

CARACTERIZACIÓN DE PATRONES DE HORDEÍNAS EN VARIEDADES MEXICANAS DE CEBADA MALTERA

Marisol Salgado-Albarrán¹, Jorge Herrera-Díaz²
y Tzvetanka D. Dinkova^{1*}

¹Departamento de Bioquímica, ²Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y la Industria, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad Universitaria, Deleg. Coyoacán, C.P. 04510, México, D.F. E-mail: *cesy@unam.mx

RESUMEN

Un grupo de proteínas de almacenamiento muy abundantes en la semilla de cereales son las prolaminas que se caracterizan por contener muchos residuos de prolina en su secuencia. En cebada, las prolaminas son denominadas hordeínas. El propósito de este estudio fue obtener los patrones proteicos de bandeo mediante la técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida bajo condiciones desnaturalizantes para, hordeínas de semilla seca de cinco variedades mexicanas de cebada. Asimismo, se obtuvieron los patrones de hordeínas en malta procesada a partir de cuatro variedades mexicanas y una variedad canadiense (Metcalf). A continuación, algunas de las bandas diferenciales fueron identificadas mediante espectrometría de masas (EM) utilizando distintos protocolos de digestión. En los patrones de semilla seca se encontraron diferencias entre las variedades mexicanas para las bandas correspondientes a un peso molecular de 100 kDa, 65 kDa y algunas de 37-45 kDa. En el caso de la malta, los patrones de las variedades mexicanas fueron muy contrastantes entre sí, así como con el observado en Metcalfe, lo que sugiere que el procesamiento de hordeínas durante la germinación y el secado de la malta depende de cada variedad. Finalmente, en la identificación por EM se demostró que el uso de digestión con tripsina es adecuado para distinguir hordeínas B y γ en malta, mientras que el uso de digestión secuencial con quimotripsina y tripsina favorece la identificación de hordeínas C en semilla seca.

Palabras Clave: Cebada (*Hordeum vulgare*), espectrometría de masas, hordeínas, malta, patrones de bandeo.

ABSTRACT

A group of storage proteins highly abundant in cereal seeds are the prolamins, characterized by the frequent presence of proline in their sequence. The barley prolamins are known as hordeins. The aim of this study was to obtain the hordein banding patterns for five different Mexican barley cultivars in mature seeds. In addition, the hordein patterns in processed malt of four Mexican and a Canadian (Metcalf) barley cultivars were obtained. Mass Spectrometry (MS), using distinct digestion protocols, identified differential bands in the patterns. Major differences in the seed patterns between cultivars consisted in discrete bands at 100 kDa, 65 kDa and in the range of 37 to 45 kDa. In malt, the patterns were highly contrasting among Mexican cultivars as well as in Metcalfe, suggesting that hordein processing during germination and malt processing is particular to each cultivar. Finally, the MS identification demonstrated that trypsin digestion is appropriate to distinguish B and γ hordeins in malt, whereas sequential digestion with chymotrypsin and trypsin allows the identification of C hordeins in seed.

Key Words: Barley (*Hordeum vulgare*), mass spectrometry, hordeins, malt, banding patterns.

INTRODUCCIÓN

La cebada (*Hordeum vulgare*) es una planta de la familia de los pastos que se encuentra en quinto lugar en la producción mundial de granos. Tiene dos usos principales: como alimento y para la producción de malta y cerveza¹. La malta es el grano de cebada germinado y posteriormente secado en condiciones controladas. La composición del grano de cebada maduro y de la malta son determinantes para la calidad de la cerveza. Entre los componentes relevantes se encuentran las proteínas y entre ellas un grupo especial que son las prolaminas, proteínas de almacenaje, que en cebada son llamadas hordeínas. Las hordeínas presentan un alto grado de polimorfismo, y su acumulación y estabilidad en el grano se han relacionado frecuentemente con la calidad de la malta y cerveza^{2,3}. Es por ello que la caracterización de sus patrones en diversas variedades es parte crucial para el mejoramiento genético de la cebada.

Variedades de cebada en México

La cebada es una planta anual con distintas variedades, entre las que destacan aquéllas cuyas espigas presentan un ordenamiento de los granos en dos o seis hileras⁴. Cada variedad de cebada tiene diferencias en la composición de su semilla (entre otras características que en este trabajo no se abordan), y es de acuerdo a esto, que cada una tiene distinta calidad para su propósito final. Por ejemplo, la cebada sin cáscara requiere poco o casi ningún esfuerzo para su remoción durante el procesamiento del grano y por lo tanto, estas variedades son las más adecuadas para el consumo humano en forma de alimento. En contraste, la cebada con cáscara es preferida para la producción de cerveza debido a que este tejido contribuye al sabor y ayuda en las filtraciones respectivas. No obstante, es difícil distinguir el grano de cebada adecuado para cada uso, ya que existen pocos criterios que permiten diferenciar entre variedades¹.

Algunas variedades tienen un alto rendimiento en grano y producen semillas ricas en proteínas. Contrariamente, otras variedades tienen poca producción de granos, pero sus cualidades se adaptan bien a los procesos de malteo. Entre estas últimas, destaca la variedad Metcalfe de dos hileras (denominada HV2008-08, o simplemente 08 en este trabajo) por su desempeño durante el malteo, siendo una de las variedades preferidas para este fin⁵. En este estudio se utilizaron cinco variedades de cebada de seis hileras cultivadas en México: HV2005-04, HV2005-19, HV2007-23, HV2007-18, HV2008-11, denominadas en adelante como 04, 19, 23, 18 y 11, respectivamente. Las variedades 19, 23 y 18 se cultivan en la región del Bajío (Guanajuato, Querétaro, Michoacán y Jalisco) en condiciones de riego y las variedades 04 y 11 en el Altiplano (Hidalgo, Puebla Tlaxcala y Estado de México) en condiciones de temporal⁶. Estas variedades tienen diferentes propiedades, entre ellas su composición de proteínas.

Las hordeínas

Existe una gran familia de proteínas de almacenamiento en semillas de cereales llamadas prolaminas que constituyen una reserva de aminoácidos presentes en la semilla para ser utilizados durante el desarrollo embrionario de la planta. En el caso de las semillas de cebada, las prolaminas se denominan hordeínas, las cuales son almacenadas en forma de cuerpos proteicos en el endospermo y presentan polimorfismos entre los genotipos de la especie. La alta variabilidad se debe a que las prolaminas surgen de familias multigénicas y en algunos casos, por el procesamiento proteolítico y glicosilación². Las hordeínas tienen un tamaño que va desde 30 hasta 100 kDa aproximadamente y se clasifican en tres grupos: 1) ricas en azufre (hordeínas B y γ), 2) pobres en azufre (hordeínas C) y 3) de alto peso molecular (hordeínas D). Una característica común a los tres grupos es su solubilidad en mezclas de alcohol/agua, pero varían considerablemente en otras propiedades como el peso molecular, punto isoeléctrico y composición de aminoácidos⁷. Por su gran variación genotípica han sido utilizadas como marcadores genéticos².

Las hordeínas D tienen un tamaño aproximado de 100 kDa y representan menos del 10% del contenido total de la semilla. Las hordeínas C tienen un tamaño de 55-70 kDa, no contienen residuos de cisteína, por lo que no tienden a formar complejos con otras proteínas y su abundancia es del 10-20%. Las hordeínas B tienen un tamaño de 36-44 kDa, son ricas en residuos de cisteína, por lo tanto pueden formar puentes disulfuro intra o intercatenarios y son las más abundantes (75-80%)⁷. Las hordeínas γ son de tamaño similar a las B y contienen residuos de cisteína pero son menos abundantes que éstas. Las hordeínas $\gamma 1$ y $\gamma 2$ pueden formar puentes disulfuro intra o intercatenarios y se asocian con las B en los cuerpos proteicos. La hordeína $\gamma 3$ solamente forma puentes disulfuro intracatenarios y es requerida para el transporte de las demás hordeínas a la vacuola⁸.

Las variedades mexicanas de cebada maltera presentan diferentes características para la producción y calidad de la malta. Aunque existen datos agronómicos y fenotípicos a nivel de planta y semilla para estas variedades, no hay datos sobre los polimorfismos a nivel de hordeínas. En este trabajo se propuso investigar la composición de hordeínas y su posible utilización como marcadores moleculares en semillas y malta de cebada de diferentes variedades mexicanas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Para la comparación de patrones de hordeínas en semilla seca se utilizaron cinco variedades mexicanas de cebada maltera. Para la comparación de patrones de hordeínas en malta, se utilizaron cuatro de las cinco variedades mexicanas y la variedad canadiense Metcalfe cuya malta es utilizada ampliamente en la obtención de cerveza a nivel mundial.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/590524>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/590524>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)