub>5</sub> hybrid genotypes was estimated by Student *t* test. Significant differences in sedimentation values between the genotypes varying in gliadins coded by the chromosome 6B, but not 1B, were found. In hybrid lines differing in three gliadin coding *loci* (*Gli B1*, *Gli D1* and *Gli A2*) significant differences in sedimentation value, protein content and rheological parameters were observed. As the HMW glutenin subunits in all the genotypes analyzed were uniform, a conclusion can be drawn that the examined gliadin protein blocks were the main factors responsible for the observed differentiation in technological parameters.

**Key words:** spelt, gliadins, glutenins, wheat quality

## WSTĘP

Orkisz (*Triticum aestivum* ssp. *spelta*) jest jednym z sześciu podgatunków pszenicy heksaploidalnej (MacKey, 1966). Od pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* ssp. *vulgare*) różni się między innymi składem oraz budową fizykochemiczną białek zapasowych — gliadyn i glutenin o wysokiej masie cząsteczkowej (gluteniny [HMW]). Liczne prace badawcze z wykorzystaniem technik rozdzielania elektroforetycznego dostarczyły informacji na temat specyfiki oraz zróżnicowania frakcji białkowych w odmianach uprawnych i formach prymitywnych orkiszu. Za jedną z takich cech charakterystycznych uważa się brak kilku prążków zlokalizowanych w strefie wolno migrujących  $\omega$ -gliadyn określanymi symbolem  $\omega$ -1.2 (w odróżnieniu od szybciej migrujących — w warunkach elektroforezy A-PAGE — frakcji  $\omega$ -5) (Federmann i in., 1992). Podobne zjawisko obserwowano w Zakładzie Roślin Zbożowych IHAR w Krakowie (ZRZb IHAR) z tym, że w naszych pracach częstotliwość nietypowych wariantów białkowych była zbyt niska, aby można uznać je za cechę specyficzną (wyniki nie opublikowane). Badania porównawcze białek gluteninowych [HMW] wykazały, że podjednostki 13+16 warunkowane przez *locus Glu B1* pojawiają się znacznie częściej u orkiszu niż pszenicy zwyczajnej (Piergiovanni i Blanco, 1999). Z kolei analiza związku genetycznego frakcji białek zapasowych z różnymi cechami użytkowymi pozwoliła stwierdzić, że obecność lub brak jednego spośród kilku zidentyfikowanych prążków elektroforetycznych  $\gamma$ -gliadyn jest powiązana z miękką lub twardą strukturą bielma ziarniaków w odmianach jarych (Abdel-Aal i in., 1996 a).

Badania prowadzone w ZRZb IHAR pozwoliły zidentyfikować kilka specyficznych dla orkiszu bloków gliadyn, których nie obserwowano wcześniej u odmian i rodów pszenicy zwyczajnej. Na szczególną uwagę zasługuje grupa prążków  $\omega$ -5 obecnych w odmianie Oberkummler Rotkorn. Stanowią one blok białkowy, który oznaczono symbolem *Gli B1-6*, a który w grupie mieszańców z odmianą Elena wykazywał silne powiązanie z wysoką zawartością białka w ziarniakach (Waga, 2003). Ponadto stwierdzono, że jest on markerem czerwonego zabarwienia kłosów co wynika ze sprzężenia *locus Glu B1* z genem *rg1* odpowiadającym za syntezę barwnika. Specyficzne kombinacje prążków obserwowano też w strefie  $\beta$ -gliadyn, gdzie nakładają się białka warunkowane chromosomami 6B i 6D (bloki *Gli B2-3* oraz *Gli D2-2*) (Waga, 2005). Natomiast analiza białek gluteninowych [HMW] pozwoliła nam zidentyfikować obecność dwóch nowych podjednostek, z których jedna (typu x) wykazuje masę cząsteczkową pośrednią w stosunku do *Glu B1-6* i *Glu B1-7*, natomiast druga (typu y) jest nieco cięższa od podjednostki *Glu B1-8* (wyniki nie

opublikowane). Ich lokalizacja na obrazie elektroforetycznym pozwala przypuszczać, że są one warunkowane przez *locus* na chromosomie 1B.

Polimorfizm białek zapasowych jest jednym z ważniejszych czynników odpowiedzialnych za zmienność cech reologicznych oraz wypiekowych odmian i rodów pszenicy. Konsekwencją specyficznej budowy fizykochemicznej białek są nietypowe właściwości technologiczne orkiszu. W powszechnej opinii jest on uważany za formę wysokobiałkową. Jednakże wysoka zawartość białka nie jest skorelowana z wysoką jakością (Ranhotra i in., 1995). W efekcie gluten charakteryzuje się znaczną rozciągliwością, lecz słabą elastycznością, a ciasto ma stosunkowo niską energią określoną na podstawie wyników analizy ekstensograficznej. Jako jedną z przyczyn niekorzystnych cech jakościowych białek orkiszu wymienia się między innymi zbyt wysoki stosunek frakcji o niskiej masie cząsteczkowej do frakcji cięższych (Schober i in., 2006). Przytoczona charakterystyka nie jest jednak uniwersalna. Wśród znanych form orkiszu których — podobnie jak u odmian i rodów pszenicy zwyczajnej — można także obserwować zróżnicowanie właściwości technologicznych (Bonafaccia i in., 2000).

Mimo wielu cech prymitywnych, charakterystycznych dla starych form pszenicy (łamliwa osadka kłosowa, grube i twarde plewy, trudno wymłacalne ziarno), orkisz ma także szereg cech korzystnych, jak np. wspomniana wcześniej podwyższona zawartość białka czy lepsze — w porównaniu do pszenicy zwyczajnej — właściwości odżywcze i zdrowotne. Hodowcy usiłują przenieść te korzystne cechy do odmian uprawnych, jednakże dotychczas nie została zarejestrowana w Polsce jeszcze żadna odmiana pochodząca z krzyżowań orkiszu i pszenicy zwyczajnej.

Celem niniejszego opracowania było stwierdzenie czy specyficzne dla orkiszu bloki białek gliadynowych, warunkowane przez *loci Gli B1* oraz *Gli B2*, są powiązane ze zmiennością cech jakościowych i czy mogą być one wykorzystane do selekcji genotypów o podwyższonej jakości technologicznej w populacjach mieszańcowych orkiszu i pszenicy zwyczajnej.

## MATERIAŁ I METODY

### Material roślinny

Przedmiotem badań były linie mieszańcowe uzyskane z kombinacji krzyżowań wykonanych pomiędzy orkiszem (Oberkummler Rotkorn [OKR]) i rodem LAD 480. Począwszy od pokolenia F<sub>2</sub> włącznie prowadzono selekcję genotypów pod kątem zróżnicowania frakcji białek gliadynowych warunkowanych przez *loci Gli B1* oraz *Gli B2*. Wybierano genotypy ujednoczone pod względem cech fentypowych, składu białek gluteninowych [HMW] białek gliadynowych warunkowanych przez *loci Gli A1*, *Gli D1*, *Gli A2* oraz *Gli D2*. W pokoleniu F<sub>5</sub> uzyskano trzy zestawy linii mieszańcowych odpowiadających założonym kryteriom selekcji. W obrębie każdego zestawu uzyskano po dwa biotypy różniące się jednym blokiem gliadyn. Pierwszy zestaw obejmował 20 linii (10 zawierających blok *Gli B1-1* i 10 zawierających blok *Gli B1-6*). Drugi zestaw obejmował 14 linii (siedem z blokiem *Gli B2-1* i siedem z blokiem *Gli B2-3*). W trzecim zestawie biotypy

różniły się pod względem trzech loci (*Gli B1*, *Gli D1* oraz *Gli A2*), a każdy z biotypów obejmował siedem linii mieszańcowych.

Uzyskane linie rozmnażano przez trzy kolejne lata (2006, 2007 i 2008) w ZRZb IHAR. W pierwszych dwóch latach zakładano poletka 5-rzędowe natomiast w ostatnim roku materiały wysiano na poletkach o powierzchni 2 m<sup>2</sup>. Zebrany materiał przeznaczano do badań laboratoryjnych.

#### **Analizy elektroforetyczne**

We wszystkich latach badań wykonywano analizy białek gliadynowych oraz glutenin [HMW] metodami rozdziału elektroforetycznego na żelu poliakryloamidowym. Gliadyny rozdzielano metodą elektroforezy natywnej w środowisku buforu mleczanowo-glinowego, pH = 3,1 (A-PAGE), natomiast gluteniny [HMW] metodą elektroforezy w środowisku zasadowym buforu tris-HCl z dodatkiem soli sodowej siarczanu dodecyłu (SDS-PAGE) (Bushuk i Zillman, 1978; Laemmli, 1970). Stosowano standardowe procedury rozdziału wprowadzając nieznaczne modyfikacje pozwalające dostosować je do warunków laboratoryjnych ZRZb IHAR. Szczegóły techniczne obu metod opisano we wcześniejszych pracach (Waga, 1997).

Analizowano po 20 ziarniaków każdej linii. Obrazy elektroforetyczne białek gliadynowych interpretowano na podstawie katalogu opracowanego w ZRZb IHAR, natomiast podjednostki glutenin [HMW] na podstawie katalogu P.I. Payne'a (Payne i Lawrence, 1983; Waga, 2007).

#### **Ocena jakości technologicznej**

Cechy jakościowe badanych linii mieszańcowych określono na podstawie średnich wartości liczby sedymentacji oraz procentowej zawartości białka ogółem (zawartości białka) uzyskanych na przestrzeni trzech lat badań. Liczbę sedymentacji oznaczano testem Axforda, który stanowi modyfikację tradycyjnej metody opracowanej przez Zeleny'ego polegającą na dodaniu 2% SDS do 26 mM roztworu kwasu mlekowego (Axford i in., 1979; Zeleny i in., 1960). Zawartość białka oznaczano metodą NIR przy użyciu aparatu Infratec 1255 Food and Feed Analyzer. Istotność zróżnicowania trzyletnich średnich wartości badanych wskaźników jakościowych między biotypami w obrębie trzech zestawów linii mieszańcowych oszacowano na podstawie testu *t*-Studenta.

Właściwości reologiczne badanych mieszańców oceniono dla materiałów zebranych w ostatnim roku badań. Analizy farinograficzne wykonywano standardową metodą ISO 5530-1 wykorzystaniem aparatu firmy Brabender (GmbH, Germany) natomiast analizy extensograficzne wykonywano na aparacie Brabendera metodą opracowaną przez International Cereal Chemists (ICC Standard 114).

## WYNIKI

Formy rodzicielskie użyte do krzyżowań różniły się pod względem składu białek gliadynowych, glutenin [HMW], liczby sedymentacji i zawartości białka (tab. 1). Spośród sześciu bloków gliadynowych tylko jeden (*Gli A1-5*) był wspólny dla orkiszu i rodu LAD 480. Białka z grupy  $\omega$ -1.2 warunkowane chromosomem 1D (*Gli D1-1.1* i *Gli-D1-1.2*) były zbliżone do siebie, choć nie identyczne.

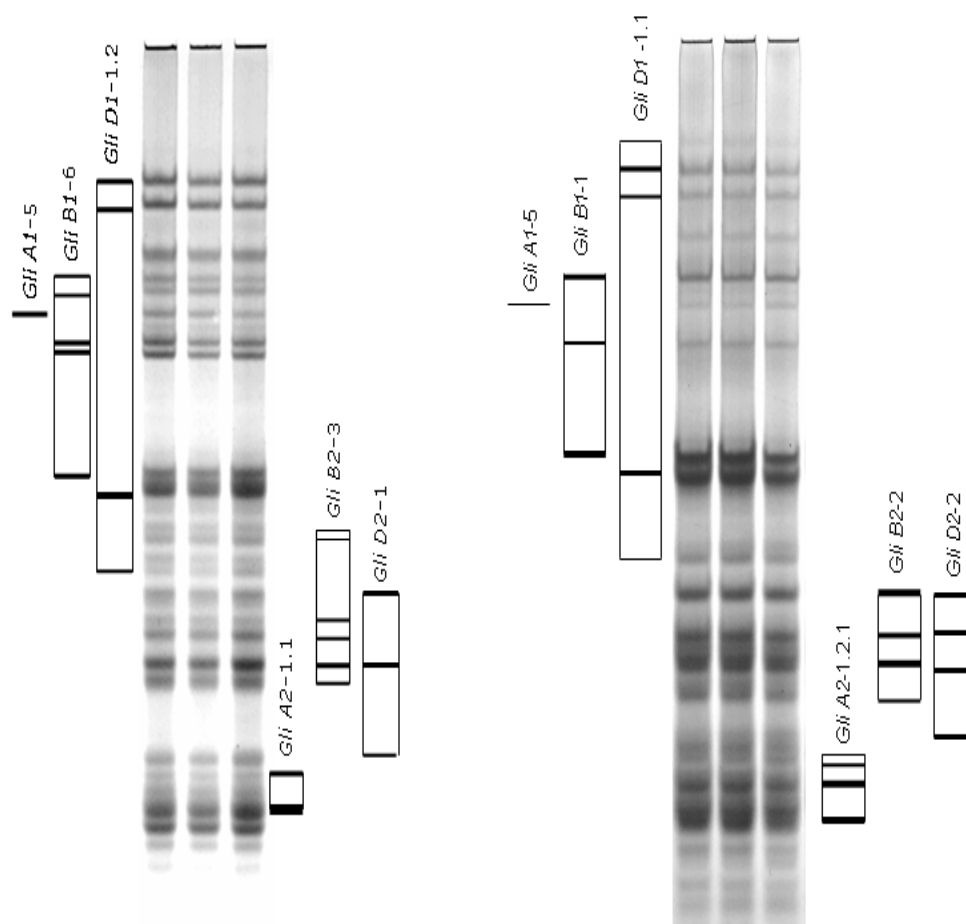
Tabela 1

**Bloki białek gliadynowych, gluteninowych HMW oraz wartości liczby sedymentacji i procentowej zawartości białka ogółem dla form rodzicielskich**  
**Gliadin and HMW glutenin protein blocks, sedimentation value and total protein content of parental components**

| Genotyp<br>Genotype | <i>Gli A1</i> | <i>Gli B1</i> | <i>Gli D1</i> | <i>Gli A2</i> | <i>Gli B2</i> | <i>Gli D2</i> | <i>Glu A1</i> | <i>Glu B1</i> | <i>Glu D1</i> | Ls | Białko<br>Protein |
|---------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|----|-------------------|
| LAD 480             | 5             | 1             | 1.1           | 1.2.1         | 2             | 2             | null          | 7+9           | 5+10          | 74 | 12,40             |
| Orkisz              | 5             | 6             | 1.2           | 1.1           | 3             | 1             | null          | or            | 2+12          | 57 | 17,10             |

Ls — Liczba sedymentacji (ml); Sedimentation value (ml)

Białko — Procentowa zawartość białka ogółem; Total protein content (%)



**Rys. 1. Bloki białek gliadynowych charakterystyczne dla orkisz Oberkummler Rotkorn i rodu LAD 480**  
**Fig. 1. Gliadin protein blocks of spelt wheat (Oberkummler Rotkorn) and breeding line LAD 480**

Należą one do jednej rodziny bloków, za czym przemawia obecność zarówno prążków identycznych, jak i specyficznych w obrębie każdego bloku. Pozostałe frakcje białkowe warunkowane chromosomami 1B, 6A, 6B i 6D wykazywały istotne zróżnicowanie budowy fizykochemicznej (rys. 1). Wśród białek gluteninowych [HMW] zidentyfikowano podjednostki *Glu D1-5+10* dla rodu LAD 480 oraz *Glu D1-2+12* dla orkisz. Ponadto orkisz zawierał dwie specyficzne podjednostki warunkowane chromosomem 1B (*Glu B1-or*). Pod względem rozpatrywanych cech jakościowych ród LAD 480 charakteryzował się wyższymi wartościami liczby sedymentacji natomiast orkisz wykazywał znacznie wyższą zawartość białka we wszystkich latach badań.

Tabela 2

**Formuły elektroforetyczne białek gliadynowych i gluteninowych [HMW] wytworzonych linii mieszańcowych**  
**Electrophoretic formulas of gliadins and HMW glutenins in analyzed hybrid genotypes**

| Biotypy<br>Biotypes | Gli A1 | Gli B1 | Gli D1 | Gli A2 | Gli B2 | Gli D2 | Glu A1 | Glu B1 | Glu D1 |
|---------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| A                   | 5      | 1      | 1.2    | 1.1    | 2      | 1      | N      | or     | 2+12   |
| B                   | 5      | 6      | 1.2    | 1.1    | 2      | 1      | N      | or     | 2+12   |
| C                   | null   | 1      | 1.2    | 1.1    | 2      | 1      | N      | or     | 2+12   |
| D                   | null   | 1      | 1.2    | 1.1    | 3      | 1      | N      | or     | 2+12   |
| E                   | 5      | 1      | 1.1    | 1.2.1  | 3      | 1      | N      | or     | 2+12   |
| F                   | 5      | 6      | 1.2    | 1.1    | 3      | 1      | N      | or     | 5+10   |

Celem określenia związku genetycznego białek zapasowych z cechami jakościowymi porównywano średnie wartości liczby sedymentacji oraz procentowej zawartości białka ogółem blisko spokrewnionych biotypów w trzech grupach linii mieszańcowych, a istotność zróżnicowania średnich oszacowano testem *t*-Studenta. W pierwszej grupie mieszańców biotypy A i B różniły się blokami warunkowanymi przez *locus* na chromosomie 1B (biotyp A — blok *Gli B1-1*, biotyp B — blok *Gli B1-6*). Analiza statystyczna nie wykazała istotnego zróżnicowania średnich wartości porównywanych cech ani dla liczby sedymentacji ani dla zawartości białka (tab. 3).

Tabela 3

**Test *t*-Studenta dla liczby sedymentacji oraz procentowej zawartości białka ogółem linii mieszańcowych zróżnicowanych pod względem białek gliadynowych warunkowanych chromosomem 1B (*locus Gli B1*)**  
**Student *t* test for sedimentation value and total protein content of hybrid genotypes differentiated in respect of gliadin proteins coded by the chromosome 1B (*locus Gli B1*)**

| Cecha<br>Trait                                       | Biotypy<br>Biotypes | N        | Średnia<br>Mean | T     |
|--|---------------------|----------|-----------------|-------|
| Liczba sedymentacji (ml)<br>Sedimentation value (ml) | A<br>B              | 10<br>10 | 62,70<br>58,50  | 1,182 |
| Zawartość białka (%)<br>Total protein content (%)    | A<br>B              | 10<br>10 | 13,17<br>12,10  | 1,848 |

W drugiej grupie mieszańców biotypy C i D różniły się blokami warunkowanymi chromosomem 6B (biotyp C — blok *Gli B2-2*, biotyp D — blok *Gli B2-3*). Porównanie

średnich wartości liczby sedymentacji dowodzi silnego zróżnicowania tej cechy ( $p < 0,001$ ) przy czym linie w obrębie biotypu C, w których zidentyfikowano blok pochodzący z rodu LAD 480, wykazywały znacznie wyższe wartości niż linie D zawierające blok z orkiszu (tab. 4). Rozpatrywane bloki gliadyn nie różnicowały natomiast biotypów C i D pod względem zawartości białka. W trzeciej grupie biotypy E i F różniły się trzema blokami gliadyn warunkowanych chromosomami 1B, 1D i 6A. W przypadku linii E wszystkie trzy bloki pochodziły z rodu LAD 480 natomiast w liniach F z orkiszu. Pozostałe bloki warunkowane chromosomami 6B i 6D były identyczne w obu biotypach i pochodziły z orkiszu (*Gli B2-3* oraz *Gli D2-1*). Tak więc biotyp F zawierał pięć natomiast E tylko dwa bloki gliadyn pochodzące z orkiszu. Ponadto oba biotypy różniły się składem białek gluteninowych [HMW]: E zawierał podjednostki 2+12 natomiast F — podjednostki 5+10. Oszacowanie średnich wartości liczby sedymentacji i zawartości białka obu biotypów na podstawie testu *t* Studenta wykazało istotne zróżnicowanie obu cech (odpowiednio:  $t = 16,397$  i  $t = 10,823$ ), przy czym zdecydowanie wyższe wartości obu wskaźników jakościowych stwierdzono w przypadku biotypu F łączącego białka gliadynowe orkiszu i podjednostki 5+10 z rodu LAD 480 (tab. 5).

Tabela 4

**Test *t*-Studenta dla liczby sedymentacji oraz procentowej zawartości białka ogółem linii mieszańcowych zróżnicowanych pod względem gliadyn warunkowanych chromosomem 6B (*locus Gli B2*)**  
**Student *t* test for sedimentation value and total protein content of hybrid genotypes differentiated in respect of gliadin proteins coded by the chromosomes 6B (*locus Gli B2*)**

| Cecha<br>Trait            | Biotypy<br>Biotypes | N | Średnia<br>Mean | T        |
|---------------------------|---------------------|---|-----------------|----------|
| Liczba sedymentacji (ml)  | C                   | 7 | 52,0            | 9,677*** |
| Sedimentation value (ml)  | D                   | 7 | 41,1            |          |
| Zawartość białka (%)      | C                   | 7 | 14,16           | 0,735    |
| Total protein content (%) | D                   | 7 | 14,34           |          |

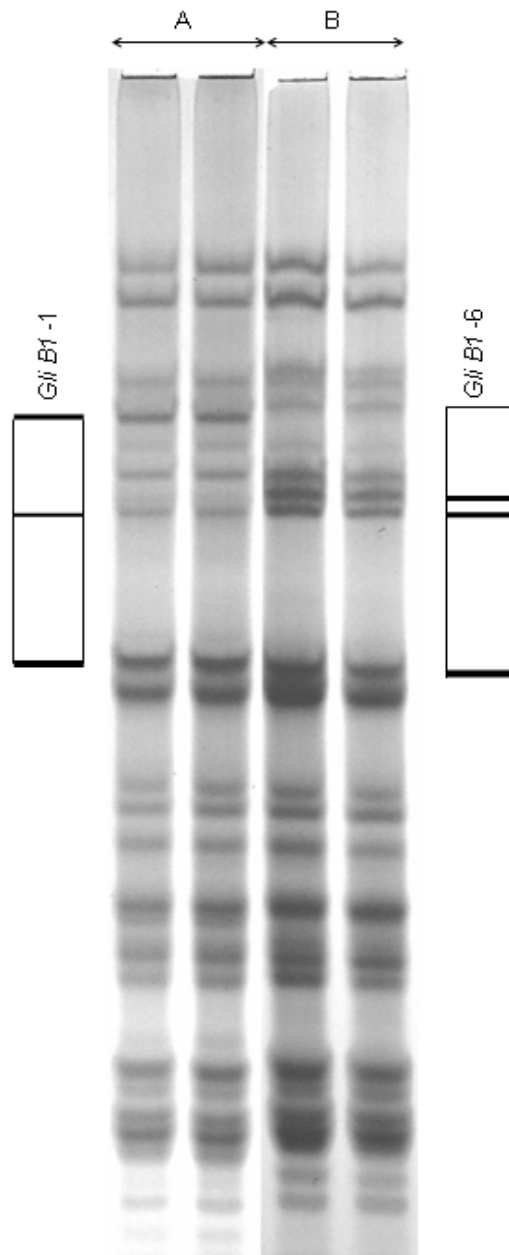
\*\*\* Istotne dla  $P = 0,001$ ; Significant at  $P = 0.001$

Tabela 5

**Test *t*-Studenta dla liczby sedymentacji oraz procentowej zawartości białka ogółem linii mieszańcowych zróżnicowanych pod względem gliadyn warunkowanych chromosomami 1B, 1D, 6A i 6D**  
**Student *t* test for sedimentation value and total protein content of hybrid genotypes differentiated in respect of gliadin proteins coded by the chromosomes 1B, 1D, 6A and 6D**

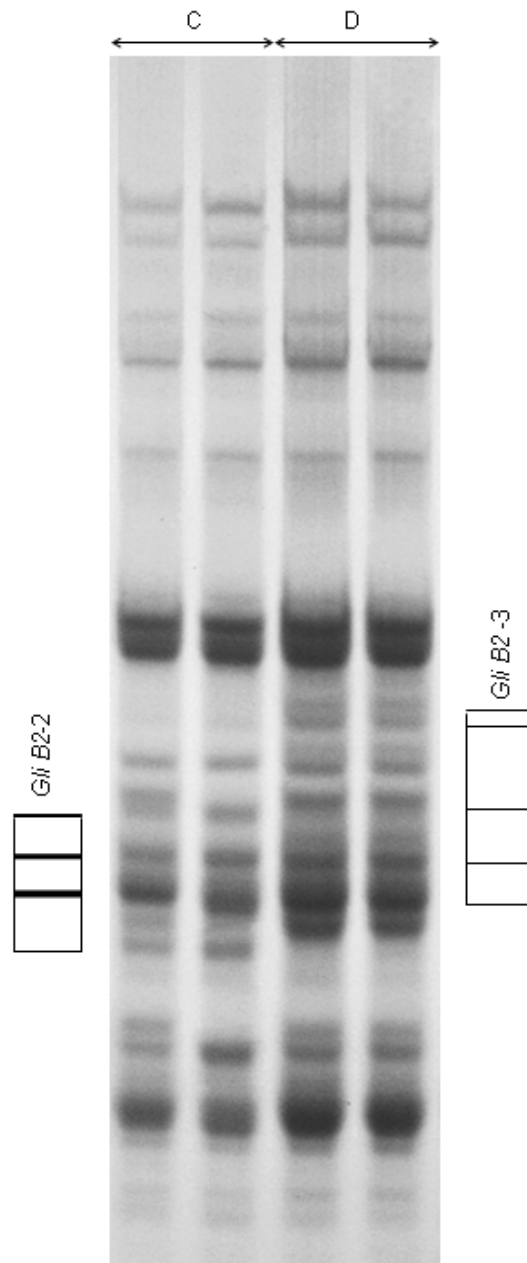
| Cecha<br>Trait            | Biotypy<br>Biotypes | N | Średnia<br>Mean | T         |
|---------------------------|---------------------|---|-----------------|-----------|
| Liczba sedymentacji (ml)  | E                   | 7 | 52,25           | 16,397*** |
| Sedimentation value (ml)  | F                   | 7 | 80,60           |           |
| Zawartość białka (%)      | E                   | 7 | 12,94           | 10,823*** |
| Total protein content (%) | F                   | 7 | 15,76           |           |

\*\*\* Istotne dla  $P = 0,001$ ; Significant at  $P = 0.001$

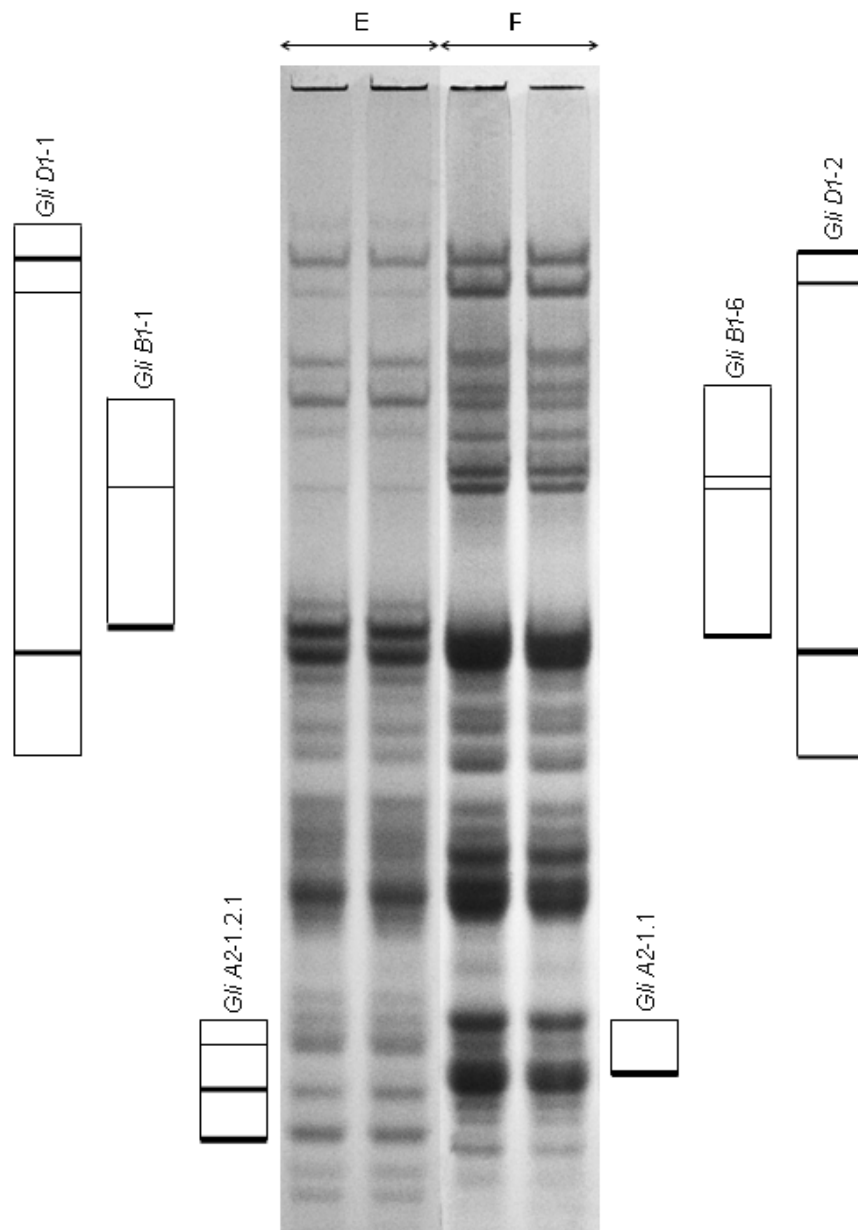


**Rys. 2. Obraz elektroforetyczny dwóch linii mieszańcowych (A i B) zróżnicowanych pod względem gliadyn warunkowanych chromosomem 1B**  
**Fig. 2. Electrophoregram of two hybrid genotypes (A and B) differing in gliadin protein blocks coded by chromosome 1B**





**Rys. 3. Obraz elektroforetyczny dwóch linii mieszańcowych (A i B) zróżnicowanych pod względem gliadyn warunkowanych chromosomem 6B**  
**Fig. 3. Electrophoregram of two hybrid genotypes (A and B) differing in gliadin protein blocks coded by chromosome 6B**



**Rys. 4. Obraz elektroforetyczny dwóch linii mieszańcowych (A i B) zróżnicowanych pod względem gliadyn warunkowanych chromosomami 1B, 1D i 6A.**  
**Fig. 4. Electrophoregram of two hybrid genotypes (A and B) differing in gliadin protein blocks coded by chromosomes 1B, 1D and 6A**

Porównanie wyników analizy farinograficznej i ekstensograficznej wykazało brak zdecydowanych różnic pod względem cech reologicznych w przypadku biotypów A i B oraz silne zróżnicowanie większości analizowanych parametrów między biotypami C i D oraz E i F (tab. 6). Szczególnie wysokie różnice odnotowano dla następujących parametrów: rozmięczenie, czas stałości ciasta, energia ciasta oraz liczba jakości. Korzystne wartości wymienionych cech stwierdzono dla biotypów C i F, gorsze dla D i E (podobnie jak w przypadku liczby sedymentacji i zawartości białka). Biotyp C charakteryzował się szczególnie wysoką rozciągliwością ciasta. W przypadku indeksu glutenowego obserwowano znaczne różnice wartości tego wskaźnika dla biotypów C i D (przy wyższej wartości biotypu C) natomiast u biotypów E i F były one niemal identyczne.

Tabela 6

**Właściwości reologiczne linii mieszańcowych orkisz i pszenicy zwyczajnej zróżnicowanych pod względem czterech loci warunkujących syntezę białek gliadynowych**  
**Rheological properties of hybrid genotypes of spelt and common wheat differing in four loci determining the synthesis of gliadin proteins**

| Biotypy<br>Biotypes | W    | R   | EC  | Wm   | CS   | LJ  | GM   | GI   |
|---------------------|------|-----|-----|------|------|-----|------|------|
| A                   | 53,0 | 140 | 81  | 66,2 | 3,5  | 43  | 38,4 | 47,5 |
| B                   | 53,2 | 140 | 84  | 68,9 | 4,1  | 46  | 36,7 | 50,0 |
| C                   | 58,5 | 100 | 68  | 65,6 | 5,1  | 68  | 40,9 | 61,4 |
| D                   | 59,0 | 115 | 48  | 65,2 | 3,7  | 56  | 44,0 | 43,5 |
| E                   | 56,7 | 100 | 55  | 62,9 | 4,0  | 52  | 36,3 | 73,9 |
| F                   | 60,2 | 80  | 85  | 68,2 | 7,3  | 92  | 40,0 | 72,3 |
| LAD 480             | 56,5 | 60  | 119 | 69,9 | 10,0 | 106 | 31,9 | 93,9 |

W — Wodochłonność (ml/100g); Water absorption

R — Rozmięczenie (FU); Weakening

EC — Energia ciasta (cm<sup>2</sup>); Dough strength (cm<sup>2</sup>)

Wm — Wymiał (%); Yield

CS — Czas stałości (min); Stability time

LJ — Liczba jakości (mm); Quality number

GM — Gluten mokry (%); wet gluten

GI — Indeks glutenowy; Index gluten

## DYSKUSJA

Genetycznie uwarunkowany polimorfizm białek zapasowych jest jedną z ważniejszych przyczyn zróżnicowania właściwości technologicznych odmian i rodów pszenicy. Powszechnie uważa się, iż pierwszorzędną rolę w kształtowaniu cech jakościowych odgrywają gluteniny [HMW]. Stanowią one wielkocząsteczkowe polimery zbudowane z podjednostek połączonych za pośrednictwem międzyłańcuchowych wiązań disulfidowych (Shewry i Tatham, 1997). Wysoka energia tych wiązań przekłada się na właściwości mechaniczne glutenu, z których najbardziej unikalną w porównaniu do innych gatunków roślin zbożowych, a jednocześnie najbardziej specyficzną dla pszenicy jest elastyczność (Shewry i in., 2003). W odróżnieniu od białek gluteninowych [HMW], gliadyny stanowią zbiór monomerów, które łączą się z innymi białkami za pośrednictwem wiązań niekowalencyjnych (Bietz, 1997). Z uwagi na znaczny polimorfizm gliadyn ich obraz

elektroforetyczny ułatwia identyfikację odmian i rodów pszenicy, umożliwia analizę genetyczną mieszańców w pokoleniu F<sub>2</sub>, a także służy do określania dystansu genetycznego między odmianami, rodami czy gatunkami pszenicy (Branlard i in., 2001). Przypisuje się im natomiast drugorzędą rolę w aspekcie związku z cechami jakościowymi (MacRitchie, 1992).

Wyniki przedstawionych badań zdają się przeczyć takiemu stereotypowi i dowodzą, że niektóre bloki gliadyn — podobnie jak gluteniny [HMW] — mogą mieć znaczący wpływ na kształtowanie cech jakościowych. W niniejszej pracy koncentrowano się głównie na wariantach białkowych kontrolowanych przez homeologiczne *loci* (*Gli B1* oraz *Gli B2*) na chromosomach 1B i 6B. Wykazano, że *locus* na chromosomie 6B warunkuje syntezę dwóch bloków gliadynowych, z których jeden (*Gli B2-2* z rodu LAD 480) zdecydowanie poprawia, a drugi (*Gli B2-3* z orkisz) pogarsza jakość genotypów mieszańcowych określoną na podstawie liczby sedymentacji. Co więcej, wyniki badań sugerują, że blok *Gli B2-2* może być powiązany z wysoką rozciągliwością ciasta i jego odpornością na zrywanie, co obserwowano w trakcie analizy ekstensograficznej. Zróżnicowanie wartości tego parametru w liniach różniących się pod względem allelicznych wariantów białkowych kontrolowanych przez *locus Gli 2* potwierdza istnienie związku gliadyn z rozciągliwością co jest zgodne z ogólną wiedzą na temat struktury i funkcji białek prolaminowych pszenicy, zgodnie z którą frakcja gluteniny odpowiada za elastyczność, a gliadyny za rozciągliwość matrycy glutenowej (Wrigley i in., 2006). Nasze wyniki dodatkowo wskazują na *Gli B2* jako na *locus* silnie powiązany ze zmiennością tej cechy.

Z kolei fakt, iż bloki białkowe *Gli B1-1* oraz *Gli B1-6* nie wykazywały obecnie istotnego wpływu na wartości analizowanych parametrów jakościowych dowodzi relatywnego charakteru zależności gliadyn ze zmiennością tych cech. Kształtuje się on różnie w zależności od tła genetycznego badanych mieszańców i komponentów rodzicielskich użytych do krzyżowań. Sugeruje to fakt, iż w naszych wcześniejszych doświadczeniach nad mieszańcami pochodzącymi z kombinacji Oberkummler Rotkorn × Elena blok orkisz *Gli B1-6* zdecydowanie podwyższał zawartość białka w ziarniakach analizowanych genotypów (Waga, 2003). Wpływ tła genetycznego na charakter zależności białkowo-technologicznych został też stwierdzony przez innych autorów (Branlard i Metakovsky, 2007).

W trakcie badań uzyskano dwa typy rekombinantów, z których jeden zawierał białka gliadynowe rodu LAD 480 i podjednostki gluteninowe [HMW] 2+12 pochodzące z orkisz (linie E), natomiast drugi zawierał gliadyny orkisz i podjednostki 5+10 z rodu LAD 480 (linie F). Wyniki badań technologicznych wykazały, że wartości oznaczonych parametrów jakościowych dla linii F były znacznie bardziej korzystne niż w przypadku linii E, a obserwowane różnice okazały się statystycznie istotne. Uzyskane wyniki sugerują, że łączenie na drodze rekombinacji gliadyn orkisz z podjednostkami 5+10, a następnie identyfikacja pożądaných rekombinantów na podstawie analizy elektroforetycznej może w przyszłości okazać się właściwym podejściem do problemu identyfikacji genotypów o optymalnych właściwościach technologicznych w populacjach mieszańcowych orkisz i pszenicy zwyczajnej. Weryfikacja tej hipotezy będzie celem naszych przyszłych badań.

Wyniki uzyskane w niniejszej pracy stanowią kolejny dowód, iż analiza elektroforetyczna połączona z identyfikacją bloków białek gliadynowych i gluteninowych [HMW] może stanowić efektywną metodę selekcji pozwalającą ułatwić wybór genotypów o lepszych cechach jakościowych w populacjach mieszańcowych orkiszu i pszenicy zwyczajnej.

#### LITERATURA

- Abdel-Aal E. S. M., Salama D. A., Hucl P., Sosulski F. W., Cao W. 1996 a. Electrophoretic characterization of spring spelt wheat gliadins. *J. Agric. Food Chem.* 44: 2117 — 2123.
- Axford D. W. E., McDermott E. E., Redman D. G. 1979. Note on the sodium dodecyl sulfate test of breadmaking quality: comparison with Pelschenke and Zeleny tests. *Cereal Chem.* 56: 582 — 584.
- Bietz J. A. 1997. Recent advances in the isolation and characterization of cereal proteins. *Cereal Foods World* 24:199 — 202.
- Bonafaccia G., Galli V., Francisci R., Mair V., Skranbanja V., Kreft I. 2000. Characteristics of spelt wheat products and nutritional value of spelt wheat-based bread. *Food Chem.* 68: 437 — 441.
- Branlard G.P., Dardevet M., Saccomano R., Lagoutte F., Gourdon J. 2001. Genetic diversity of wheat storage proteins and bread wheat quality. *Euphytica* 119: 59 — 67.
- Branlard G.P., Metakovsky E.V. Some *Gli* alleles related to common wheat dough quality. In: Gliadin and glutenin. The unique balance of wheat quality. Wrigley C., Bekes F., Bushuk W. eds. AACC International, St. Paul, Minnesota, USA. 2007: 115 — 139.
- Bushuk W., Zillman R. R. 1978. Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. I. Apparatus, method and nomenclature. *Can. J. Plant Sci.* 58:505 — 515.
- Federmann G. R., Goecke E. U., Steiner A. M. 1992. Research note: Detection of adulteration of flour of spelt (*Triticum spelta* L.) with flour of wheat (*Triticum aestivum* L. emend. Fiori et Paol.) by electrophoresis. *Plant Var. Seeds.* 5:123 — 125.
- ICC. 1992. Standard methods of the International Association for Cereal Science and Technology. Standard No. 114/1. Method for using the Brabender Extensograph. The Association: Detmold, Germany.
- ISO. 1988. International Organization for Standardization. Determination of water absorption and rheological properties using a farinograph. 5530-1. ISO: Geneva.
- Leammler U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680 — 685.
- MacKey J. 1966. Species relationships in *Triticum*. *Proc. Int. Wheat Genet. Symp.*, 2<sup>nd</sup>. (Hereditas Suppl.). 2: 237 — 276.
- MacRitchie F. 1992. Physicochemical properties of wheat proteins in relation to functionality. *Adv. Food Nut. Res.* 36: 1 — 85.
- Payne P. I., Lawrence G. J. 1983. Catalogue of alleles for the complex gene loci GluA1, GluB1, GluD1, which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Res. Commun.*, 11/1: 29 — 35.
- Piergiovanni A. R., Blanco A. 1999. Variation of HMW glutenin and  $\gamma$ -gliadin subunits in selected accessions of *Triticum dicoccon* (Shrank) and *T. spelta* (L.). *Cereal Res. Comm.* 27:205 — 211.
- Ranhotra G. S., Gelroth J. A., Glaser B. K., Lorenz K. J. 1995. Baking and nutritional qualities of a spelt wheat sample. *Lebensm. Wiss. Technol.* 28:118 — 122.
- Schober T. J., Bean S. R., Kuhn M. 2006. Gluten proteins from spelt (*Triticum aestivum* ssp. *spelta*) cultivars: a rheological and size-exclusion high-performance liquid chromatography study. *J. Cereal Sci.* 44: 161 — 173.
- Shewry P. R., Tatham A. S. 1997. Disulphide bonds in wheat gluten proteins. *J. Cereal Sci.* 25:207 — 227.
- Shewry P. R., Halford N. G., Belton P. S., Tatham A. S. 2003. Gluten, the elastomeric protein of wheat seed. In: *Elastomeric Proteins*. Shewry P. R., Tatham A. S., Bailey A. J. Eds. Cambridge University Press: 279 — 301.

- Waga J. 1997. Polimorfizm białek gliadynowych i gluteninowych a jakość pszenicy ozimej (*Triticum aestivum* L.), Biul. IHAR 204: 205 — 218.
- Waga J. 2003. Zmienność niektórych frakcji  $\omega$ -gliadyn a zawartość białka ogółem w potomstwie orkiszu i odmiany Elena. Biul. IHAR 228: 61 — 69.
- Waga J. 2005. Dziedziczenie wybranych frakcji białek gliadynowych u mieszańców orkiszu z pszenicą zwyczajną. Biul. IHAR 236: 25 — 40.
- Waga J. 2007. Katalog bloków białek gliadynowych polskich odmian i rodów pszenicy zwyczajnej. Biul. IHAR 243:3 — 23.
- Wrigley C. W., Bekes F., Bushuk W. 2006. Gluten: a balance of gliadin and glutenin. In: Gliadin and glutenin — the unique balance in wheat quality. Eds. C. Wrigley, F. Bekes and W. Bushuk: 3 — 35.
- Zeleny L., Greenway W. T., Gurney G. M., Fifield C. C., Lebsack K. L. 1960. Sedimentation value as the index of dough mixing characteristics in early-generation wheat selections. *Cereal Chem.* 37: 673.