

T49 - NUEVOS CULTIVARES DE SOJA NO TRANSGENICAS, CON BAJO CONTENIDO DE INHIBIDORES DE TRIPSINA, OBTENIDOS EN LA EEA INTA PARANA

R. Vicentini* y S. Lassaga, B. Scandolo, L. Gianotti, S. Velásquez y A. Ditrich
INTA – EEA PARANA Ruta Prov. N° 11 Km 12.7 (3101) Oro Verde –Entre Rios Rca
Argentina- Tel/Fax 54- (0343) 4975200 rvicentini@parana.inta.gov.ar

Palabras claves: Soja, transgénicas, Inhibidores, tripsina.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) logró incrementos de producción muy importantes en el país con la introducción de nuevos germoplasmas, especialmente los genéticamente modificados tolerantes a glifosato y al ajuste de tecnologías de manejo como la siembra directa y la utilización de los hábitos de crecimiento para distintas épocas de siembra.

No menos importante es la utilización de inoculantes, el ajuste en el control integrado de plagas y enfermedades, y la adaptación regional de cultivares que limitan los potenciales de rendimiento.

Sin embargo no sea avanzó mucho en la calidad química del grano de soja para satisfacer las exigencias del consumidor y suplir algunos inconvenientes industriales en la elaboración de alimentos.(Bernard *et al.*, 1991).

La problemática de la calidad nutritiva e industrial del grano son en su mayoría potenciales, dado que los mercados de especialidades son incipientes (nuevos usos) y no existe bonificación.

Para ello, los objetivos de investigación deben orientarse a: a) incrementar el contenido y la calidad de proteínas y aceites. b) Incrementar el contenido de isoflavonas, c) eliminar las lipoxigenasas, d) reducir los factores alergénicos, e) reducir el contenido de polisacáridos y de factores antinutricionales, f) incrementar el porcentaje de metionina y g) estudiar las variantes genéticas asociadas a las fracciones y subfracciones (glicininas y b-conglicininas) proteicas.

Con la finalidad de desarrollar germoplasma con reducida cantidad de factores antinutricionales (Kunitz, 1945) que eviten o reduzcan la desactivación por calor del inhibidor de la tripsina, (Azcona *et al.*, 1993) la EEA Paraná comenzó a trabajar en el año 1996 para reducir este factor mediante cruzamientos e incorporarlos al germoplasma adaptado a la región.

Se han identificado cuatro formas de inhibidores de tripsina utilizando electroforesis con gel de poliacrilamida. Se distinguen por electroforesis tres formas designadas Ti-a, Ti-b y Ti-c. (Frattali *et al.*, 1968).

La herencia de estas formas es controlada por un sistema de alelo múltiple co-dominante en un único locus. La forma cuatro del inhibidor de tripsina de Kunitz (ITK) no presenta banda proteica sobre el gel poliacrilamida.

La ausencia de banda proteica ha sido designada como ti y se hereda como un alelo recesivo de las otras tres formas. Las sojas que no presentan la banda de (ITK) tienen aproximadamente un 50 % menos de actividad de inhibidor por gramos de proteína que las sojas que lo tienen.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el germoplasma se encontraron dos materiales de Korea, PI 157440 (kin dú) y PI 196168 (Baik tae) que llevan el alelo ti.

PI 157440 se usó como fuente del alelo ti incorporado por retrocruza a Williams, Amsoy 71 y Clark 63. La línea 814590 es PI157440 x Williams.

Los materiales ya diferenciados e inscriptos INTA Paraná 629 e INTA Paraná 661 se originaron de los cruzamientos realizados a partir de 1994 en la EEA Paraná entre la línea L814590 y el cultivar Promax 550.

Características morfológicas:

INTA Paraná 661 – Hipocotilo corto, de color verde, crecimiento indeterminado, flor blanca, hilo negro de pubescencia marrón

INTA Paraná 629 - Hipocotilo largo, de color púrpura, de crecimiento indeterminado, flor púrpura, hilo gris y pubescencia gris.

Características fenológicas y productivas: Promedio de seis localidades

| CULTIVAR | Flor (R2) | Mad. (R8) | Alt. cm | Vuelco (1) | Desgrane (2) | Rend. (Kg/Ha) | Peso 1000 g | Calidad Granos |
|-----------------|-----------|-----------|---------|------------|--------------|---------------|-------------|----------------|
| INTA Parana 661 | 26 | 96 | 87 | 1,4 | 1 | 2462 | 176 | 2.,3 |
| INTA Paraná 629 | 46 | 135 | 97 | 1,6 | 1 | 4265 | 183 | 2,0 |

(1) 1: sin vuelco, 5: vuelco total

(2) 1: sin desgrane, 5: desgrane total

Existen dos formas de determinar la presencia o ausencia de los inhibidores de tripsina en la semilla de soja. La primera es mediante electroforesis de proteínas, (figura 1) es una técnica cualitativa que permite seleccionar gran cantidad de material (Kollipara *et al* 1991) y otra forma es mediante el método AOCS Ba 12-75 modificado, que determina la totalidad de los inhibidores de tripsina en los alimentos utilizando un espectrofotómetro (tabla 1) que cuantifica la presencia de inhibidores a través de las unidades de tripsina inhibidas (UTI) por miligramo de muestra seca, medida como la actividad de la tripsina en la presencia de los inhibidores en la muestra (Liu y Markakis 1989).

Fundamentos técnicos y/o comerciales:

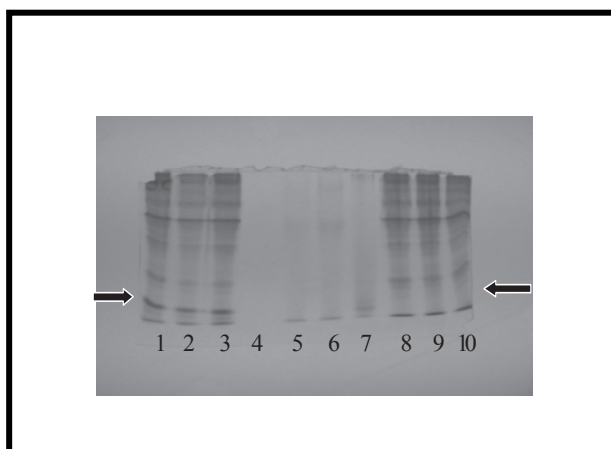
INTA Parana 661

Es un cultivar del grupo III largo (3,8) de buen rendimiento de hábito de crecimiento indeterminado, algo precoz para nuestra zona. De buen comportamiento sanitario, resistente a las razas 1 y 4 de *Phytophthora sojae* y resistente a los virus *Soybean Mosaic Virus* (SMV) y *Alfalfa Mosaic Virus* (AMV). Tiene un 58 % menos de inhibidores de tripsina que el testigo FAINTA 760.

INTA Parana 629

Es un cultivar del grupo V medio (5,5) de muy buen rendimiento, de hábito de crecimiento indeterminado similar a A 5409 pero resistente a las razas 1 y 4 de *Phytophthora sojae*, y resistente a *Alfalfa Mosaic Virus*. Tiene un 67 % menos de inhibidores de tripsina que el testigo FAINTA 760. Sus granos son medianos a grandes (196 gramos los 1000 granos).

Figura 1
Método electroforético



- 1.- A 5409 RG
- 2.- A 5409 RG
- 3.- A 5409 RG
- 4.- Vacía
- 5.- LAE 9439629 Desactivada 8 min. Autoclave
- 6.- LAE 9439629 Desactivada 8 min. Autoclave
- 7.- ITK
- 8.- LAE 9439629 Sin desactivar
- 9.- LAE 9439629 Sin desactivar
- 10.- LAE 9439629 Sin desactivar

Tabla 1
Método AOCS Ba 12-75 Cuantitativo

RESULTADOS OBTENIDOS
Laboratorio – INTI
Método AOC Ba 12-75 Modificado

| Muestra | Unidades de Tripsina inhibidas/mg |
|-------------|-----------------------------------|
| FAINTA 760 | 47,2 |
| LAE 9439629 | 15,6 |
| LAE 9439661 | 19,8 |

INTI CEIAL

BIBLIOGRAFIA

- AZCONA J.O and SCHANG M.J. 1993 Poroto de soja desactivado .Aspectos que afectan su valor biológico. Simposio sobre aminoacidos para aves y cerdos INTAPergamino 10/8/93.
- KOLLIPARA K.P DOMAGALSKI J.M. and HYMOWITH Y. 1991 A quick method of resolving soybean Kunitz inhibitor using polyacrilamide gel electroforesis Soybean Genetics Newsletter 18:234-236.
- FRATTALI V.and STEINER R (1968)Soybeans Inhibidor I Separation and Some Properties of Three inhibitor from Commercial Crude Soybean Tripsin inhibitor Biochem 7 521.
- KUNITZ M. 1945 Crystalization of a trypsin inhibitor from soybean Science 101:668-669.
- LIU K and MARKAKIS p. 1989 An improved colorimetric method for determining antitryptic activity in soybean products Cereal Chemistry 66(5) 415-422.