

GRAIN POSITION IN SPIKE OF WHEAT (*Triticum aestivum* L.) AFFECTS GLUTENIN MACROPOLYMER PARTICLES DISTRIBUTION

LA POSICIÓN DEL GRANO EN LA ESPIGA DE TRIGO (*Triticum aestivum* L.) AFECTA LA DISTRIBUCIÓN DE LAS PARTÍCULAS DEL MACROPOLÍMERO DE GLUTENINA

Zhongmin Dai^{1,2}, Yanping Yin², Yong Li², Li Cao², Zhenlin Wang^{2*}

¹Biology Department, Dezhou University, Dezhou 253023, China. ²State Key Laboratory of Crop Biology, Agronomy College, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China. (dzm66@126.com).

ABSTRACT

Glutenin macropolymer (GMP), an important component of wheat (*Triticum aestivum* L.), consists of high weight (HMW-GS) and low-molecular-weight (LMW-GS) glutenin subunits. In wheat, the subunit composition and GMP characteristics are important factors affecting processing quality. The objective of this study was to characterize the effects of soil water status, cultivar and grain position in wheat spike, on GMP particles distribution. Wheat cultivars Jinan 17, Yannong 24 and Lumai 21 with different end-use quality were used in 2009-2011 growing season, and two water regimes (irrigated and rainfed): two irrigations (750 m³ ha⁻¹ each at jointing and booting stage) for irrigated, and none for rainfed. The experimental design was a complete randomized block with three replicates; data were analyzed with ANOVA and Tukey test ($p \leq 0.05$) for treatment means, using SPSS. All determinations were replicated three times. Plot dimension was 3 m x 3 m. At maturity, the heads flowering on the same date were sampled and detached as basal and distal grains according to the position on spikelets. GMP particles distribution and HMW-GS content were affected ($p \leq 0.05$) by soil water, genotype and grain position. Basal grains on middle spikelets showed higher ($p \leq 0.05$) HMW-GS and GMP content than those in distal grains at maturity. The volume and surface area percentage of >100 μm GMP particles in basal grains were higher ($p \leq 0.05$) than that in distal grains, but those of <12 μm particles in basal grains were lower than that in distal grains. Compared with irrigation, percent volume and surface area of >100 μm GMP particles in basal and distal grains were significantly increased ($p \leq 0.05$), and content of HMW-GS and GMP were also increased in rainfed condition. As a result, basal and distal

RESUMEN

El macropolímero de glutenina (GMP), un componente importante del trigo (*Triticum aestivum* L.), se compone de subunidades de glutenina con peso molecular alto (HMW-GS) y bajo (LMW-GS). En el trigo, la composición de subunidades y características de GMP son factores importantes que afectan la calidad del procesamiento. El objetivo de este estudio fue caracterizar los efectos del estado hídrico del suelo, los cultivares y la posición del grano en la espiga de trigo sobre la distribución de las partículas GMP. Los cultivares de trigo Jinan 17, Yannong 24 y Lumai 21, con diferente calidad en el uso final, fueron utilizados en la temporada de crecimiento 2009-2011 y se aplicaron dos regímenes hídricos (riego y temporal): dos riegos (750 m³ ha⁻¹ cada uno en la etapa de elongación del tallo y formación de la espiga) para los de riego, y ninguno para los de temporal. El diseño experimental fue bloques completos al azar con tres repeticiones y los datos se analizaron con ANDEVA y la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$), para comparar de las medias de los tratamientos, usando SPSS. Todas las determinaciones se repitieron tres veces. La dimensión de la parcela fue de 3 m x 3 m. En la madurez, las espigas floreciendo en la misma fecha se muestrearon y separaron como granos basales y distales según la posición en las espiguillas. La distribución de las partículas GMP y el contenido de HMW-GS fueron afectados ($p \leq 0.05$) por el agua del suelo, el genotipo y la posición del grano. Los granos basales en las espiguillas de la parte media tenían más ($p \leq 0.05$) HMW-GS y GMP que los distales en madurez. El volumen y porcentaje del área superficial de las partículas GMP >100 μm en granos basales fueron mayores ($p \leq 0.05$) que en los distales, pero los de partículas de <12 μm en los granos basales eran menores que en los distales. En comparación con el riego, el porcentaje de volumen y área superficial de partículas GMP > 100 μm en los granos basales y distales aumentaron significativamente ($p \leq 0.05$), y los contenidos de HMW-GS y GMP también aumentaron

* Author for correspondence ♦ Autor responsable.

Received: August, 2013. Approved: February, 2014.

Published as ARTICLE in *Agrociencia* 48: 295-306. 2014.

grains have different quality characteristics and application. A promising breeding strategy would be to improve grain yield and quality by increasing average grain weight rather than grain number within a spikelet. When managing for wheat production, the water factor was the most important manipulation to regulate the yield and quality.

Key words: High-molecular-weight glutenin subunit, glutenin macropolymer, grain position, rainfed cultivation, wheat.

INTRODUCTION

Wheat (*Triticum aestivum* L.) is the most consumed food crop in the world, being processed for a range of breads, baked goods, pasta, and noodles. In wheat, glutenin macropolymer (GMP) is a major component of grain and an important factor affecting the processing quality of wheat (Don *et al.*, 2005). GMP consists of high molecular weight glutenin subunits (HMW-GS) linked with low molecular weight glutenin subunits (LMW-GS) through disulfide bonds (Goesaert *et al.*, 2005). HMW-GS play an important role in determining the glutenin protein network structure (Don *et al.*, 2006), and LMW-GS may also have a specific effect on glutenin aggregation (Dupont and Altenbach, 2003). GMP that consists of a higher ratio of HMW-GS to LMW-GS is correlated with improved wheat flour quality (Pechanek *et al.*, 1997).

There is a significant correlation between amount of GMP in wheat grains and flour quality variables, such as loaf and physical dough properties (Weegels *et al.*, 1996; Tarekegne and Labuschagne, 2005). GMP quantity is an indicator of wheat flour quality and the rigidity of the GMP gel-layer, expressed as the G' (Pa) value obtained from a dynamic rheological measurement, correlates with bread-making quality (Pritchard, 1993). There is also a strong positive correlation between dough development time and G' plateau values of GMP isolated from flour (Bekkers *et al.*, 2000). GMP particle distribution size is another important factor for wheat bread-making quality (Dupont and Altenbach, 2003). According to Don *et al.* (2006), GMP particle size strongly correlates with dough development time. Both the quantity and composition of HMW-GS correlates with dough properties and bread-making quality. Besides, subunits 2+12 and 5+10 are strongly correlated with weak and strong gluten properties,

en condiciones de temporal. Como resultado, los granos basales y distales tienen características diferentes de calidad y aplicación. Una estrategia de mejora genética prometedora sería mejorar el rendimiento del grano y su calidad aumentando el peso medio del grano en lugar del número de granos dentro de una espiguilla. En la producción de trigo, el manejo del factor agua fue el más importante para regular el rendimiento y la calidad.

Palabras clave: subunidad de glutenina de alto peso molecular, macropolímero de glutenina, posición del grano, cultivo de temporal, trigo.

INTRODUCCIÓN

El trigo (*Triticum aestivum* L.) es el cultivo alimenticio de mayor consumo en el mundo, y se usa para una variedad de panes, productos de panadería, pastas y fideos. En el trigo, el macropolímero de glutenina (GMP) es un componente principal de grano y un factor importante que afecta la calidad del procesamiento del trigo (Don *et al.*, 2005). El GMP consta de subunidades de glutenina con peso molecular alto (HMW-GS) enlazadas con subunidades de glutenina con peso molecular bajo (LMW-GS) a través de enlaces disulfuro (Goesaert *et al.*, 2005). Las HMW-GS tienen una función importante en la determinación de la estructura de la red de proteínas de la glutenina (Don *et al.*, 2006), y las LMW-GS también pueden tener un efecto específico en la agregación de la glutenina (Dupont y Altenbach, 2003). El GMP tiene una mayor proporción de HMW-GS que de LMW-GS y se correlaciona con una mejor calidad de la harina de trigo (Pechanek *et al.*, 1997).

Hay una correlación significativa entre la cantidad de GMP en los granos de trigo y las variables de calidad de la harina, como las propiedades del pan y de la masa (Weegels *et al.*, 1996; Tarekegne y Labuschagne, 2005). La cantidad de GMP es un indicador de la calidad de la harina de trigo y la rigidez de la capa de gel de GMP, expresado como el valor G' (Pa) obtenido a partir de una medición reológica dinámica, se correlaciona con la elaboración de pan de calidad (Pritchard, 1993). Hay también una correlación positiva fuerte entre el tiempo de desarrollo de la masa y los valores de meseta G' de GMP separados de la harina (Bekkers *et al.*, 2000). El tamaño de la distribución de las partículas GMP es otro factor

respectively. However, total amount of HMW-GS and its relative amount to total grain protein play more important roles than HMW-GS composition in determining flour quality (Vasil and Anderson, 1997; Sliwinski *et al.*, 2004). Thus, accumulation of HMW-GS in grain could be important for wheat quality development.

Content and size distribution of GMP in wheat grains are both genetically and environmentally controlled; individual grains of wheat cultivars show significant variation in grain mass and nutrient concentration depending on their position within the spike (Stoddard, 1999). Grains in distal positions on the spikelet have lower N, macronutrient and micronutrient concentrations than those in proximal positions on basal-central spikelets (Calderini and Ortiz-Monasterio, 2003). Environmental factors, such as soil water content, have also significant effect on GMP characteristics. Moisture stress during grain-filling increases flour protein content and sodium dodecyl sulfate (SDS) sedimentation volume (Saint Pierre *et al.*, 2008). Drought promote HMW-GS accumulation at early grain filling stage, whereas the case is just opposite at late grain filling stage (Jiang *et al.*, 2009). According to Li *et al.* (2011), increased N levels promote accumulation of HMW and LMW-GS, GMP content, and proportion of the larger particle of GMP under irrigated condition; besides, protein content also increased under rainfed condition. Both dough development time and stability time are longest with single post-anthesis irrigation, while the second irrigation lead to shortened dough development and stability time and weakened gluten strength, as well as decreased glutenin polymerization index and average size of GMP (Yao *et al.*, 2010). Hence, a better understanding of size distribution of GMP particles in wheat grains could help determine suitable management practices and design wheat breeding strategies aimed at increasing grain yield without affecting grain quality.

In the north of China wheat is traditionally irrigated two or three times, at jointing and booting stages (or grain filling stage). The booting stage is the critical period of water requirement. However, frequent soil water stress has influenced both the dry matter production and the grain formation of wheat (Ma *et al.*, 2007). Water-saving irrigation technology more and more important in recent years. Hence, a better understanding of formation of glutenin in

importante para la calidad de la fabricación de pan de harina de trigo (Dupont y Altenbach, 2003). Según Don *et al.* (2006), el tamaño de las partículas GMP se correlaciona fuertemente con el tiempo de preparación de la masa. Tanto la cantidad como la composición de HMW-GS se correlaciona con las propiedades de la masa y la calidad de la preparación del pan y, además, las subunidades 2+12 y 5+10 están fuertemente correlacionadas con propiedades de gluten débiles y fuertes, respectivamente. Sin embargo, la cantidad total de HMW-GS y su cantidad en relación con la proteína total del grano desempeñan un rol más importante que la composición HMW-GS en la determinación de la calidad de la harina (Vasil y Anderson, 1997; Sliwinski *et al.*, 2004). Así, la acumulación de HMW-GS en el grano podría ser importante para el desarrollo de la calidad del trigo.

El contenido y la distribución del tamaño de las GMP en los granos de trigo están genética y ambientalmente controlados; los granos individuales de los cultivares de trigo muestran variaciones significativas en la masa de los granos y en la concentración de nutrientes en función de su posición en la espiga (Stoddard, 1999). Los granos en posiciones distales en la espiguilla tienen menos N y concentraciones de macronutrientes y micronutrientes que los de posiciones proximales en las espiguillas basal-céntricas (Calderini y Ortiz-Monasterio, 2003). Los factores ambientales, como el contenido de agua del suelo, también tienen efecto significativo en las características de GMP. La falta de humedad durante el llenado de grano aumenta el contenido de proteínas en la harina y el volumen de sedimentación con dodecil sulfato de sodio (SDS) (Saint-Pierre *et al.*, 2008). La sequía promueve la acumulación de HMWGS en la etapa inicial de llenado del grano, mientras que lo contrario ocurre en la fase final de llenado del grano (Jiang *et al.*, 2009). Según Li *et al.* (2011), el aumento en los niveles de N promueve la acumulación de HMW y LMW-GS, el contenido de GMP, y la presencia de partículas mayores de GMP en condiciones de riego; además, el contenido de proteínas también aumentó en condiciones de secano. Tanto el tiempo de desarrollo de la masa como el tiempo de estabilidad fueron más largos con un sólo riego después de la antesis, mientras que el segundo riego causó un desarrollo abreviado de la masa, y el tiempo de estabilidad y un gluten débil, como un índice menor de polimerización de la glutenina y tamaño

wheat grains under different irrigation patterns could help determine suitable management practices.

The objectives of this study were to assess granule size distribution of GMP in grains set at different positions within spike in three winter wheat cultivars, and to determine the role played by soil water status in determining GMP and HMW-GS contents.

MATERIALS AND METHODS

Plant materials and experiment description

The experiment was conducted at the experimental farm of the Research Institute of Agricultural Science (37 °N, 116 °E), Dezhou, PR China, during 2009-2010 and 2010-2011 growing seasons. Treatments were three wheat cultivars and two irrigation systems. Three winter wheat cultivars with different end-use quality were used: Jinan 17, Yannong 24 and Lumai 21. Yannong 24 and Lumai 21 were sown on October 15, 2010 and the 0-20 cm soil layer contained 83.6 mg kg⁻¹ available N, 18.2 mg kg⁻¹ available phosphate and 95.2 mg kg⁻¹ available K. Jinan 17 and Lumai 21 were sown on October 17, 2009; in the soil the content of available N, P and K was 81.5, 17.6 and 93.6 mg kg⁻¹. Irrigation systems were: 1) two irrigations (750 m³ ha⁻¹ each at jointing and booting stages) and, 2) rainfed (no irrigation). The moisture content in soil after anthesis is shown in Figure 1. Plot dimension was 3 m×3 m and each experimental unit consisted of 10 rows of wheat with 25-cm spacing. Regional crop farming practices were implemented to minimize pest, disease, and weed incidence.

Plant sampling

Heads fully flowering on the same date were labeled with thread. At maturity, the labeled heads were hand-harvested on June 14, 2010 and June 12, 2011. Each sample was oven-dried at 70 °C for 72 h and used for measuring GMP particles distribution and content of GMP and HMW-GS. From the basal five to 12 spikelets on spikes of these cultivars, the first and second basal grains on each spikelet were detached as basal grains, whereas the most distal grain on the same spikelet was detached as distal grains. The basal and distal grains were respectively detached and then ground into flour to perform determinations.

GMP content analysis

A quantity of 0.05 g of flour was dispersed, mixed with 1 mL of SDS (98.5 %, Sigma) and centrifuged at 15,500 × g for 15 min using an Allegra X-64R centrifuge (Beckman, San

promedio menor de las GMP (Yao *et al.*, 2010). Por tanto, una mejor comprensión de la distribución del tamaño de las partículas de GMP en los granos de trigo podría ayudar a determinar prácticas de manejo adecuadas y a diseñar estrategias de mejoramiento del trigo para aumentar el rendimiento del grano sin afectar su calidad.

En el norte de China el trigo se riega tradicionalmente dos o tres veces durante las etapas de elongación y arranque (o etapa de llenado de grano). La etapa de arranque es el período crítico de necesidad de agua. El estrés hídrico frecuente ha influido la producción de materia seca y la formación del grano de trigo (Ma *et al.*, 2007). La tecnología de riego de ahorro de agua es cada vez más importante; así un conocimiento mayor de la formación de la glutenina en los granos de trigo bajo diferentes regímenes de riego podría ayudar a determinar prácticas de manejo adecuadas.

Los objetivos de este estudio fueron evaluar la distribución del tamaño de los gránulos de las GMP en los granos ubicados en diferentes lugares de la espiga en tres cultivares de trigo de invierno, y determinar el efecto del estatus del agua del suelo en los contenidos de GMP y HMW-GS.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y descripción del estudio

El estudio se realizó en la granja experimental del Instituto de Investigación de Ciencias Agrícolas (37° N, 116° E), Dezhou, RP China, durante las estaciones de crecimiento de 2009-2010 y 2010-2011. Los tratamientos fueron tres cultivares de trigo con dos sistemas de riego. Tres variedades de trigo de invierno con distinta calidad de uso final fueron usadas: Jinan 17, Yannong 24 y Lumai 21. Yannong 24 y Lumai 21 se sembraron el 15 de octubre de 2010 y la capa de suelo de 0-20 cm contenía 83.6 mg kg⁻¹ de N disponible, 18.2 mg kg⁻¹ de fosfato disponible y 95.2 mg kg⁻¹ de K disponible. Jinan 17 y Lumai 21 se sembraron el 17 de octubre de 2009 y el contenido en el suelo de N, P y K disponibles fue 81.5, 17.6 y 93.6 mg kg⁻¹. Los sistemas de riego fueron: 1) dos riegos (750 m³ ha⁻¹ cada uno en las etapas de elongación de tallo y formación de la espiga) y, 2) de temporal (sin riego). En la Figura 1 se presenta el contenido de humedad en el suelo después de la anthesis. El tamaño de la parcela fue de 3 m×3 m, y cada unidad experimental

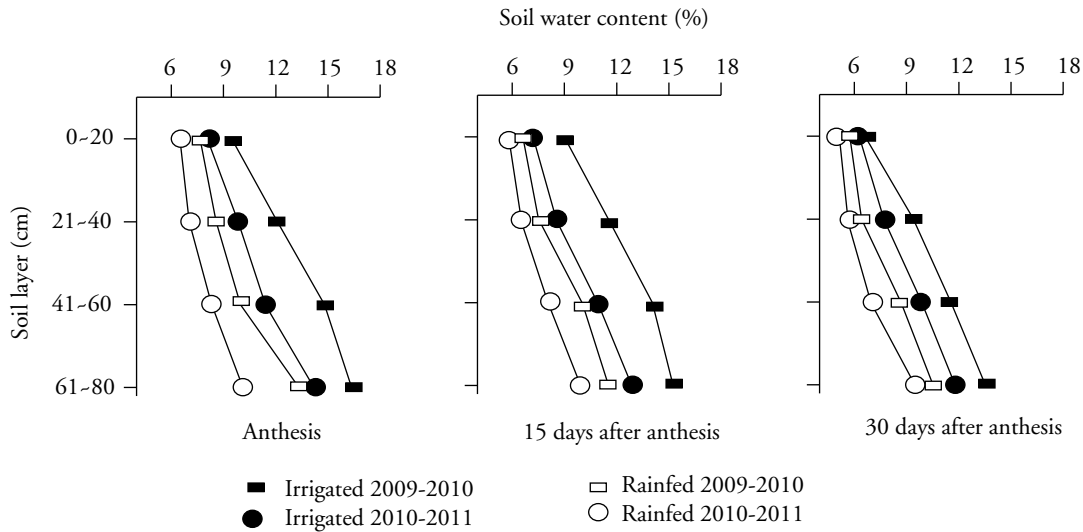


Figure 1. Soil water content (%) after wheat (*Triticum aestivum* L.) anthesis.

Figura 1. Contenido de agua del suelo (%) después de la anthesis del trigo (*Triticum aestivum* L.).

Francisco, CA). Glutenin macropolymer content was measured using TU-1901 dual-wavelength spectrophotometer (Persee Instruments, Peking, China). Glutenin macropolymer content was calculated with a set of Kjeldahl protein values.

Isolation of glutenin macropolymer

Glutenin macropolymer-gel was isolated by dispersing 1.4 g of defatted flour into 0.05 mol L⁻¹ SDS (28 mL) and then centrifuged at 80 000 × *g* for 30 min at 20 °C using an ultracentrifuge Beckman L-60 (Beckman, San Francisco, CA) as described by Graveland *et al.* (1985). The GMP gel-layer was collected on the top of the supernatant.

Coulter laser particle size analysis

One gram of GMP-gel was added to 8 mL of 0.05 mol L⁻¹ SDS solvent, the tube was sealed and placed on a roller-bank for 3 h at 23 °C and analyzed with a Coulter Laser LS13320 (Beckman Coulter Instruments, San Francisco, CA). From the pattern, the GMP surface area distribution and volume distribution was measured and calculated.

HMW-GS content analysis

The quantification of the HMW-GS was performed according to Liang *et al.* (2002). HMW-GS were first separated by SDS-polyacrylate gel electrophoresis (SDS-PAGE), the gel

tuvo 10 hileras de trigo con 25 cm de distancia entre ellas. Técnicas agrícolas regionales se aplicaron para minimizar las plagas, las enfermedades, y el crecimiento de maleza.

Muestreo de plantas

Las inflorescencias completas se marcaron con hilo en la misma fecha. En su madurez, las flores marcadas fueron cosechadas a mano el 14 de junio de 2010 y el 12 de junio de 2011. Cada muestra se secó 72 h en un horno a 70 °C y se usó para medir la distribución de partículas GMP y el contenido de GMP y HMW-GS. De las espiguillas basales, de cinco a 12 de las espigas de estos cultivares, se sacaron el primero y segundo grano basal de cada espiguilla como granos basales, mientras que el grano más distal en la misma espiguilla se sacó como grano distal. Los granos basales y distales se sacaron y luego se molieron hasta hacerlos harina para realizar observaciones.

Análisis del contenido GMP

Se esparció 0.05 g de harina, se mezcló con 1 mL de SDS (98.5 %, Sigma) y se centrifugó 15 min a 15 500 × *g* durante usando una centrifugadora Allegra X-64R (Beckman, San Francisco, CA). El contenido del macropolímero de glutenina se midió usando un espectrofotómetro TU-1901 de doble longitud de onda (Persee Instruments, Pekín, China). El contenido del macropolímero de glutenina se calculó con un conjunto de valores de proteína Kjeldahl.

was stained with 0.05 % Coomassie Brilliant Blue B250 (Sigma) for 24 h, and destained in distilled water for 48 h; then each band was separately cut off from the gel and placed in an Eppendorf tube. Depending on the intensity of each band, 1 mL of 50 % isopropyl alcohol containing 3 % SDS was added to the tube which was incubated at 37 °C for 24 h until the gel cleared. The extraction was monitored at 595 nm with a UV-2401 Shimadzu spectrophotometer (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan).

Experimental design and statistical analysis

The experimental design was a complete randomized block with three replicates, data were analyzed using ANOVA and Tukey test ($p \leq 0.05$) for treatment means, with SPSS software. General correlation coefficients were calculated between diameter of GMP particles and content of GMP and HMW-GS.

RESULTS AND DISCUSSION

Content of total HMW-GS in grains

In the three cultivars, the HMW-GS total content in basal grains was higher ($p \leq 0.05$) than in distal grains in the two irrigation treatments (Figure 2). Irrigated and rainfed conditions had different influence on HMW-GS content. Under irrigation, the HMW-GS content in basal and distal grains decreased when compared with those under rainfed. The results indicated that rainfed was beneficial for the accumulation of HMW-GS in wheat.

These results are similar to those of Li *et al.* (2011), who indicated that rainfed could increase

Aislamiento del macropolímero de glutenina

El gel del macropolímero de glutenina se aisló dispersando 1.4 g de harina desgrasada en 0.05 mol L⁻¹ SDS (28 mL) y luego se centrifugó 30 min a 80 000 × g a 20 °C utilizando una ultracentrifugadora Beckman L-60 (Beckman, San Francisco, CA), como lo describen Graveland *et al.* (1985). La capa de gel de GMP fue recolectada en la parte superior del sobrenadante.

Análisis del tamaño de partículas con láser Coulter

Un gramo de gel GMP se agregó a 8 mL de 0.05 mol L⁻¹ de disolvente SDS; el tubo se cerró herméticamente y se colocó 3 h en un banco de rodillo a 23 °C, y se analizó con un láser Coulter LS13320 (Beckman Coulter Instruments, San Francisco, CA). Luego se midieron y calcularon la distribución de GMP en la superficie y el volumen de distribución.

Análisis del contenido de HMW-GS

La cuantificación de la HMW-GS fue realizada de acuerdo con Liang *et al.* (2002). HMW-GS se separaron primero por electroforesis de gel de poliacrilato de SDS (SDS-PAGE); el gel se tiñó con 0.05 % de azul brillante Coomassie B250 (Sigma) durante 24 h, y desmanchado en agua destilada durante 48 h; luego cada banda fue cortada por separado del gel y colocada en un tubo Eppendorf. Dependiendo de la intensidad de cada banda, 1 mL de 50 % de alcohol de isopropilo que contiene 3 % de SDS se agregó al tubo que se incubó 24 h a 37 °C hasta que el gel se aclaró. La extracción se monitorizó a 595 nm con un espectrofotómetro UV-2401 Shimadzu (Shimadzu Corporation, Kioto, Japón).

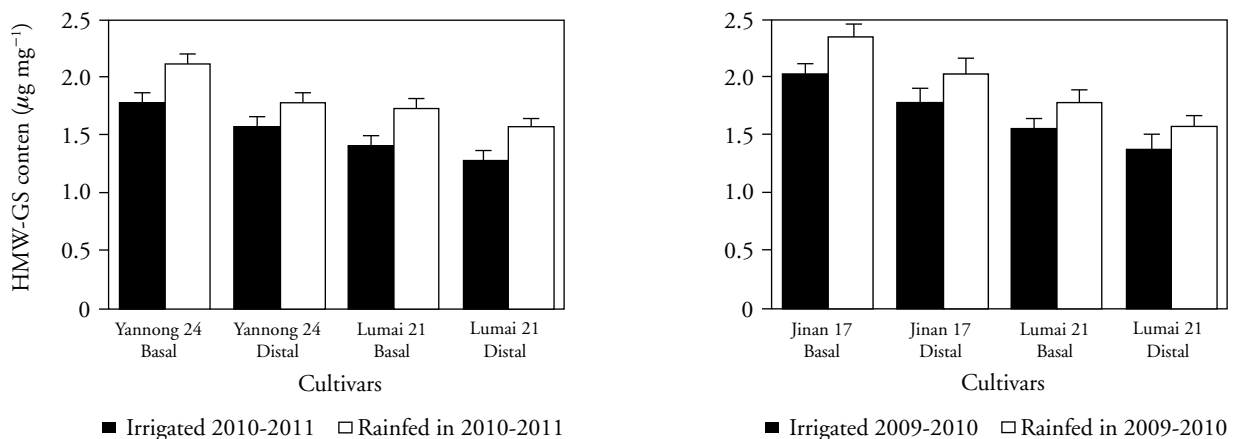


Figure 2. Changes of high molecular weight glutenin subunits (HMW-GS) content in wheat grains.

Figura 2. Cambios del contenido de las subunidades de glutenina de alto peso molecular (HMW-GS) en los granos de trigo.

the contents of HMW-GS and LMW-GS and H/L values in wheat, although the proportions of single subunits varied under the irrigation treatments.

GMP content in grains

Changes of GMP content in basal grains were higher than in distal grains (Figure 3), indicating that more glutenin is accumulated in basal grains. Besides, under rainfed GMP content in basal and distal grains were significantly increased by 9.3-18.7 % and 17.2-24.8 %, as compared to irrigation.

These results were similar to those of Stoddard (1999), who concluded that grains from distal florets were always smaller and had lower nitrogen contents than those from the two proximal florets on each spikelet. There were differences in grain mass and N between florets within spikelets, and between spikelets within head varied according to cultivar.

There are some discrepancy between the results of the present study and those of Li *et al.* (2011), who found that the GMP contents increased as N rates increased under irrigation. But under the rainfed, the GMP contents showed difference with the N level. Some of these differences may be related mainly to the water-N interaction.

Particle volume distribution

The volume percentages of particles $>100 \mu\text{m}$ in basal grains were 19.6-34.3 % and higher ($p \leq 0.05$)

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental fue bloques completos al azar con tres repeticiones; los datos fueron analizados mediante ANOVA y la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) para las medias de tratamiento, usando SPSS. Los coeficientes de correlación general se calcularon entre el diámetro de las partículas de GMP y el contenido de GMP y HMW-GS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido del total de HMW-GS en los granos

En los tres cultivares, el contenido total de HMW-GS en los granos basales fue mayor ($p \leq 0.05$) que en los granos distales en los dos tratamientos de riego (Figura 2). Las condiciones de riego y temporal tuvieron efectos diferentes en el contenido de HMW-GS. Con riego, el contenido de HMW-GS fue menor en los granos basales y distales, comparando con los de temporal. Los resultados indicaron que la condición de temporal fue beneficiosa para la acumulación de HMW-GS en el trigo.

Estos resultados son similares a los reportados por Li *et al.* (2011), quienes indicaron que en temporal podría aumentar el contenido de HMW-GS y LMW-GS y el valor de H/L en el trigo, aunque las proporciones de las subunidades individuales variaron en los tratamientos de riego.

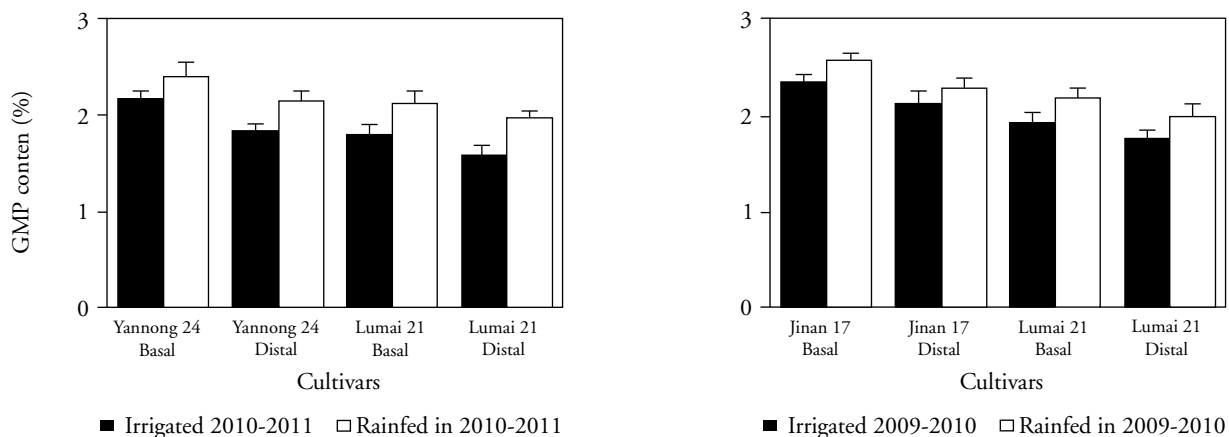


Figure 3. Changes of glutenin macropolymer (GMP) content in wheat grains.

Figura 3. Cambios del contenido del macropolímero de glutenina (GMP) en los granos de trigo.

than in distal grains (11.1-17.4 %) under irrigation and rainfed, whereas volume percentages of 12-100 μm and $<12 \mu\text{m}$ particles in distal grains were higher than those in basal grains (Table 1).

Under rainfed, volume percentages of $>100 \mu\text{m}$ in basal and distal grains were increased (except Jinan 17 distal grains in 2009-2010), whereas those of $<12 \mu\text{m}$ were decreased compared to irrigation. These results indicate that soil water deficit (rainfed condition) would increase volume percentages of large particles. Results also show that particle size distribution in basal and distal grains was significantly different, which might be due to differences in development time of floret and structure of vascular bundle in individual grains on a wheat spike. In basal grains, the development time of floret was earlier and the number and cross-sectional area of vascular bundles were higher than those in distal grains, which was beneficial for transportation and accumulation of N. As a result, basal grains have a stronger capacity of protein synthesis than distal grains, which might promote the development and growth of large GMP particles (Ru *et al.*, 2006; Xiong *et al.*, 2009).

Contenido de GMP en los granos

Los cambios de contenido de GMP en los granos basales fueron mayores que en los granos distales (Figura 3), lo que indica que más glutenina se acumuló en los basales. Además, en temporal, el contenido de GMP en los granos basales y distales aumentó significativamente en 9.3 a 18.7 % y 17.2 a 24.8 %, comparado con los de riego.

Estos resultados fueron similares a los de Stoddard *et al.* (1999), quienes concluyeron que los granos de floretes distales siempre fueron menores y tenían contenidos de N inferiores a los de los dos floretes proximales de cada espiguilla. Hubo diferencias en la masa de granos y N entre los floretes en las espiguillas, y entre las espiguillas dentro de la cabeza diferencias según la variedad de cultivo.

Hay cierta discrepancia entre los resultados del presente estudio y los de Li *et al.* (2011). Ellos encontraron que los contenidos de GMP aumentaron al aumentar los índices de N bajo riego. Bajo temporal, los contenidos de GMP mostraron diferencia con el nivel de N. Algunas de estas diferencias pueden

Table 1. Volume distribution of glutenin macropolymer (GMP) in wheat grains (%).

Cuadro 1. Distribución del volumen del macropolímero de glutenina (GMP) en los granos de trigo (%).

Year	Treatment	Varieties	Diameter of GMP particles (μm)		
			<12	12-100	>100
2010-2011	Rainfed	Yannong 24 Basal	16.2 d	49.9 c	33.9 a
		Yannong 24 Distal	22.5 c	60.1 a	17.4 e
		Lumai 21 Basal	20.3 c	53.5 b	26.2 c
		Lumai 21 Distal	26.1 b	60.4 a	13.5 f
	Irrigated	Yannong 24 Basal	22.6 c	48.2 c	29.2 b
		Yannong 24 Distal	30.3 a	57.8 ab	11.9 g
		Lumai 21 Basal	26.1 b	54.3 b	19.6 d
		Lumai 21 Distal	31.6 a	56.9 ab	11.5 g
		Jinan 17 Distal	18.2 e	47.5 e	34.3 a
2009-2010	Rainfed	Jinan 17 Basal	18.2 e	47.5 e	34.3 a
		Jinan 17 Distal	25.7 bc	60.8 a	13.5 f
		Lumai 21 Basal	23.5 c	49.2 d	27.3 c
		Lumai 21 Distal	30.2 a	56.0 b	13.8 ef
	irrigated	Jinan 17 Basal	20.6 d	48.8 de	30.6 b
		Jinan 17 Distal	26.9 b	58.9 ab	14.2 e
		Lumai 21 Basal	25.1 bc	52.7 c	22.2 d
		Lumai 21 Distal	30.8 a	58.1 ab	11.1 g
		Jinan 17 Distal	25.7 bc	60.8 a	13.5 f

Means with different letter in a row are statistically different ($p \leq 0.05$) ♦ Las medias con letra diferente en una hilera son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$).

Surface area distribution

Under irrigated and rainfed conditions, surface area percentages of $> 100 \mu\text{m}$ in basal grains were 1.2-2.9 %, i.e. higher than those in distal grains (0.6-1.1 %), whereas surface area percentages $<12 \mu\text{m}$ in basal grains were 74.1-85.8 % and lower than in distal grains (80.2-88.9 %) (Table 2). Compared with irrigation, the surface area percentages of $>100 \mu\text{m}$ increased by 12.0-50.0 % and 0.0-83.3 % in basal and distal grains under rainfed, indicating that drought could increase surface area percentage of large particles in the three wheat cultivars.

Environment has a strong effect on the size of GMP particles and on GMP content in wheat grains (Yao *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2011). Results of the present study confirmed that GMP particles size was affected by irrigation regime, since volume percentage and surface area percentage of large particles ($>100 \mu\text{m}$) increased under rainfed, indicating that soil water deficit led to a change in percentage volume and surface area of GMP particles.

According to Don *et al.* (2003), GMP consists of spherical glutenin particles and originates from protein bodies observed in developing grain. Van

estar relacionadas principalmente con la interacción agua-N.

Distribución del volumen de partículas

Los porcentajes de volumen de partículas $>100 \mu\text{m}$ en los granos basales fueron 19.6-34.3 % y mayores ($p \leq 0.05$) que en los granos distales (11.1-17.4 %) bajo temporal, mientras que los porcentajes de volumen de partículas de 12-100 μm y $<12 \mu\text{m}$ en granos distales fueron mayores que los de los granos basales (Cuadro 1).

Bajo temporal, los porcentajes de volumen $>100 \mu\text{m}$ en los granos basales y distales aumentaron (excepto los granos distales Jinan 17 en 2009-2010), mientras que los $<12 \mu\text{m}$ disminuyeron comparado con la condición de riego. Estos resultados indican que el déficit de agua en el suelo (condiciones de temporal) aumenta los porcentajes de volumen de las partículas de gran tamaño. También revelan que la distribución del tamaño de las partículas en los granos basales y distales fue significativamente diferente, lo que podría deberse a diferencias en el tiempo de desarrollo del florete y la estructura del haz vascular en los granos individuales de una espiga de trigo. En

Table 2. Surface area distribution of glutenin macropolymer (GMP) in wheat grains (%).
Cuadro 2. Distribución del área de superficie del macropolímero de glutenina (GMP) en los granos de trigo (%).

Year	Treatment	Varieties	Diameter of GMP particles (μm)		
			<12	12-100	>100
2010-2011	Rainfed	Yannong 24 Basal	74.1 f	23.0 a	2.9 a
		Yannong 24 Distal	80.2 d	18.7 b	1.1 d
		Lumai 21 Basal	77.8 e	20.4 ab	1.8 c
		Lumai 21 Distal	86.7 bc	12.6 cd	0.7 de
	Irrigated	Yannong 24 Basal	79.6 de	18.0 b	2.4 b
		Yannong 24 Distal	87.5 ab	11.9 de	0.6 e
		Lumai 21 Basal	85.8 c	13.0 c	1.2 d
		Lumai 21 Distal	88.9 a	10.5 e	0.6 e
		Jinan 17 Distal	88.1 a	11.1 d	0.8 d
2009-2010	Rainfed	Jinan 17 Basal	76.3 f	20.9 a	2.8 a
		Jinan 17 Distal	85.9 bc	13.3 bc	0.8 d
		Lumai 21 Basal	83.2 d	14.8 b	2.0 bc
		Lumai 21 Distal	88.1 a	11.1 d	0.8 d
	Irrigated	Jinan 17 Basal	78.1 e	19.4 a	2.5 ab
		Jinan 17 Distal	86.2 bc	13.0 bc	0.8 d
		Lumai 21 Basal	85.5 c	12.8 c	1.7 c
		Lumai 21 Distal	87.8 ab	11.6 d	0.6 d
		Jinan 17 Distal	87.8 ab	11.6 d	0.6 d

Means with different letter in a row are statistically different ($p \leq 0.05$) ♦ Las medias con diferente letra en una hilera son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$).

Herpen *et al.* (2008) suggest that protein bodies were the building blocks for the formation of larger glutenin particles during the desiccation phase of kernel development. A close correlation was found between accumulation of GMP and rapid loss of water during desiccation (Carceller and Aussenac, 2001). The premature desiccation of wheat grain induces SDS-insoluble polymer formation and percentage of SDS-insoluble polymers as a proportion of total polymers can increase from less than 10 % at the end of kernel ripening to 50 % in as little as 10 d. In the present study, the volume and surface area percentages of large GMP particles under rainfed conditions were significantly increased, suggesting that water-deficit treatment is probably beneficial for desiccation of grains and thus promote the formation of large GMP particles.

Relationships between GMP size distribution and content of GMP and HMW-GS

Correlation between GMP size distribution and HMW-GS content with volume percentage <12 μm GMP particles was negative, but it was positive with >100 μm GMP particles (Table 3), suggesting that large GMP particles have high GMP content.

CONCLUSIONS

There is a higher volume and surface area percentages of large particles in basal grains than in distal grains, whereas those of small particles were the opposite. High-molecular-weight glutenin subunit and GMP content in basal grains were higher than

Table 3. Correlation coefficients between glutenin macropolymer (GMP) particle volume and contents of GMP and high molecular weight glutenin subunits (HMW-GS).

Cuadro 3. Coeficientes de correlación entre los macropolímeros de glutenina (GMP) de volumen de partículas y contenido de GMP y las subunidades de glutenina de alto peso molecular (G-APM).

Quality trait	Diameter of GMP particles (μm)		
	< 12	12–100	> 100
GMP content	-0.866*	-0.554	0.782*
HMW-GS content	-0.823*	-0.529	0.744*

* $p \leq 0.05$.

los granos basales, el desarrollo del flósculo fue antes y el número y área de sección transversal de los haces vasculares fueron mayores que los de los granos distales, lo cual favoreció el transporte y acumulación de N. Como resultado, los granos basales tienen una capacidad mayor de síntesis de proteínas que los granos distales, lo que podría promover el desarrollo y crecimiento de grandes partículas de GMP (Ru *et al.*, 2006; Xiong *et al.*, 2009).

Distribución del área de superficie

En condiciones de riego y de temporal, los porcentajes del área de superficie de granos basales > 100 μm fueron 1.2-2.9 %, es decir, superiores a los de los granos distales (0.6-1.1 %), mientras que los porcentajes del área de superficie de granos basales <12 μm fueron 74.1-85.8 % y menores que en los granos distales (80.2-88.9 %) (Cuadro 2). Comparado con el riego, los porcentajes del área de superficie >100 μm aumentaron 12.0 a 50.0 % y 0.0 a 83.3 % en los granos basales y distales bajo temporal, indicando que la sequía podría aumentar el porcentaje del área de superficie de partículas grandes en los tres cultivares de trigo.

El ambiente tiene un efecto fuerte sobre el tamaño de las partículas GMP y en el contenido de GMP en los granos de trigo (Yao *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2011). Los resultados de este estudio confirmaron que el tamaño de las partículas GMP fue afectado por el régimen de riego, ya que el porcentaje de volumen y el del área de superficie de las partículas grandes (>100 μm) aumentaron bajo temporal, indicando que el déficit de agua en el suelo indujo un cambio en los porcentajes de volumen y de superficie de las partículas GMP.

Según Don *et al.* (2003), GMP está compuesto de partículas esféricas de glutenina y se origina en cuerpos de proteínas que se observan en el desarrollo del grano. Van Herpen *et al.* (2008) sugieren que los cuerpos proteínicos fueron los bloques de construcción para formar partículas de glutenina más grandes durante la fase de desecación en el desarrollo del grano. Hubo una correlación cercana entre la acumulación de GMP y la pérdida rápida de agua durante la desecación (Carceller y Aussenac, 2001). La desecación prematura del grano de trigo induce la formación del polímero insoluble en SDS y el porcentaje de polímeros insolubles en SDS, como proporción del total de polímeros, puede aumentar desde

that in distal grains, indicating that more GMP particles were accumulated in basal grains than in distal grains, and then the small ones assembled larger ones. The soil water deficit enhanced accumulation of HMW-GS and GMP, and was prone to forming larger GMP particles in basal and distal wheat grains; thus, irrigation levels could influence both glutenin biosynthesis and HMW-GS content, and eventually influence wheat flour quality. Regarding wheat production, irrigation was the most important factor for regulating yield and quality.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by the National Natural Science Foundation of China (31271667, 30871477), the Natural Science Foundation of Shandong Province, China (ZR2010CM044), the National Basic Research Program of China (973 Program 2009CB118602), and State Key Laboratory of Crop Biology (Grant no. 2012KF01) at Shandong Agricultural University, China.

LITERATURE CITED

- Bekkers, A. C. A. P. A., W. J. Lichtendonk, A. Graveland, and J. J. Plijter. 2000. Mixing of wheat flour dough as a function of the physicochemical properties of the SDS-gel proteins. *In*: Shewry, P. R., and A. S. Tatham (eds). *Wheat Gluten- Proceedings of the 7th International Workshop Gluten*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, pp: 408-412.
- Calderini, D. F., and I. Ortiz-Monasterio. 2003. Grain position affects grain macronutrient and micronutrient concentrations in wheat. *Crop Sci.* 43: 141-151.
- Carceller, J. L., and T. Aussenac. 2001. Size characterisation of glutenin polymers by HPSEC-MALLS. *J. Cereal Sci.* 33: 131-142.
- Don, C., W. Lichtendonk, J. J. Plijter, and R. J. Hamer. 2003. Glutenin macropolymer: a gel formed by glutenin particles. *J. Cereal Sci.* 37: 1-7.
- Don, C., G. Lookhart, H. Naeem, F. MacRitchie, and R. J. Hamer. 2005. Heat stress and genotype affect the glutenin particles of the glutenin macropolymer-gel fraction. *J. Cereal Sci.* 42: 69-80.
- Don, C., G. Mann, F. Bekes, and R. J. Hamer. 2006. HMW-GS affect the properties of glutenin particles in GMP and thus flour quality. *J. Cereal Sci.* 44: 127-136.
- Dupont, F. M., and S. B. Altenbach. 2003. Molecular and biochemical impacts of environmental factors on wheat grain development and protein synthesis. *J. Cereal Sci.* 38: 133-146.
- Goesaert, H., K. Brijs, W. S. Veraverbeke, C. M. Courtin, K. Gebruers, and J. A. Delcour. 2005. Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality. *Trends Food Sci. Technol.* 16: 12-30.
- menos de 10 % hacia el final de la maduración del grano hasta 50 % en sólo 10 d. En el presente estudio, los porcentajes del volumen y área de superficie de las partículas grandes de GMP bajo temporal aumentaron significativamente, sugiriendo que el tratamiento de déficit de agua es probablemente beneficioso para la desecación de los granos y, por tanto, favorece la formación de partículas grandes de GMP.

Relaciones entre la distribución del tamaño de GMP y el contenido de GMP y HMW-GS

La correlación entre la distribución del tamaño de GMP y el contenido de HMW-GS con el porcentaje de volumen de partículas GMP <12 μm fue negativa, pero fue positiva con partículas GMP >100 μm (Cuadro 3), sugiriendo que las partículas GMP grandes tienen un alto contenido de GMP.

CONCLUSIONES

Los porcentajes de volumen y superficie de las partículas grandes son mayores en los granos basales que en los distales, mientras que en los de las partículas pequeñas sucede lo contrario. La subunidad de glutelina de alto peso molecular y el contenido de GMP en granos basales fueron mayores que en los granos distales, indicando que se acumularon más partículas GMP en los granos basales que en los distales, y luego las pequeñas se unieron a las más grandes. El déficit de agua en el suelo mejoró la acumulación de HMW-GS y GMP, y favoreció la formación de grandes partículas de GMP en los granos de trigo basales y distales; así, los niveles de riego podrían influir en la biosíntesis de gluteninas y el contenido HMW-GS, y eventualmente en la calidad de la harina de trigo. Con respecto a la producción de trigo, el factor irrigación fue el más importante para la regulación del rendimiento y la calidad.

—Fin de la versión en Español—

-----*-----

Graveland, A., P. Bosveld, W. J. Lichtendonk, J. P. Marseille, J. H. E. Moonen, and A. . Scheepstra. 1985. A model for the molecular structure of the glutenins from wheat flour. *J. Cereal Sci.* 3: 1-16.

- Jiang, D., H. Yue, B. Wollenweber, W. Tan, H. Mu, Y. Bo, T. Dai, Q. Jing, and W. Cao. 2009. Effects of post-anthesis drought and waterlogging on accumulation of high-molecular-weight glutenin subunits and glutenin macropolymers content in wheat grain. *J. Agron. Crop Sci.* 195: 89-97.
- Li, Y., Y. P. Yin, Q. Zhao, and Z. L. Wang. 2011. Changes of glutenin subunits due to water-nitrogen interaction influence size and distribution of glutenin macropolymer particles and flour quality. *Crop Sci.* 51: 2809-2819.
- Liang, R. Q., Y. R. Zhang, M. S. You, S. F. Mao, J. M. Song, and G. T. Liu. 2002. Multi-stacking SDS-PAGE for wheat glutenin polymer and its relation to bread-making quality. *Acta Agron. Sinica* 28: 609-614.
- Ma, R. K., X. L. Jia, Q. G. Zhang, L. H. Zhang, Y. R. Yao, and L. H. Yang. 2007. Physiological characteristics of water in wheat cultivar SX733: the effect of watersaving irrigation. *Acta Agron. Sinica* 33: 1446-1451.
- Pritchard, P.E.. 1993. The glutenin fraction (gel-protein) of wheat protein-a new tool in the prediction of baking quality. *Asp. Appl. Biol.* 36: 75-84.
- Pechanek, U., A. Karger, S. Gröger, B. Charvat, G. Schöggel, and T. Lelley. 1997. Effect of nitrogen fertilization on quantity of flour protein components, dough properties, and breadmaking quality of wheat. *Cereal Chem.* 74: 800-805.
- Ru, Z. G., G. Li, T. Z. Hu, and L. B. Li. 2006. Analysis of grain weight and quality at different floret position of strong glutenin wheat. *J. Triticeae Crops* 26: 134-136.
- Saint Pierre, C., C. J. Peterson, A. S. Ross, J. B. Ohm, M. C. Verhoeven, M. Larson, and B. Hoefler. 2008. Winter wheat genotypes under different levels of nitrogen and water stress: Changes in grain protein composition. *J. Cereal Sci.* 47: 407-416.
- Sliwinski, E. L., P. Kolster, A. Prins, and T. van Vliet. 2004. On the relationship between gluten protein composition of wheat flours and large-deformation properties of their doughs. *J. Cereal Sci.* 39: 247-264.
- Stoddard, F. L. 1999. Variation in grain mass, grain nitrogen and starch B-granule content within wheat heads. *Cereal Chem.* 76: 139-144.
- Tarekegne, A., and M. T. Labuschagne. 2005. Relationship between high molecular weight glutenin subunit composition and gluten quality in Ethiopian-grown bread and durum wheat cultivars and lines. *J. Agron. Crop Sci.* 191: 300-307.
- Van Herpen, T. W. J. M., J. H. G. Cordewener, H. J. Klok, J. Freeman, A. H. P. America, D. Bosch, M. J. M. Smulders, L. J. W. J. Gilissen, P. R. Shewry, and R. J. Hamer. 2008. The origin and early development of wheat glutenin particles. *J. Cereal Sci.* 48: 870-877.
- Vasil, I. K., and O. D. Anderson. 1997. Genetic engineering of wheat gluten. *Trends Plant Sci.* 2: 292-297.
- Weegels, P. L., A. M. van de Pijpekamp, A. Graveland, R. J. Hamer, and J. D. Schofield. 1996. Depolymerisation and re-polymerisation of wheat glutenin during dough processing: I. Relationships between glutenin macropolymer content and quality parameters. *J. Cereal Sci.* 23: 103-111.
- Xiong, F., Y. Kong, X. R. Meng, W. Lu, S. B. Ma, and Z. Wang. 2009. Study on vascular bundle system in spikes and caryopsis of wheat. *J. Triticeae Crops* 29: 93-99.
- Yao, F. J., M. R. He, D. Y. Jia, X. L. Dai, and Q. Cao. 2010. Effects of post-anthesis irrigation on degree of polymerization of storage protein and rheological properties in wheat. *Chinese J. Plant Ecol.* 34: 271-278.