

NISU KÕRGMOLEKULAARSETE VALKUDE JA KÜPSETUSOMADUSTE VAHELISTE SEOSTE UURIMISEST EESTIS

R. Koppel, A. Ingver, M. Tohver

Sissejuhatus

Üheks nisuaretuse eesmärgiks Eestis on kvaliteetse saianisu sordi saamine. Tera kvaliteedi kujunemist määravad mitmed faktorid: ilmastik, agrotehnika, mullastik jne. Sugugi mitte vähem tähtis ei ole nn. sisemine faktor ehk genoom. DNA struktuurse geeni primaarne produkt on valk, mille spetsiifilisus tuleneb polüpeptiidahela primaarsest struktuurist ja ilmneb makromolekulide näol – molekulide suuruses ja kujus, lahustuvuses, laengus, difusioonilises ja elektroforeetilises liikuvuses jne. Seetõttu võib valk olla kogu süsteemi, kromosoomi või kromosoomi osa markeriks (Tohver, 1996). Nisu valgulisest koostisest ja struktuurist sõltuvad ka küpsetusomadused. Nisule ainuomane teraliim ehk liimvalk ehk gluteen koosneb gliadiin- ja gluteniinvalkudest.

Viimastel aastakümnetel on maailmas hakatud uurima nisu küpsetuskvaliteeti määravaid tegureid molekulaarsel tasandil. Selle ala üks esimesi teadlasi oli Peter Payne oma meeskonnaga Inglismaalt, Cambridge'ist. Nad kasutasid kõrgmolekulaarsete (HMW) gluteniinialaühikute kromosoomi asukohtade kindlakstegemisel naatriumdodetsüülsulfaadi geelelektroforeesi (SDS-PAGE).

Uurimisgrupp leidis, et teatud kõrgmolekulaarsete gluteniinialaühikute olemasolu või puudumine nisusordi genoomis mõjutab küpsetusomadusi (Payne jt., 1979, 1980, 1981, 1987). Lawrence (1988) selgitas välja, et erinevate sortide küpsetusomadustele on suur mõju ka teatud spetsiifiliste HMW gluteniinialaühikute kvantiteedil.

Molekulaarbioloogiliste meetoditega on kindlaks tehtud, et taigna teraliimi gliadiinide sünteesi kontrollib kuni 50 erinevat geeni, mis lokaliseeruvad kromosoomides 1A, 1B, 1D ja 6A, 6B, 6D. Kõrgmolekulaarset gluteniini kodeerivad kromosoomides 1A, 1B ja 1D lokaliseerunud geenid. Suur mõju kvaliteedile on ka kromosoomides 2A, 2B, 3A, 3D, 5A ja 7D lokaliseerunud geenidel. On leitud, et madal küpsetuskvaliteet on seotud kromosoomides 1A, 1B, 4B ja 7B lokaliseerunud geenidega (Tohver, 1994). Eelnevast järeldub, et nisujahutaigna küpsetusomadusi mõjutavad peaaegu kõik kromosoomid, mistõttu küpsetuskvaliteediga seotud geneetika uurimine on komplitseeritud.

Alates 1996. aastast on tihenendud nisuuurimise alane koostöö EPMÜ Eksperimentaalbioloogia Instituudiga (EBI), mille käigus hakati uurima nisutera kõrgmolekulaarsete valkude elektroforeetiliste spektrite ja küpsetusomaduste vahelisi seoseid.

Materjal ja meetodika

Seoses ühistööga Jõgeva Sordiaretuse Instituudi ja Soome aretusfirma Boreal vahel oli 1997. ja 1998. aastal Jõgeva SAI suviniisu põhivõrdluse katses 30 Borealis aretatud aretist. Kõigist 30 aretisest määrati muude majanduslike ja bioloogiliste näitajate hulgas sellised kvaliteedinäitajad nagu proteiinisaldus (Jõgeva SAI-s), gluteenisisaldus ja -indeks, zeleny arv (TMKK kvaliteedilaboris) ning tehti elektroforeogramm tera kõrgmolekulaarsetest varuvalkudest (EBI-s). HMW gluteniini analüüsi D'Ovidio jt. (1996) poolt välja töötatud meetodika järgi. Elektroforeesiga määrati lookuste *Glu-A1*, *Glu-B1* ja *Glu-D1* kodeeritud kõrgmolekulaarse gluteniini fraktsiooniline koostis. Katse 16 perspektiivsemast aretisest ja sordist tehti küpsetusanalüüsid Soome aretusfirma Boreal küpsetuslaboris Soome Riigi Viljasalve Kvaliteedilabori meetodika järgi (Koppel, 1999). Küpsetusanalüüsides kaasnud taigna farinogrammiline ja ekstensiogrammiline analüüs.

Tulemused ja arutelu

EBI-s tehtud 30 suviniisuaretise elektroforeogramme uurides selgus, et enam esines *Glu-A1* lookuse kodeeritud fraktsiooni 2*(b), kuid kahel juhul ka fraktsioon 1(a) ja 0-alleel N (puudub ekspresioon) (tabel 1). *Glu-B1* lookuse kodeeritud fraktsioonidest esinesid enam 7+8(b) ja 7+9(c), kahel juhul 6+8(d) ja suhteliselt harva esinev 14+15(h). *Glu-D1* lookuse kodeeritud fraktsioone 5+10(d) ja 2+12(a) esines enam-vähem võrdselt. Erinevatel kõrgmolekulaarsete gluteniini fraktsioonidel, mida kodeerivad kromosoomide 1A, 1B ja 1D lookused *Glu-A1*, *Glu-B1* ja *Glu-D1*, on küpsetusomadustele erinev mõju.

Tabel 1. Boreali nisuaretiste kõrgmolekulaarse gluteniini fraktsioonid (Jõgeva SAI ja EPMÜ EBI, 1998)

Table 1. HMW glutenin fractions of the breeds (Jõgeva Plant Breeding Institute and Institut of Experimental Biology, 1998)

Aretis Breed	<i>Glu-A1</i>	<i>Glu-B1</i>	<i>Glu-D1</i>
BH 24774	2*(b)	7+8(b)	5+10(d)
BH 24775	2*(b)	7+8(b)	5+10(d)
BH 24785	1(a)	7+8(b)	5+10(d)
BH 24958	2*(b)	7+8(b)	5+10(d)
BH 24968	2*(b)	7+8(b)	2+12(a)
BH 25076	2*(b)	7+8(b)	2+12(a)
BH 25077	2*(b)	7+8(b)	2+12(a)
BH 25085	2*(b)	7+8(b)	5+10(d)
BH 25110	2*(b)	6+8(d)	5+10(d)
BH 25114	2*(b)	7+8(b)	2+12(a)
BH 25115	2*(b)	7+8(b)	2+12(a)
BH 25124	2*(b)	7+8(b)	2+12(a)
BH 25138	2*(b)	7+8(b)	2+12(a)
BH 25170	2*(b)	14+15(h)	5+10(d)
BH 25173	2*(b)	7+8(b)	2+12(a)
BH 25177	2*(b)	7+8(b)	2+12(a)
BH 25191	2*(b)	7+9(c)	5+10(d)
BH 25195	2*(b)	7+8(b)	2+12(a)
BH 25202	2*(b)	7+8(b)	2+12(a)
BH 25225	2*(b)	7+8(b)	5+10(d)
BH 25229	2*(b)	14+15(h)	2+12(a)
BH 25341	N(c)	7+8(b)	2+12(a)
BH 25357	N(c)	7+8(b)	2+12(a)
BH 25372	2*(b)	7+9(c)	5+10(d)
BH 25450	1(a)	7+8(b)	5+10(d)
Hja 23843	2*(b)	7+8(b)	5+10(d)
Hja 24471	2*(b)	7+9(c)	2+12(a)
HETA	2*(b)	6+8(d)	5+10(d)
SATU	2*(b)	7+8(b)	2+12(a)
TJALVE	2*(b)	7+9(c)	5+10(d)

Glu-A1. Kui selles lookuses on alleel 2*, millele vastab fraktsioon 2*, on taignal lühem segamisaeg, suurem gliadiinisisaldus, veesidumisvõime ja märja liimvalgu sisaldus kui aretistel, millel oli fraktsioon 1 (Khan jt., 1989).

Jõgeva SAI ja EBI uurimistöö tulemusena selgus, et fraktsiooni 1 sisaldavaid aretisi oli liiga vähe, et leida nende mõju küpsetusomadustele ja võrrelda fraktsiooni 2* mõjuga.

Glu-B1. Selles lookuses on mõneti erilisi HMW gluteniini allelele. Tulemused, mis erinevad teadlased on nende alleelide kodeeritud fraktsioone uurides saanud, on vastuolulised (Uusitalo, 1996). Rogers jt. (1989) väidavad, et Saksa sordid, millel on gluteniinifraktsioonid 17+18, on kvaliteetsed. Randall jt. (1992) on aga leidnud, et eespool nimetatud fraktsioonid mõjuvad kvaliteedile negatiivselt. Nad leidsid, et lookuse *Glu-B1* poolt kodeeritud gluteniiniühendite fraktsioonide paremusjärjestus on järgmine: 7+9≥13+16>7+8>(6+8)>17+18, kus parimad on 7+9 ja 13+16.

Meie uuringute põhjal oli fraktsiooni 7+8 (b) puhul kõrgem kvaliteedipunktide arv, proteiini- ja gluteenisaldus ning zeleny arv. Fraktsiooni 7+9 (c) puhul oli suurem pätsi ruumala, kõrgem poorsuse indeks ja zeleny indeks. Kuigi esines ka fraktsioone 6+8 (d) ja 14+15 (h), ei saa nende mõjust kvaliteedile midagi väita, sest antud fraktsioonid olid esindatud ainult kahel aretisel.

Glu-D1 lookuse kodeeritud HMW gluteeniini fraktsioonide mõju küpsetuskvaliteedile on üldtuntud. Fraktsioonide 5+10 esinemisel on küpsetusomadused paremad kui fraktsioonide 2+12 puhul (Rogers jt., 1989; Kolster, Vereijken, 1993; Campbell jt., 1987). On tähelepanuväärne, et need proteiinid on pärit just D-genoomist, mis eristab *Triticum aestivum*'it *Triticum durum*'ist. Campbelli jt. (1987) väitel oli fraktsioone 5+10 omavatel liinidel veidi suurem proteiinisaldus kui liinidel, millel esinesid fraktsioonid 2+12. Fraktsioonid 5+10 korreleerusid suurema taigna venitustakistusega, 2+12 väiksemaga. MacRichie (1992) uurimuste kohaselt 2+12 fraktsioonide asendamine fraktsioonidega 5+10 vähendab venitatavust. Ta seletab seda asjaoluga, et gluteeniinidel on olemas kriitiline piir, millest suurema massi korral hakkab venitatavus vähenema. Manley jt. (1992) väidavad, et miksoograafi, ekstensiograafi ja alveograafia analüüsitud taigna reoloogiliste omaduste ja fraktsioonide 2+12 esinemise vahel on negatiivne korrelatsioon, eriti kui esinevad ka fraktsioonid 6+8.

Jõgeval ja Harkus tehtud uurimuste põhjal oli fraktsioonide 5+10 (d) esinemise korral kõrgem kvaliteedipunktide arv, kõrgem poorsusindeks ja gluteeniindeks, fraktsioonide 2+12 (a) puhul aga suurem pätsi maht, veidi suurem proteiini- ja gluteenisaldus ning zeleny arv. 5+10 fraktsioonide esinemisel oli veidi pikem taigna moodustumise aeg ning stabiilsus ja kõrgem valorimeetri arv, fraktsioonide 2+12 esinemisel aga oli tainas elastsem ning venitusomadusi iseloomustavad näitajad kõrgemad.

Kokkuvõte

Eelpooltoodust on näha, et Jõgeva SAI ja EPMÜ EBI koostöös varuvalkude elektroforeesi tulemuste ja küpsetusomaduste vaheliste seoste uurimisel on jõutud esimeste huvitavate tulemusteni. Saadud andmete hulgas on nii kirjandusest leitud faktide tõestust kui ka erinevatele järeldustele jõudmist. Uurimise teeb raskemaks asjaolu, et materjal on suhteliselt ühesuguse geneetilise tagapõhjaga. Selle fakti üheks põhjuseks on kindlasti põhjamaises kliimas kasvatamiseks sobivatele nisusortidele ja aretistele esitatavad ranged nõuded. Teatud alleelid võivad olla seoses küpsetuskvaliteediga, kuid samas on nad seotud teiste tähtsate geenidega – ökoloogilistest tingimustest põhjustatud erinõuded Põhjamaades kasvatatavatele suvinisu sortidele on karmid.

Kõrgmolekulaarsete gluteeniini alaiühikute (fraktsioonide) kasutamine nisu küpsetuskvaliteeti ennustavates uuringutes on suhteliselt uus etapp nisuaretuses. Elektroforeesimeetodil on nisu kvaliteeti võimalik ennustada juba varajases aretusstaadiumis väikeste seemnekoguste olemasolu korral. Antud meetodi eeliseks on ka suhteliselt väike ajakulu (võrreldes näiteks küpsetusanalüüsiga, kus analüüsi läbiviimine on aja- ja töömahukas).

Et meie uurimuses viidi küpsetustest ja farinograafiline ning ekstensiograafiline analüüs läbi vaid 16 aretisega ja need olid suhteliselt ühetaolise geneetilise tagapõhjaga, siis ei saa midagi kindlat veel väita. Uurimus on Eestis suhteliselt uus ja vajab edaspidi täielikumat uurimist geneetiliselt mitmekesisemal materjalil. Kuid arvestama peab ka seda, et nisu küpsetusomadused on niivõrd kompleksed ja keerulised, et mitte ükski meetod ei suuda neid saajaprotsendilise täpsusega määrata.

Kirjandus

- Campbell, W. P., Wrigley, W. P., Cressey, P. J., Slack, C. R. Statistical correlations between quality attributes and grain protein composition for 71 hexaploid wheats used breeding parents. – *Cereal Chem.*, 64, p. 293...299, 1987.
- D'Ovidio, R., Lafiandra, D., Porceddu, E. Identification and molecular characterization of a large insertion within the repetitive domain of a high molecular-weight glutenin subunit gene from hexaploid wheat. – *Theor. Appl. Genet.*, 1993, p. 1048...1054, 1996.
- Khan, K., Tamminga, G., Lukow, O. The effect of wheat flour proteins on mixing and baking - correlations with protein fractions and high molecular weight glutenin subunit composition by gel electrophoresis. – *Cereal Chem.*, 66, p. 391...396, 1989.
- Kolster, P., Vereijken, J. M. Evaluating HMW glutenin subunits to improve bread-making quality of wheat. – *Cereal Foods World*, 38, p. 76...82, 1993.
- Koppel, R. Suvinisu aretiste võrdlev hindamine. – Dissertatsioon põllumajandusmagistri teaduskraadi taotlemiseks. Jõgeva, 1999. – 108 lk.
- Lawrence, G. J. The High Molecular Weight Glutenin Subunit Composition of Australian Wheat Cultivars. – *Aust. J. Agric. Res.* 37, p. 125...133, 1986.
- MacRichie, F. Physicochemical properties of wheat proteins in relation to functionality. – *Advances in Food and Nutrition Research*, 36, p. 2...87, 1992.

- Manley, M., Randall, P. G., McGill, A. E. J. The prediction of dough properties of South African wheat cultivars by SDS-page analysis of HMW glutenin subunits. – J. Cereal Sci., 15, p. 39...47, 1992.
- Payne, P. I., Corfield, K. G., Blackman, J. A. Identification of a high-molecular-weight subunit of glutenin whose presence correlates with breadmaking quality in wheats of related pedigree. – Theor. Appl. Genet. 55, p. 153...159, 1979.
- Payne, P. I., Law, C. N., Mudd, E. E. Control by homoeologous group 1 chromosomes of the high-molecular-weight subunits of glutenin, a major protein of wheat endosperm. – Theor. Appl. Genet. 58, p. 113...120, 1980.
- Payne, P. I., Corfield, K. G., Holt, L. M., Blackman, J. A. Correlations between the inheritance of certain high-molecular-weight subunits of glutenin and breadmaking quality in progenies of six crosses of bread wheat. – J. Sci. Food Agric. 32, p. 51...60, 1981.
- Payne, P. I., Nightingale, M. A., Krattiger, A. F., Holt, L. The relationship between HMW glutenin subunit composition and bread-making quality of British-grown wheat varieties. – J. Sci. Food Agric. 40, p. 51...65, 1987.
- Randall, P. G., Manley, M., Meiring, L., McGill, A. E. J. The High Weight Glutenin Subunits of South African Wheats. – J. Cereal Sci., 16, p. 211...218, 1992.
- Rogers, W. J., Payne, P. I., Hardiner, K. The HMW glutenin subunit and gliadin compositions of German-grown wheat varieties and their relationship with bread making quality. – Plant Breeding, 103, p. 89...100, 1989.
- Tohver, M. Nisu kvaliteedi uuringutest biokeemia ja geneetika meetoditega. – Põllumajandus, nr. 3, lk. 14...15, 1994.
- Tohver, M. Teraviljasortide identifitseerimine seemne varuvalkude elektroforeesi abil poliakrüülamiidgeelil. Kaasaja meetodid sordiaretuses. Jõgeva, lk. 33...44, 1996.
- Uusitalo, J. Vehnän leivontalaadun ennustaminen HMW-gluteeniinialaysikköyhdistelmän perusteella. Tutkielma. Helsingi, 1996. – 63 s.

Uurimistööd toetas Eesti Teadusfond, grant nr. 3162.

The Investigation of Relationships Between Baking Quality of Wheat and Electrophoretical Bands in Estonia

R. Koppel, A. Ingver, M. Tohver

Summary

The gluten proteins of wheat are mainly responsible for the baking quality of wheat. The differences in the functional properties of gluten are due to the differences in the properties of gluten protein groups. In 1998 30 spring wheat lines, bred in Boreal Plant Breeding (Finland), was assessed at Jõgeva PBI (protein and gluten content, gluten index, zeleny value) and electrophoreses were done at the Institute of Experimental Biology. Baking tests with 16 perspective lines were carried out. In this investigation have been pointed out relations between different HMW glutenin subunits and baking quality characters (protein content, gluten content and index, zeleny value and dough properties).