

Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin
e-mail: aleksandra.nucia@up.lublin.pl

ALEKSANDRA NUCIA

**Białka gluteninowe – charakterystyka
i ich wpływ na właściwości reologiczne pszenicy.
Praca przeglądowa**

Glutenin proteins – characteristics and their influence
on rheological properties of wheat. A review

Streszczenie. Pszenica należy do najważniejszych roślin zbożowych i jest powszechnie wykorzystywana w celach konsumpcyjnych. Obecnie prowadzi się silną selekcję odmian pod względem poprawy jej cech jakościowych. Jedną z ważniejszych cech pszenicy, decydującą o jej późniejszym wykorzystaniu, jest zawartość białek, które determinują właściwości lepkością ciasta pszennego. Właściwości reologiczne glutenu warunkowane są przez ilość i kompozycję białek zapasowych (glutenin i gliadyn) wchodzących w jego skład, przy czym białka gluteninowe wykazują znacząco większy wpływ na korzystne właściwości reologiczne. Poznanie ich składu podjednostkowego w ziarnie pszenicy, szczególnie podjednostek glutenin wysokocząsteczkowych (HMW – GS), umożliwia wybór genotypów o pożądanych właściwościach reologicznych na wczesnym etapie selekcji, co pozwala na szybsze i dokładniejsze osiągnięcie założonych przez hodowców celów. Rozwój technologii pozwolił na wykorzystanie nowych metod identyfikacji składu podjednostkowego glutenin. W tym celu obecnie stosuje się metody SDS-PAGE, RP-HPLC, HPCE, MALDI-TOF-MS oraz PCR.

Słowa kluczowe: pszenica, białka gluteninowe, HMW – podjednostki gluteninowe, właściwości reologiczne

WSTĘP

Określenie właściwości reologicznych ciasta pszennego stanowi istotny element w ocenie wartości wypiekowej pszenicy. Jest to podstawowe kryterium decydujące o przydatności ziarna do celów spożywczych. Właściwości reologiczne pszenicy zależą

od wielu czynników, jednak w dużym stopniu determinowane są poprzez ilość i kompozycję białek zapasowych (glutenin i gliadyn) wchodzących w skład glutenu. Rozróżnienie i charakterystyka poszczególnych frakcji białkowych dostarcza wielu cennych informacji ułatwiających typowanie odmian o najlepszych parametrach technologicznych. W celu poznania składu podjednostkowego wysokocząsteczkowych (HMW) i niskocząsteczkowych (LMW) glutenin wielokrotnie stosowano metodę SDS-PAGE [Moczulski i Salmanowicz 2003, Peña i in. 2005]. Jednak ze względu na prawdopodobieństwo błędnej interpretacji różnic alleli obecnie powszechne stały się inne metody, takie jak: PCR opierająca się na markerach molekularnych, RP-HPLC (wysokosprawna chromatografia cieczowa z układem faz odwróconych), HPCE (wysokosprawna elektroforeza kapilarna) oraz różne metody spektrometrii mas, a w szczególności MALDI-TOF-MS. Stanowią dodatkowe narzędzie umożliwiające skuteczne, dokładniejsze i szybsze poznanie składu podjednostkowego glutenin [Ma i in. 2003, Abdel-Mawgood 2008, Kocourkova i in. 2008, Xu i in. 2008, Gao i in. 2010, Jang i in. 2017].

STRUKTURA BIAŁEK GLUTENOWYCH

Ziarno pszenicy z uwagi na bardzo zróżnicowaną zawartość stanowi magazyn wielu składników niezbędnych do wykiełkowania i rozwoju rośliny w początkowych fazach jej wzrostu. Substancje te różnią się między sobą strukturą chemiczną, właściwościami fizyko-chemicznymi i funkcjonalnymi. Największy udział procentowy ziarna stanowi skrobia (ok. 65%), pełniąca funkcję energetyczną. W skład podstawowych substancji odżywczych i zapasowych wchodzi również białka, których ilość wynosi od 10 do 17% suchej masy ziarna. To właśnie ich zawartość, zarówno pod względem ilościowym, jak i jakościowym jest jednym z głównych elementów decydującym o właściwościach reologicznych ciasta pszennego. Pozostałe związki wchodzące w skład ziarna to pentozany (6–9%), cukry proste (3–6%), celuloza (2,5–3,3%), tłuszcze (2–2,5%) i sole mineralne (1,4–2,3%) [Grundas 2003].

Białka pszenicy zgodnie z klasyfikacją zaproponowaną przez Osborne'a [Osborne 1909], zależnie od rozpuszczalności, dzieli się na 4 grupy: albuminy (rozpuszczalne w wodzie), globuliny (rozpuszczalne w rozcieńczonych roztworach soli) oraz prolaminę i gluteliny rozpuszczalne odpowiednio w wodnych alkoholach i rozcieńczonych kwasach lub zasadach. Substancje te tworzą grupy cząstek o podobnych właściwościach fizyko-chemicznych i strukturalnych, jednak charakteryzują się zróżnicowanym składem aminokwasowym, co wiąże się z pełnieniem przez nie innych funkcji. Albuminy i globuliny odpowiadają najczęściej za strukturę i procesy fizjologiczne, natomiast prolaminę i gluteliny pełnią funkcję zapasową [Belderok i in. 2000, Grundas 2003]. Te dwie ostatnie frakcje wchodzi w skład glutenu i stanowią 80% białka ogólnego. W zależności od zdolności polimeryzacji wśród prolaminy można wyróżnić dwa rodzaje białek: monomeryczne gliadyny i polimeryczne gluteniny zlokalizowane wyłącznie w endospermie ziarniaków w porównywalnych ilościach [Shewry i in. 1995, Veraverbeke i Delcour 2002, Grundas

2003]. Dokładniejsze poznanie sekwencji aminokwasowych prolamin pozwoliło podzielić je według innego systemu klasyfikacji, zależnie od zawartości cysteiny, na trzy grupy: bogate w siarkę (α -, β - i γ -gliadyny oraz niskocząsteczkowe gluteniny – LMW), ubogie w siarkę (ω -gliadyny) oraz gluteniny o wysokiej masie cząsteczkowej – HMW [Kreis i in. 1985, Shewry i Tatham 1990].

Białka glutenu charakteryzują się unikalnym składem aminokwasowym. Zasadniczo zbudowane są z glutaminy i proliny oraz aminokwasów hydrofobowych. W dużo mniejszym stopniu zawierają aminokwasy egzogenne, takie jak: lizyna, histydyna, treonina i tryptofan. Strukturę glutenu stabilizują wiązania międzycząsteczkowe pomiędzy łańcuchami polipeptydowymi, z których największą rolę odgrywają wiązania dwusiarczkowe i wodorowe oraz oddziaływania hydrofobowe. Białka glutenowe dzięki swoim niezwykłym właściwościom fizyko-chemicznym są podstawą formowania ciasta, tworząc lepko-sprężyste błony, które utrzymują jego właściwą konsystencję i strukturę [Belitz i in. 1986, Shewry i Tatham 1990, Wieser 2007].

Gliadyny stanowią ok. 50% białek glutenu [Belderok i in. 2000]. Zbudowane są z pojedynczych łańcuchów polipeptydowych, a ich masa cząsteczkowa zawiera się w przedziale 30–75 kDa. W zależności od ich masy i ruchliwości elektroforetycznej zostały sklasyfikowane w cztery grupy: α - (najlżejsze, najszybsze), β -, γ - oraz najcięższe i najwolniejsze ω -gliadyny. Białka α -, β - i γ -gliadyny charakteryzują się podobnym składem aminokwasowym. Zbudowane są z krótkiego regionu N-końcowego oraz regionu powtarzalnych sekwencji, które są związane z regionem C-końcowym zawierającym specyficzne sekwencje. Obie domeny terminalne są bogate w glutaminę (tzw. regiony poligluteninowe) i prolinę, a także posiadają znaczną liczbę reszt cysteinowych. Dzięki temu zdolne są do tworzenia 3 lub 4 wewnątrzcząsteczkowych wiązań dwusiarczkowych, co zapobiega polimeryzacji struktury tych białek. Monomeryczne formy gliadyn α , β i γ są ubogie w lizynę, a między sobą różnią się zawartością aminokwasów siarkowych [Waga 2004, Wieser 2007], podczas gdy ω -gliadyny mają odmienny skład aminokwasowy od pozostałych gliadyn. Charakteryzują się największą zawartością glutaminy, proliny, fenyloalaniny i tyrozyny, natomiast bardzo małą zawartością cysteiny. Odmienny charakter aminokwasowy sprawia, że spośród wszystkich gliadyn wyróżniają się również największą hydrofilnością oraz największą masą cząsteczkową [DuPont i in. 2000, Waga 2004, Wieser 2007].

Gluteniny uznawane są za najważniejsze składniki wpływające na jakość wypieku. Zaliczane są do największych białek – mają masę cząsteczkową od około 500 000 do 10 milionów daltonów. W przeciwieństwie do gliadyn są to białka polimeryczne, których budowa utrzymywana jest nie tylko przez wewnątrzcząsteczkowe, ale także międzyłańcuchowe wiązania dwusiarczkowe oraz wiązania wodorowe, nadając im stabilną konformację przestrzenną [Wrigley 1996, D'Ovidio i Masci 2004]. Na skutek redukcji tych wiązań wśród glutenin wyróżnić można szereg podjednostek, które w zależności od masy cząsteczkowej klasyfikuje się jako dwie grupy: gluteniny wysokocząsteczkowe (HMW) o masie cząsteczkowej 70–90 kDa i niskocząsteczkowe (LMW) o masie cząsteczkowej 20–45 kDa [D'Ovidio i Masci 2004].

Wysokocząsteczkowe białka gluteninowe (HMW) stanowią jedynie 5–10% wszystkich białek zapasowych ziarniaków pszenicy. Pomimo to w znacznym stopniu wpływają na ich cechy technologiczne. Zbudowane są z długiego centralnego obszaru powtarzalnych sekwencji zawartego pomiędzy wysoce konserwatywnymi regionami terminalnymi N- i C-, posiadającymi większość reszt cysteinowych. Hydrofobowa domena N-terminalna jest zmienna i składa się z 80–90 reszt aminokwasowych w przypadku podjednostek typu x i 104 dla typu y, podczas gdy koniec C- ma stałą wielkość (42 reszty aminokwasowe) [Veraverbeke i Delcour 2002]. Hydrofilowe domeny powtarzalne opierają się na trzech motywach i obejmują sekwencje Pro-Gly-Gln-Gly-Gln-Gln (typowe dla podjednostek x i y), Gly-Tyr-Tyr-Pro-Thr-Ser-Leu-Gln-Gln, Gly-Gln-Gln (tylko dla podjednostek x) oraz Gly-Tyr-Tyr-Pro-Thr-Ser-Pro-Gln-Gln (tylko dla podjednostek y) [Waga 2004]. Częsteczki centralnej domeny powtarzalnej mogą tworzyć struktury helisy o długości 50–60 nm i średnicy 1,5–1,9 nm, nadając im zdolność do silnych deformacji przy równoczesnym nierozrywaniu wiązań [Parchment i in. 2001].

Niskocząsteczkowe gluteniny (LMW), analogicznie jak HMW, mają strukturę polimeryczną, a ich ilość w endospermie ziarniaków sięga 40%. Wszystkie LMW-GS wykazują podobną budowę. Zawierają powtarzalną domenę oraz flankujące ją regiony: N-końcowy bogaty w prolinę oraz C-końcowy zawierający większość reszt cysteinowych. Centralny obszar powtarzalnych sekwencji jest zwykle poprzedzony krótkim fragmentem różnicującym (np. sygnałowym), znajdującym się w regionie N-terminalnym [Kączkowski 2002, Wieser 2007]. Ze względu na różną mobilność elektroforetyczną LMW-GS zostały podzielone na podgrupy: B, C i D. Grupę A stanowią wcześniej opisane wysokocząsteczkowe białka gluteninowe. Podjednostki typu B tworzą wyłącznie LMW gluteniny o masie cząsteczkowej 42–51 kDa, natomiast w obszarze C i D oprócz LMW glutenin (o masie cząsteczkowej 30–40 kDa) występują także α -, γ -, ω -gliadyny [Gianibelli i in. 2001, Franaszek i in. 2013].

GENETYKA BIAŁEK GLUTENOWYCH

Białka glutenowe w pszenicy kodowane są przez geny zlokalizowane w 1 i 6 grupie chromosomów homeologicznych, a ich dziedziczenie następuje w stosunku 1 : 2 : 1. Rekombinacje pomiędzy genami kodującymi poszczególne frakcje białkowe występują bardzo rzadko.

Geny kodujące białka gliadynowe zlokalizowane są na krótkich ramionach chromosomów pierwszej i szóstej grupy. Geny determinujące γ - i ω -gliadyny znajdują się w loci *Gli-1* (*Gli-A1*, *Gli-B1* i *Gli-D1*) pierwszej pary chromosomów i są ściśle sprzężone, tworząc klastery, natomiast α - i β -gliadyny kodowane są przez geny zlokalizowane w loci *Gli-2* (*Gli-A2*, *Gli-B2*, *Gli-D2*) szóstej grupy chromosomów [Shewry i in. 2003]. W każdym locus znajdują się szeregi alleli wielokrotnych, w których pomimo ścisłego sprzężenia genów mogą zachodzić rekombinacje prowadzące do utworzenia nowych wariantów allelicznych. Największy polimorfizm występuje w locus *Gli-2*, który zawiera geny kodujące α - i β -gliadyny, a także niektóre γ -gliadyny [Payne 1987].

Tabela 1. Podział HMW podjednostek gluteninowych [Shewry i in. 2003, Kubicka i in. 2004]
 Table 1. Classification of HMW glutenin subunits [Shewry et al. 2003, Kubicka et al. 2004]

Chromosom Chromosome	Locus Locus	Gen Gene	Podjednostki typu x i y x- and y-type subunits
<i>1AL</i>	<i>Glu-A1</i>	<i>Glu-A1-1</i> (x)	null 1 2*
		<i>Glu-A1-2</i> (y)	-
<i>1BL</i>	<i>Glu-B1</i>	<i>Glu-B1-1</i> (x)	6 7,7* 7 ^{OE} 14 17
		<i>Glu-B1-2</i> (y)	8 8* 9 15 18 20
<i>1DL</i>	<i>Glu-D1</i>	<i>Glu-D1-1</i> (x)	2 3 4 5
		<i>Glu-D1-2</i> (y)	10 12

Synteza glutenin wysokocząsteczkowych jest kontrolowana przez geny *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*, znajdujące się w pobliżu centromerów na długich ramionach pierwszej grupy chromosomów (tab. 1). Wszystkie loci mają charakter kompleksowy - zawierają po dwa ściśle ze sobą sprzężone geny kodujące białko o większej cząsteczce – typu x i mniejszej – typu y, które w obrazach elektroforetycznych układają się w tzw. bloki białkowe. Ścisłe sprzężenie genów kodujących podjednostki HMW-GS powoduje, iż występowanie rekombinacji jest bardzo rzadkie, a ich częstotliwość kształtuje się na poziomie 0,11% [Payne 1987, Shewry i in. 2003]. Podjednostki HMW-GS typu x charakteryzują się większą masą i wolniejszą ruchliwością elektroforetyczną w porównaniu do podjednostek typu y. Stanowią one również wyższy procentowy udział ilościowy niż podjednostki typu y. Niektóre odmiany pszenicy posiadają część genów w tzw. uśpieniu, jednak najczęściej ilość podjednostek HMW-GS waha się od 3 do 5 [Rogers i in. 1991]. Genetyczna determinacja białek gluteninowych warunkuje ogromną zmienność genetyczną, a co za tym idzie tworzenie dużej liczby wariantów allelicznych w różnych układach. Liczba tych kombinacji dla locus kompleksowego jest znacznie większa niż dla pojedynczego i ma zróżnicowany wpływ na właściwości reologiczne pszenicy. Wynika to z różnicy w liczbie allelicznych podjednostek oraz ich efektów jakościowych i ilościowych [Gianibelli i in. 2001, Shewry i in. 2001].

Geny determinujące większość LMW-GS są umiejscowione na krótkich ramionach 1 grupy chromosomów w locus *Glu-3* (*Glu-A3*, *Glu-B3*, *Glu-D3*) [Anjum i in. 2007]. Jednak niektóre LMW-GS typu C kodowane są przez geny umiejscowione w szóstej grupie chromosomów. Można więc stwierdzić, że LMW-GS mają nie tylko podobną strukturę do gliadyn, ale także lokalizację na chromosomach. LMW-GS są ściśle związane z loci *Gli-1* i *Gli-2* [Masci i in. 2002]. Wśród glutenin niskocząsteczkowych najwięcej jest podjednostek typu B, kodowanych przez locus *Glu-B3*, znajdujący się na krótkim ramieniu chromosomu *1B*, pomiędzy centromerem a locus *Gli-B1* [Pogna i in. 1990].

WPLYW BIAŁEK GLUTENOWYCH NA WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE CIASTA PSZENNEGO

Uwarunkowania właściwości reologicznych można rozpatrywać zasadniczo na dwa sposoby, pod względem ilościowym i jakościowym. Na poziomie ilościowym określana jest ogólna zawartość białka oraz zawartość poszczególnych frakcji białkowych. Natomiast identyfikacja i lokalizacja genów kodujących poszczególne białka stanowi aspekt jakościowy. Połączenie analiz cech ilościowych i jakościowych stanowi najlepsze źródło wiedzy w odniesieniu do właściwości reologicznych ciasta pszennego.

Gluten jest podstawowym elementem stabilizującym strukturę ciasta pszennego. Budujące go białka – gliadyny i gluteniny – podczas wyrabiania ciasta tworzą lepkosprężystą substancję, która utrzymuje jego właściwą teksturę, łącząc w ten sposób wszystkie składniki mąki w jedną całość. Gluten odznacza się dużą zdolnością wiązania wody (do 300% w stosunku do masy glutenu) oraz elastycznością, kleistością i ciągliwością. Gliadyny i gluteniny pełnią odmienne role w warunkowaniu właściwości reologicznych glutenu. Te pierwsze odpowiadają głównie za lepkość i rozszerzalność struktury ciasta. Odznaczają się także mniejszą elastycznością i spójnością niż gluteniny, które odpowiadają za wytrzymałość oraz sprężystość. Właściwe proporcje obu frakcji determinują korzystne właściwości reologiczne produktu końcowego [Blokma i Bushuk 1988, Dobraszczyk i Morgenstern 2003]. Uważa się, że gluten o wysokiej jakości charakteryzuje się dużą wodochłonnością, kleistością i elastycznością, z którego podczas procesu produkcyjnego można uzyskać ciasto o długim czasie rozwoju i stałości, a produkt końcowy odznacza się dużą objętością oraz równomiernie porowatym i elastycznym miększem. Wzrost zawartości białek gliadynowych zwykle warunkuje zwiększenie spójności ciasta, natomiast ma ujemny wpływ na oporność na rozciąganie i elastyczność glutenu. Większa ilość białek gluteninowych skutkuje lepszą sprężystością, która warunkuje większą absorpcję wody, a także zwiększeniem oporności na rozciąganie, wydłużeniem okresu rozwoju ciasta i wzrostem objętości produktu końcowego [Berot i in. 1996, Wrigley 1996, Barak i in. 2014]. Liczne badania wykazały znacząco większy wpływ białek gluteninowych, w porównaniu z białkami gliadynowymi, na pożądane właściwości reologiczne ciasta [Uthayakumaran i in. 1999, Song i Zheng 2007, Barak i in. 2014]. Wielokrotnie również wykazano większą rolę frakcji glutenin wysokocząsteczkowych (HMW-GS) niż glutenin niskocząsteczkowych (LMW-GS) w kształtowaniu tych właściwości. Zwiększenie zawartości HMW-GS warunkuje większą wytrzymałość ciasta

i objętość produktu końcowego, podnosi oporność na rozciąganie i wydłużenie okresu rozwoju ciasta [Verbruggen i in. 2001, Dobraszczyk i Morgenstern 2003, Peñai i in. 2005, Wang i Khan 2009, Dhaka i Khatkar 2015].

Kolejnym aspektem, który odgrywa istotną rolę w procesach technologicznych, jest genetyka białek glutenowych. Mimo iż udział wszystkich białek glutenu jest istotny w tworzeniu ciasta o pożądanych właściwościach, warto zwrócić uwagę na skład podjednostkowy glutenin, które odgrywają największą rolę. Obecność lub nieobecność specyficznych wariantów allelicznych wysokocząsteczkowych glutenin koreluje z cechami reologicznymi, a zmienność tych cech zależy głównie od typu obecnych wariantów allelicznych [MacRitchie i Lafandra 1997, Wieser i Zimmerman 2000, Song i Zheng 2007].

Skład podjednostek wysokocząsteczkowych glutenin rutynowo jest identyfikowany za pomocą elektroforezy w obecności siarczanu dodecylosodowego (SDS-PAGE), co pozwala badać zmienność w obrębie loci oraz identyfikować różne warianty białkowe. Wraz z upływem lat z uwagi na zbyt duży polimorfizm tych białek i podobną mobilność elektroforetyczną ta metoda przestała być wystarczająca. Alternatywą SDS-PAGE stała się reakcja PCR z wykorzystaniem markerów molekularnych. Ta technika w ostatnich latach jest powszechnie wykorzystywana do charakterystyki HMW podjednostek gluteninowych [Moczulski i Salmanowicz 2003]. Popularnymi metodami stosowanymi do określenia składu podjednostkowego glutenin są również RP-HPLC (wysokosprawna chromatografia cieczowa z układem faz odwróconych) i HPCE (wysokosprawna elektroforeza kapilarna) oraz różne metody spektrometrii mas. W szczególności gwałtownie rozwinęła się metoda MALDI-TOF-MS oparta na desorpcji/ionizacji laserowej wspomaganiej wykorzystaniem matrycy oraz analizatora czasu przelotu jonów. Dzięki wysokiej rozdzielczości i dokładności obecnie ta metoda stała się pożądanym i skutecznym narzędziem do charakteryzowania HMW-GS (Gao i in. 2010, Jang i in. 2017).

Istotnie wysoki wpływ na tworzenie pozytywnych właściwości elastyczno-sprężystych ma obecność podjednostek kodowanych w genomie D, a następnie w genomie B. Podjednostki kodowane w genomie A mają mniejszy wpływ na kształtowanie tych właściwości [Uthayakumaran i in. 2002, Obreht i in. 2007]. Wśród podjednostek znajdujących się w genomie A największy udział w kształtowaniu pożądanych właściwości reologicznych pszenicy ma podjednostka Ax2*. Efektem jej obecności jest podniesienie rozciągliwości ciasta, co determinuje lepszą jakość wypiekową i większą objętość chleba. Analizy przeprowadzone przez wielu autorów potwierdzają wpływ tej podjednostki na pozytywne właściwości reologiczne pszenicy [Gupta i in. 1995, Brönneke i in. 2000]. Podjednostka Ax1 również korzystnie wpływa na jakość wypieku, warunkując obecność glutenu o większej sile [Anjum i in. 2007, Meng i Cai 2008, Liang i in. 2010]. Natomiast Axnull, w porównaniu z pozostałymi podjednostkami kodowanymi przez geny znajdujące się w locus *Glu-A1* wykazuje istotnie gorsze efekty we wszystkich parametrach jakościowych, znacznie zmniejszając elastyczność, co niekorzystnie wpływa na formowanie ciasta [Witkowski i in. 2008].

Wyniki badań potwierdzają także wysoki wpływ podjednostek znajdujących się w genomie B. Wzrost elastyczności i siły ciasta szczególnie można zauważyć u pszenic zawierających podjednostkę Bx7, której zwiększona ekspresja znacząco podnosi te wła-

ściwości [Obreht i in. 2007, Li i in. 2013]. W swoich pracach potwierdzili to także Cho i in. [2017] oraz MacRitchie [2016]. Duże znaczenie mają również podjednostki Bx17, By8, By9, By18. Jednak odpowiednia kompozycja typów x i y podjednostek HMW-GS ma najbardziej istotny wpływ na właściwości reologiczne ciasta pszennego. Wielu autorów potwierdza korzystny wpływ bloków białkowych Bx7 + By8, Bx7 + By9 oraz Bx17 + By18 [Juhász i in. 2003, Ohm i in. 2008, Tuncil i in. 2016]. W większości przypadków słabe właściwości reologiczne ciasta determinuje podjednostka Bx6 [Schwarz i in. 2004].

Szczególnie dobre właściwości reologiczne wykazują pszenice posiadające bloki białkowe Dx5 + Dy10 [Abdel-Mawgood 2008, Dhaka i Khatkar 2015, MacRitchie 2016]. Potwierdzili to w swoich pracach także Barak i in. [2013] oraz Tronso i in. [2003]. Natomiast negatywny efekt w oddziaływaniu na elastyczność, lepkość, rozszerzalność i spójność ciasta wykazuje obecność genów kodujących podjednostki Dx2 + Dy12, co potwierdzają prace Kaura i in. [2013] i Abdel-Mawgooda [2008] (tab. 2).

Tabela 2. Najbardziej i najmniej korzystne układy podjednostek gluteninowych w pszenicy
Table 2. The most and the least advantageous arrangement of glutenin subunits in wheat

Najbardziej korzystny układ podjednostek The most favourable arrangement of subunits		Najmniej korzystny układ podjednostek The least favourable arrangement of subunits	
podjednostki subunits	bibliografia bibliography	podjednostki subunits	bibliografia bibliography
Ax2* lub Ax1 Bx7 + By8 lub Bx7 + By9 Bx17 + By18 Dx5 + Dy10	Ivanov i in. 1998, Brönneke i in. 2000, Thoveri in. 2001, Abdel-Mawgood 2008, Ohm i in. 2008	Axnull Bx6 + By8 Dx2 + Dy12	[Abdel-Mawgood 2008, MengiCai 2008, Kau i in. 2013]

PODSUMOWANIE

Ocena wartości wypiekowej mąki pszenicznej jest istotna w kontekście znaczenia użytkowego tego zboża. W szczególności kontroluje się odmiany przeznaczone na cele piekarnicze. Istnieje zestaw wskaźników technologicznych, których zastosowanie pozwala określać jakość i wartość użytkową mąki. Rozwój technik analiz DNA i białek pozwolił na szybsze i dokładniejsze poznanie czynników wpływających na cechy technologiczne. Dzięki temu można dokonać selekcji genotypów o pożądanym właściwościach reologicznych już na wczesnym etapie prac hodowlanych. Jak wspomniano w niniejszej pracy, dla każdego genomu istnieją charakterystyczne allele uznawane za markery wartości wypiekowej. Na podstawie obecności poszczególnych podjednostek w trzech genomach można oszacować jakość wypiekową ziarna danej odmiany. Niejednokrotnie wykazano, iż obecność podjednostek „korzystnych”, np. Ax2*, Ax1, Bx7, Bx17, By8, By9, By18, Dx5, Dy10 lub „niekorzystnych”, np. Axnull, Bx6 + By8, Dx2, Dy12 koreluje odpowiednio z pożądanymi lub też nie wartościami parametrów technologicznych, takich jak indeks glutenu, test sedymentacji i in.

PIŚMIENNICTWO

- Abdel-Mawgood A.L., 2008. Molecular markers for predicting end-products quality of wheat (*Triticum Aestivum* L.). *Afr. J. Biotechnol.* 7(14), 2324–2327.
- Anjum F.M., Khan M.R., Din A., Saeed M., Pasha I., Arshad M.U., 2007. Wheat gluten: High molecular weight glutenin subunits – structure, genetics, and relation to dough elasticity. *J. Food Sci.* 72(3), R56–63.
- Barak S., Mudgil D., Khatkar B.S., 2013. Relationship of gliadin and glutenin proteins with dough rheology, flour pasting and bread making performance of wheat varieties. *LWT – Food Sci. Technol.* 51, 211–217.
- Barak S., Mudgil D., Khatkar B.S., 2014. Influence of gliadin and glutenin fractions on rheological, pasting, and textural properties of dough. *Int. J. Food Prop.* 17(7), 1428–1438.
- Belderok B., Mesdag J., Donner D.A., 2000. Bread-making quality of wheat: A century of breeding in Europe. Springer Science+Business Media Dordrecht, 30–63.
- Belitz H.D., Kieffer R., Seilmeier W., Wieser H., 1986. Structure and function of gluten proteins. *Cereal Chem.* 63(4), 336–341.
- Bloksma A. H., Bushuk W., 1988. Rheology and chemistry of dough. In: *Wheat chemistry and technology*, ed. Y. Pomeranz, Am. Assoc. Cereal Chem., St. Paul, MN, 131–219.
- Brönneke V., Zimmermann G., Killermann B., 2000. Effect of high molecular weight glutenins and D-zone gliadins on breadmaking quality in German wheat varieties. *Cereal Res. Commun.* 28, 187–194.
- Cho S.W., Roy S.K., Chun J.B., Cho K., Park C.S., 2017. Overexpression of the Bx7 high molecular weight glutenin subunit on the Glu-B1 locus in a Korean wheat landrace. *Plant Biotechnol. Rep.* 11, 97–105.
- D’Ovidio, R., Masci S., 2004. The low-molecular-weight glutenin subunits of wheat gluten. *J. Cereal Sci.* 39, 321–339.
- Dhaka V., Khatkar B.S., 2015. Effects of gliadin/glutenin and HMW-GS/LMW-GS ratio on dough rheological properties and bread-making potential of wheat varieties. *J. Food Quality* 38, 71–82.
- Dobraszczyk B.J., Morgenstern M.P., 2003. Rheology and the breadmaking process. *J. Cereal Sci.* 38(3), 229–245.
- DuPont F.M., Vensel W.H., Chan R., Kasarda D.D., 2000. Characterization of the 1B-Type ω -Gliadins from *Triticum Aestivum* Cultivar Butte. *Cereal Chem.* 77(5), 607–14.
- Franaszek S., Langner M., Salmanowicz B., 2013. Niskocząsteczkowe białka gluteninowe i ich wpływ na jakość wypiekową pszenicy. *Biul. IHAR* 269, 3–13.
- Gao L., Ma W., Chen J., Wang K., Li J., Wang S., Bekes F., Appels R., Yan Y., 2010. Characterization and comparative analysis of wheat high molecular weight glutenin subunits by SDS-PAGE, RP-HPLC, HPCE, and MALDI-TOF-MS. *J. Agric. Food Chem.* 58(5), 2777–2786.
- Gianibelli M.C., Larroque O.R., MacRitchie F., Wrigley C.W., 2001. Biochemical, genetic, and molecular characterization of wheat glutenin and its component subunits. *Cereal Chem.* 78(6), 635–646.
- Grundas S.T., 2003. WHEAT/The Crop. In: *Encyclopedia of food sciences and nutrition* 6130–6137.
- Gupta R.B., Popineau Y., Lefebvre J., Cornec M., Lawrence G.J., MacRitchie F., 1995. Biochemical basis of flour properties in bread wheats. II. Changes in polymeric protein formation and dough/gluten properties associated with the loss of low M_r or high M_r glutenin subunits. *J. Cereal Sci.* 21(2), 103–116.

- Ivanov P., Todorov I., Stoeva I., Ivanova I., 1998. Biochemical and technological characteristics of *Triticum Aestivum* lines from two crosses between high and low breadmaking quality cultivars. *Cereal Res. Commun.* 26(4), 455–461.
- Jang Y.R., Beom H.R., Altenbach S.B., Lee M.K., Lim S.H., Lee J.Y., 2017. Improved method for reliable HMW-GS identification by RP-HPLC and SDS-PAGE in common wheat cultivars. *Mol.* 22(7), 1055. DOI:10.3390/molecules22071055.
- Juhász A., Larroque O.R., Tamás L., Hsam S.L.K., Zeller F.J., Békés F., Bedő Z., 2003. Bánkúti 1201 - an old Hungarian wheat variety with special storage protein composition. *Theor. Appl. Genet.* 107(4), 697–704.
- Kaur A., Singh N., Ahlawat A.K., Kaur S., Singh A.M., Chauhan H., Singh G.P., 2013. Diversity in grain, flour, dough and gluten properties amongst Indian wheat cultivars varying in high molecular weight subunits (HMW-GS). *Food Res. Int.* 53, 63–72.
- Kączkowski J., 2002. Nowe poglądy na strukturę i funkcje białek zapasowych zbóż na przykładzie pszenicy (*Triticum Aestivum* L.). *Biul. IHAR* 223/224, 3–31.
- Kocourková Z., Bradová J., Kohutová Z., Slámová L., Vejl P., Horčíčka P., 2008. Wheat breeding for the improved bread-making quality using pcr based markers of glutenins. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 44(3), 105–113.
- Kreis M., Forde B.G., Rahman S., Mifflin B.J., Shewry P.R., 1985. Molecular evolution of the seed storage proteins of barley, rye and wheat. *J. Mol. Biol.* 183(3), 499–502.
- Kubicka H., Nawracała J., Górny A.G., 2004. Zarys genetyki zbóż: praca zbiorowa. T. 1, Jęczmień, pszenica i żyto. *IGR PAN, Poznań*, 238–259.
- Li J., Han C., Zhen S., Li X., Yan Y., 2013. Characterization of HMW glutenin subunit Bx7^{OE} and its distribution in common wheat and related species. *Plant Genet. Res.* 12(2), 191–198.
- Liang D., Tang J., Peña R.J., Singh R., He X., Shen X., Yao D., Xia X., He Z., 2010. Characterization of CIMMYT bread wheats for high- and low-molecular weight glutenin subunits and other quality-related genes with SDS-PAGE, RP-HPLC and molecular markers. *Euphytica* 172(2), 235–250.
- Ma W., Zhang W., Gale K.R., 2003. Multiplex-PCR typing of high molecular weight glutenin alleles in wheat. *Euphytica* 134, 51–60.
- MacRitchie F., 2016. Seventy years of research into breadmaking quality. *J. Cereal Sci.* 70, 123–131.
- MacRitchie F., Lafiandra D., 1997. Structure-function relationships of wheat proteins. In: *Food proteins and their applications*. Marcel Dekker, Inc., New York, 293–324.
- Masci S., Rovelli L., Kasarda D.D., Vensel W.H., Lafiandra D., 2002. Characterisation and chromosomal localisation of C-type low-molecular-weight glutenin subunits in the bread wheat cultivar Chinese Spring. *Theor. Appl. Genet.* 104, 422–428.
- Meng X.G., Cai S.X., 2008. Association between glutenin alleles and Lanzhou alkaline stretched noodle quality of northwest China spring wheats. II. Relationship with the variations at the Glu-1 loci. *Cereal Res. Commun.* 36(1), 107–115.
- Moczulski M., Salmanowicz B.P., 2003. Multiplex PCR identification of wheat HMW glutenin subunit genes by allele-specific markers. *J. Appl. Genet.* 44(4), 459–471.
- Obreht D., Kobiljski B., Djan M., Vapa L., 2007. Identification of *Glu-B1* alleles in bread wheat cultivars using PCR. *Genetika* 39(1), 23–28.
- Ohm J.B., Ross A.S., Peterson C.J., Ong Y.L., 2008. relationships of high molecular weight glutenin subunit composition and molecular weight distribution of wheat flour protein with water absorption and color characteristics of noodle dough. *Cereal Chem.* 85(2), 123–31.
- Osborne T.B. 1909. *The vegetable proteins*. Longmans, Green and Co., London.
- Parchment O., Shewry P.R., Tatham A.S., Osguthorpe D.J., 2001. Molecular modeling of unusual spiral structure in elastomeric wheat seed protein. *Cereal Chem.* 78(6), 658–662.

- Payne P.I., 1987. Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread-making quality. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 38, 141–153.
- Peña E., Bernardo A., Soler C., Jouve N., 2005. Relationship between common wheat (*Triticum Aestivum* L.) gluten proteins and dough rheological properties. Gluten proteins and rheological properties in wheat. *Euphytica* 143, 169–77.
- Pogna N.E., Autran J.C., Mellini F., Lafiandra D., Feillet P., 1990. Chromosome 1B-encoded gliadins and glutenin subunits in durum wheat: genetics and relationship to gluten strength. *J. Cereal Sci.* 11, 15–34.
- Rogers W.J., Payne P.I., Seekings J.A., Sayers E.J., 1991. Effect on breadmaking quality of x-type and y-type high molecular weight subunits of glutenin. *J. Cereal Sci.* 14, 209–221.
- Schwarz G., Felsenstein F.G., Wenzel G., 2004. Development and validation of a PCR-based marker assay for negative selection of the HMW glutenin allele *Glu-B1-1d* (*Bx-6*) in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 109(5), 1064–1069.
- Shewry P.R., Halford N.G., Lafiandra D., 2003. Genetics of wheat gluten proteins. *Advances in genetics* 49, 111–184.
- Shewry P.R., Napier J.A., Tatham A.S., 1995. Seed storage proteins: structures and biosynthesis. *The Plant Cell* 7(7), 945–956.
- Shewry P.R., Popineau Y., Lafiandra D., Belton P., 2001. Wheat glutenin subunits and dough elasticity: findings of the EUROWHEAT project. *Trends in Food Sci. Technol.* 11, 433–441.
- Shewry P.R., Tatham A.S., 1990. The prolamin storage proteins of cereal seeds: structure and evolution. *Biochem. J.* 267, 1–12.
- Song Y., Zheng Q., 2007. Dynamic rheological properties of wheat flour dough and proteins. *Trends in Food Sci. Technol.* 18(3), 132–138.
- Thover M., Koppel R., Ingver A., 2001. Characterization of gliadin and HMW glutenin subunits alleles and their relation to bread-making quality in common spring wheat cultivars and breeding lines. *Cereal Res. Commun.* 29(3/4), 405–412.
- Tronsmo K.M., Magnus E.M., Baardseth P., Schofield J.D., Aamodt A., Færgestad E.M., 2003. Comparison of small and large deformation rheological properties of wheat dough and gluten. *Cereal Chem.* 80(5), 587–595.
- Tuncil Y.E., Jondiko T., Tilley M., Hays D.B., Awika J.M., 2016. Combination of null alleles with 7+9 allelic pair at *Glu-B1* locus on the long arm of group 1 Chromosome improves wheat dough functionality for tortillas. *LWT - Food Sci. Technol.* 65, 683–688.
- Uthayakumaran S., Beasley H.L., Stoddard F.L., Keentok M., Phan-Thien N., Tanner R.I., Békés F., 2002. Synergistic and additive effects of three high molecular weight glutenin subunit loci. I. Effects on wheat dough rheology. *Cereal Chem.* 79(2), 294–300.
- Uthayakumaran S., Gras P.W., Stoddard F.L., Békés F., 1999. Effect of varying protein content and glutenin-to-gliadin ratio on the functional properties of wheat dough. *Cereal Chem.* 76(3), 389–394.
- Veraverbeke W.S., Delcour J.A., 2002. wheat protein composition and properties of wheat glutenin in relation to breadmaking functionality. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 42(3), 179–208.
- Verbruggen I.M., Veraverbeke W.S., Delcour J.A., 2001. Significance of LMW-GS and HMW-GS for Dough Extensibility: 'Addition' versus 'Incorporation' Protocols. *J. Cereal Sci.* 33(3), 253–260.
- Waga J. 2004. Structure and allergenicity of wheat gluten proteins – a review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 13/54(4), 327–338.
- Wang W., Khan K., 2009. Effect of the molecular weight distribution of glutenin protein from an extra-strong wheat flour on rheological and breadmaking properties through reconstitution studies. *Cereal Chem.* 86(6), 623–632.
- Wieser H., 2007. Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiol.* 24, 115–119.

- Wieser H., Zimmermann G., 2000. Importance of amounts and proportions of high molecular weight subunits of glutenin for wheat quality. *Eur. Food Res. Technol.* 210, 324–330.
- Witkowski E., Waga J., Witkowska K., Rapacz M., Gut M., Bielawska A., Lubert H., Lukaszewski A.J., 2008. Association between frost tolerance and the alleles of high molecular weight glutenin subunits present in Polish winter wheats. *Euphytica* 159(3), 377–384.
- Wrigley C.W., 1996. Giant proteins with flour power. *Nature* 381, 738–739.
- Xu Q., Xu J., Liu C.L., Chang C., Wang C.P., You M.S., Li B.Y., Liu G.T., 2008. PCR-based markers for identification of HMW-GS at *Glu-B1x* loci in common wheat. *J. Cereal Sci.* 47, 394–398.

Summary. Wheat is one of the most important cereal crops and it is widely used in consumption. Therefore, there is a strong selection of wheat varieties in terms of improving its quality characteristics. One of the main important wheat traits which is decisive for its subsequent use is the content of proteins determining viscoelastic properties of wheat dough. Rheological properties of gluten are conditioned by the amount and composition of the spare proteins (glutenin and gliadin) included in gluten composition. Glutenin proteins have a significantly stronger influence on beneficial rheological properties. The knowledge about subunit composition in wheat grain, especially high molecular weight subunits (HMW-GS), allows for the selection of genotypes with the desirable rheological properties at the early stage of selection. It allows for accurate more and fast achievements of the breeder's aims.

Key words: wheat, glutenin proteins, HMW – glutenin subunits, rheological properties

Otrzymano/ Received: 21.01.2018
Zaakceptowano/ Accepted: 28.03.2018