

¹Instituto Victorio Trippi, CIAP, IFRGV, Camino de 60 cuerdas km 5,5, Córdoba

²EAA INTA Marcos Juárez, Ruta 12 s/n, Marcos Juárez

³Facultad de Ciencias Agropecuarias, UNC, Av. Ing. Agr. Félix A. Marrone 746, Córdoba

*nisi.maria@inta.gob.ar

Introducción

Uno de los objetivos de los programas de mejoramiento es la generación de variabilidad genética y el desarrollo de líneas con características de interés agronómico e industrial como puede ser su calidad panadera. Es conocido que las gluteninas de alto peso molecular tienen un impacto importante en la calidad. El objetivo de este trabajo fue desarrollar líneas portadoras de mutaciones en subunidades de gluteninas de alto peso molecular y evaluar su efecto sobre parámetros de calidad.

Materiales y Métodos

Desarrollo de las líneas portadoras de mutaciones en Glu1

A partir de una población mutagenizada con EMS (Etil- Metano Sulfonato) (Lombardo et al 2017) se identificaron 11 líneas mediante SDS-PAGE (Lerner, 2009) portadoras de nuevas mutaciones en los loci Glu1: Glu-A1 (3 líneas) 437 (nula 2*), 132.2 y 25 (corrimiento 2*), Glu-B1 (4 líneas) 660 (nula 7) 430 y 290 (corrimiento 7), 517 (corrimiento 8) y Glu-D1 (4 líneas) 93 (nula 5) 267 y 212 (nula 10) 121 (corrimiento 10) (Figura 1). Una vez seleccionadas las líneas M₂ y se realizó una retrocruza utilizando como recurrente la variedad original Baguette Premium 11 (B11), se la dejó autofecundar y se volvió a seleccionar mediante SDS-PAGE las líneas portadoras de las mutaciones en homocigosis. Estas plantas seleccionadas luego de sucesivas generaciones y selecciones se las multiplicó hasta la generación BC₁F₆.

Ensayo a campo, determinación de proteína y PH

Se sembraron parcelas de una superficie de 3 m² con una densidad de 250 plantas/m² (fertilización con nitrógeno 200kg/ha, azufre 15kg/ha y fósforo 57Kg/ha y control de enfermedades con pesticidas).

B11 es de ciclo intermedio, la 1° fecha de siembra fue el 29/05/2019 de 2019 con una repetición para las líneas 437, 430, 290, 121, 212, dos para las líneas 93, 25, 267, 132.2 y tres repeticiones para B11, 660, 517 según la disponibilidad de semillas. La 2° fecha fue el 10/06/2019 con una repetición para las líneas 121, dos para las líneas 132.2 y 267 y tres repeticiones para las líneas 660, 517 y B11. Se midió altura y rendimiento. Mediante espectroscopía NIR según método AACC 39-25 se determinó peso hectolítrico y porcentaje de proteína.

Capacidad de Retención de Solventes

Los granos se los acondicionó con un porcentaje de humedad de 14% y se molieron en un molino de rodillos provisto con un tamiz de 250 µm según el protocolo AACC. Luego de obtenida la harina se realizaron pooles de las líneas repetidas ya que no había diferencia significativa en peso hectolítrico y porcentaje de proteína entre las repeticiones (B11p, 517p, 660p, 267p, 25p, 93p). El ensayo SRC se desarrolló método de la AACC 56-11 (2000) a partir de 5 g de harina que se suspendieron en 25 ml de los solventes: agua y ácido láctico 5%; las muestras se hidrataron durante 20 min y posteriormente se centrifugaron 15 min a 1000 x g. El precipitado obtenido se pesó y se determinó el porcentaje de SRC.

Análisis estadístico

Software INFOSTAT

Resultados

Se observaron diferencias significativas mediante ANOVA entre las líneas tanto en rendimiento, altura peso hectolítrico y porcentaje de proteína comparados con la variedad original. (Tabla 1)

Los análisis de la varianza para SRC de agua dieron diferencias significativas (p=0.002-cv=1,5 y R²= 0.9 para fecha 1 y p=0.0002-cv=0.99 y R²=0.97 para fecha 2) entre las líneas tanto de corrimiento como nulas, presentando las nulas porcentajes menores con respecto a la variedad original y las de corrimiento presentan valores mayores con respecto a B11.

Los análisis de la varianza para SRC de ácido láctico presentan un comportamiento similar a los SRC de agua (p<0.0001 cv=0.5 y R²=1 para fecha 1 y p<0.0001 cv=0.98 y R²=0.99 para fecha 2) lo cual indica que las diferencias se deben las gluteninas presentes en cada tipo de mutante (DLaudencia, 2012).

La figura 2 y 3 muestra un gráfico de barra para la fecha 1 y 2 del test de comparación de medias (DGC) de las líneas en el que se puede observar las mutantes nulas del lado izquierdo de B11 y las de corrimiento del lado derecho.

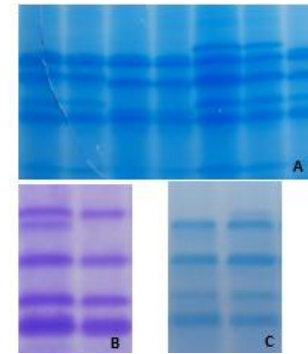


Figura 1: A-Mutantes de corrimiento: calles 1: mutante 430 (GluB1-7), 2: mutante 290 (GluB1-7), 3y4: mutante 517(GluB1-8), 5y6: mutante 25 (GluA1-2*), 7: B11 (WT). B y C Mutantes nulas B-calle 1: B11 (WT) y calle 2: mutante nula (GluD1-5); C calle 1: mutante nula (GluA1-2*); y calle 2: B11 (WT)

Tabla1: Muestra los valores máximos y mínimos con respecto a la variedad original B11 para las variables de altura, rendimiento, peso hectolítrico y porcentaje de proteína para la fecha 1 y 2.

Variable	p	cv-R ²	B11 original	Mínimo	Máximo	Fecha
Rendimiento	0,0398	18,04-0,87	4619,8	1827,1(-252%)	4259,1(-7.8%)	1
	0,002	12,28-0,86	4806,9	1784,8(-270%)	3638,1(-24%)	2
Altura	0,0007	4,46-0,9	71,56	55,33 (-22.7%)	78,34(9,5%)	1
	0,0006	4,35-0,89	72,22	60 (-17%)	80,34(11,2%)	2
Peso Hectolítrico	0,0027	0,59-0,97	77,43	72,99 (-6%)	77,67 (+0.3%)	1
	<0,0001	0,82-0,95	78,3	71,2 (-8%)	78,3 (+1%)	2
% Proteína	<0,0001	2,99-0,89	12,23	12,9 (+5.5%)	14,8 (+21%)	1
	<0,0001	1,41-0,95	13	13,85 (+6.5%)	15,2 (+16,9%)	2

Conclusiones

-Las líneas mutantes nulas presentaron valores más bajos en SRC de agua como de ácido láctico con respecto a la variedad original mientras que las mutantes de corrimiento presentaron valores más altos.

-Estos resultados evidencian por un lado un efecto negativo de las mutaciones nulas sobre la calidad del gluten y la calidad panadera de las harinas y por el otro un efecto positivo sobre los parámetros evaluados en las mutaciones de corrimiento de banda

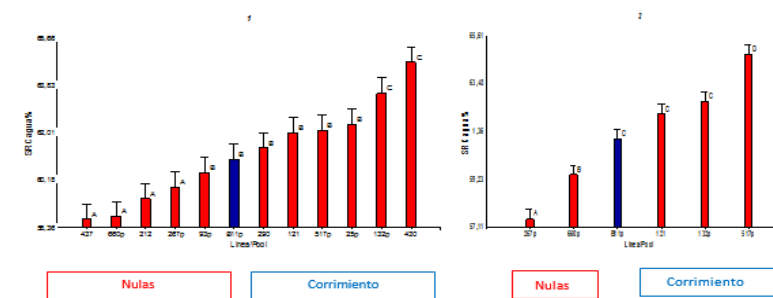


Figura 2: Comparación de medias (DGC) para SRC de agua para fecha 1 y 2.

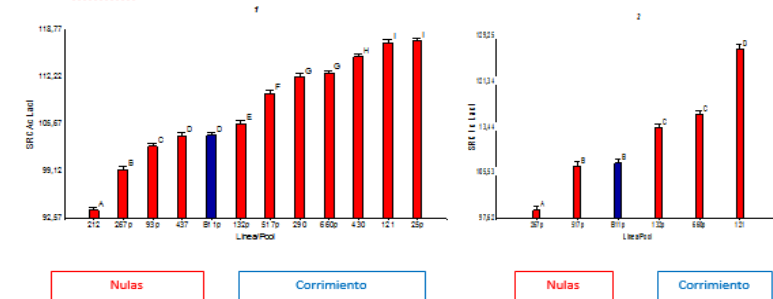


Figura 3: Comparación de medias (DGC) para SRC de ácido láctico para fecha 1 y 2. El recuadro rojo marca las líneas mutantes correspondientes a mutaciones nulas y el recuadro azul marca las mutantes de corrimiento de banda.

Bibliografía

- Lerner, S.E., Kolman, M.A., Rogers, W.J. 2009. Quality and endosperm storage protein variation in Argentinean grown bread wheat. I. Allelic diversity and discrimination between cultivars. *J. Cereal Sci.* **49**:337–345.
- Debbie Laudencia, Chincuanco, 2012. Isolation and characterization of EMS- induced Dy10 and Dx5 high molecular weight glutenins subunit deficient mutant line of elite hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) cv Summit. *Journal of Cereal Science* **56** 296-299
- Lombardo, L.A., Nisi, M.M., Salines, N. et al. Identification of novel high molecular weight glutenin subunit mutants in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Cytol. Genet.* **51**, 305–314 (2017). <https://doi.org/10.3103/S0095452717040028>