

## **Composizioni elettroforetiche di estratti proteici di *Triticum aestivum* e *Triticum durum* (\*)**

VITTORIO SILANO (\*\*), UGO DE CILLIS (\*\*\*) e FRANCESCO POCCHIARI

*Laboratori di Chimica Biologica  
e Istituto Nazionale di Genetica per la Cerealicoltura «N. Strampelli»*

**Riassunto.** — Quadri elettroforetici di estratti proteici ottenuti da sfarinati integrali di numerose varietà di *Triticum durum* e di *Triticum aestivum* con una soluzione di NaCl 0,85 % (peso/vol.) sono state studiate allo scopo di accertare se essi possano essere utilizzati per caratterizzare e quindi differenziare queste specie di cereali. Influenze di varietà e di specie su tali composizioni e possibilità di individuazione di una proteina caratteristica del *Triticum aestivum* sono discusse.

**Summary.** (*Electrophoretic compositions of protein extracts of Triticum aestivum and Triticum durum*). — Wheat extracts from *Triticum durum* and *Triticum aestivum* in 0.85 % NaCl (w/v) have been analyzed by acrilamide gel-electrophoresis. The electrophoretic patterns were then compared in order to individualize specific components which would enable to differentiate the two species.

Variations of these patterns in different varieties as well as the possibility of localizing a unique protein of *Triticum aestivum* have been discussed.

### **INTRODUZIONE**

Numerose ricerche basate su determinazione di lipidi caratteristici (MATWEEF, 1952; BROGIONI & FRANCONI, 1963; LAFORTE & CAVALLARO, 1964) sul differente comportamento degli sfarinati sia rispetto alla velocità di sedimentazione in acqua (GIACANELLI, 1959) sia rispetto alla colorazione assunta in presenza di una soluzione di indaco (CORBI & PARISELLA, 1961) sono

(\*) Lavoro eseguito con contributo del C. N. R.

(\*\*) Borsista del C. N. R.

(\*\*\*) Direttore dell'Istituto Nazionale di Genetica per la Cerealicoltura «N. Strampelli».

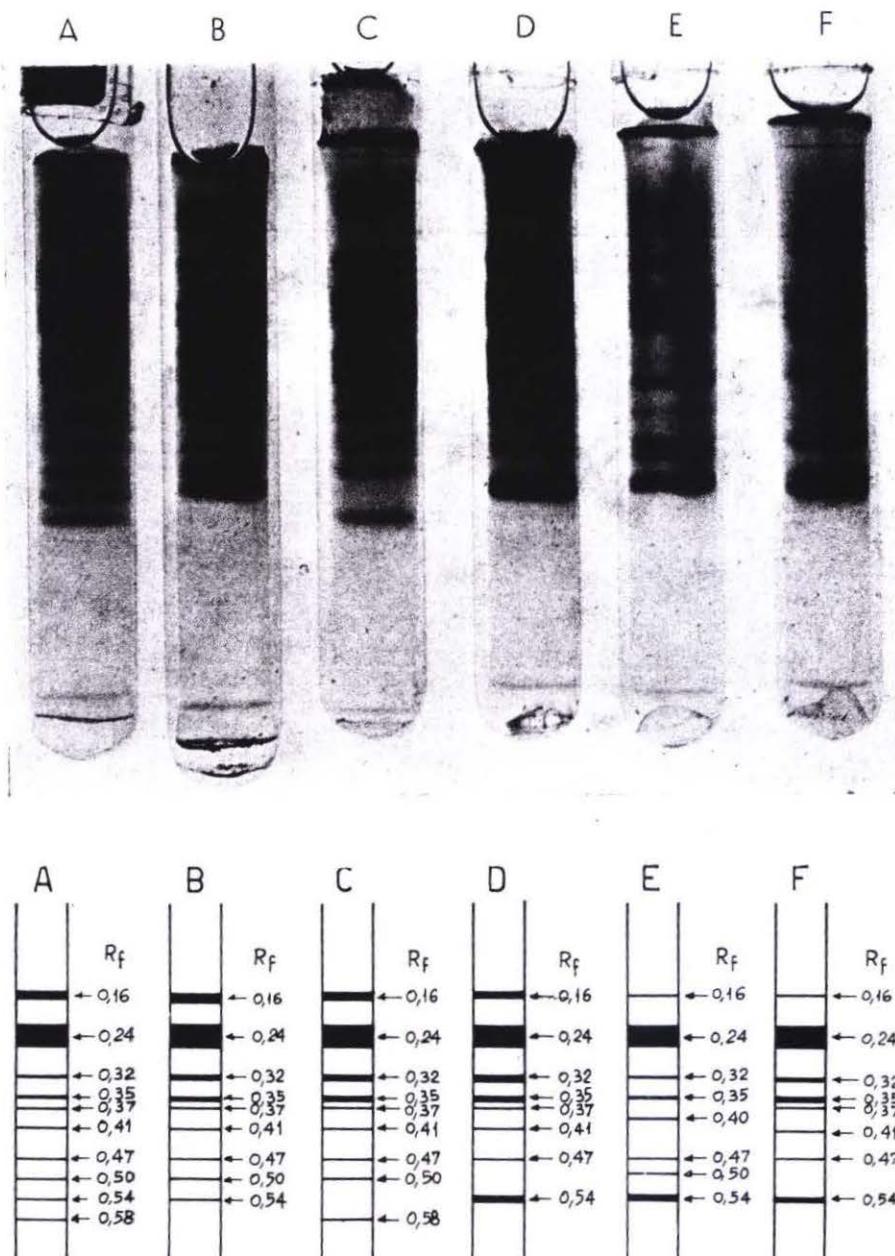


Fig. 1. — Prototipi di composizioni elettroforetiche di estratti proteici di *Triticum aestivum* e *Triticum durum*:

*Triticum aestivum*, 25 % (A), 30 % (B), 30 % (C), 15 % (D).

*Triticum durum*, 72 % (E), 28 % (F).

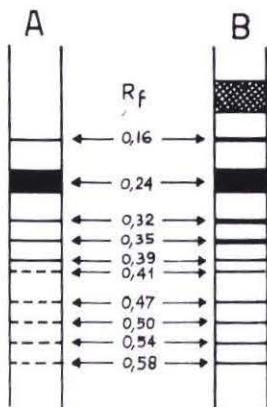
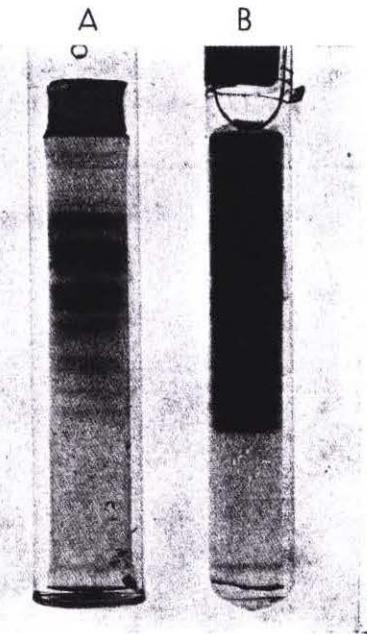


Fig. 2. — Influenza del trattamento del cereale con n-butanolo saturo di acqua sulla composizione elettroforetica di estratti proteici di *Triticum aestivum*:  
(A) *Triticum aestivum* prototipo A dopo pre-estrazione di 2 g di campione con 10 ml di n-butanolo per 30 min ripetuta tre volte.  
(B) *Triticum aestivum* prototipo A.

state effettuate per mettere a punto un metodo per la differenziazione del grano duro del grano tenero ed il loro riconoscimento in farine ed in paste.

D'altra parte vari ricercatori hanno evidenziato differenze tra i contenuti proteici di cereali di genere e di specie diverse, senza però definire se il contenuto proteico, almeno a giudicare dalla composizione eletroforetica di estratti proteici, sia dipendente esclusivamente dai caratteri genetici (PENCE, WEINSTEIN & MECHAM, 1954; COULSON & SIM, 1964; 1965; FEILLET, 1965; 1967) o se sia invece anche funzione dei fattori agronomici (WALDSCHMIDT-LEITZ & HACHSTRASSER, 1961; KELLEY & KOENIG, 1963; KOENIG *et al.*, 1964; MIKOLA, 1965).

Pertanto si è ritenuto utile mettere a punto un metodo per la differenziazione del grano duro dal grano tenero basato sull'analisi eletroforetica di estratti proteici.

Vengono esposti in questa nota risultati preliminari di ricerche condotte con la tecnica di elettroforesi discontinua su gel di poliacrilammide (ORNSTEIN, 1964; DAVIS, 1964; NARAYAN, VOGEL & LAWRENCE, 1965) su estratti proteici non purificati di numerose varietà di *Triticum durum* e *Triticum aestivum*.

#### MATERIALI E METODI

I campioni usati furono cinquanta varietà di *Triticum durum* (\*) e cinquanta di *Triticum aestivum* (\*\*).

*Estrazione delle proteine.* — Due parti di granello finemente macinato con un macinello Buhler a gradazione tre, furono agitate dolcemente per

(\*) Arnaut Studina ; Azizia 17/45 ; B. 52 ; Belsineap 8 ; Blanc, n. 17177 (URSS), *Tr. durum* var. *leucurum* ; Bratowo, *Tr. durum* var. *leucurum* ; Bulgaria n. 132 (01-627), *Tr. hordeiforme* ; Camar 7 ; Camarsin 5 ; Capegamar 6 ; Capegamar 7 ; Capemar 5 ; Caposcur 2 ; Cappelli ; Carleton ; Capeiti ; Cicammars 3 ; Cicammars 4 ; Ciclope ; Ciprocamar 5 ; Ciprocamar 6 ; Ciprocamar 12 ; Ciprocap 3 ; Cipromar 3 ; Cirpan n. 13 (01-624), *Tr. melanopus* ; Decamar 1 ; Dimitriewo, *Tr. italicum* ; Duro di Puglia ; Dzafari, *Tr. leucurum* n. 40194 ; Eskischir B. 705 FAO 6349 ; Galatea ; Gamarcap ; Garcapemar 4 ; Garigliano ; Medea ; Menanopus 26, K. 41652 ; Montpellier 514/56 ; Narodnaia, K. 38514, var. *hordeiforme* ; Sassari 0302 ; Sd 161 ; Sd 200 ; Sd 203 ; Sd 32.24 ; Sd 171.9041 ; Turmar 7 ; Uveyk 134 ; Uveyk selez. Turchia n. 7116 ; n. 17173 (URSS) *Tr. horanileucurum* ; n. 22283 (URSS) *Tr. apulicum* ; Melamar 1.

(\*\*) Abbondanza ; Agromepas 1 ; Agrovitm 1 ; Balarialiban 2 ; Baudi ; Bendamar 24 ; Bendamar 26 ; Bianchetta 83 ; Campodoro ; Chepas 2 ; Chepasmar ; Claucolbenmar ; Clauycop 2 ; Colobern 4 ; Colubenmar ; Conbav 1 ; Copromar 6 ; Corpas 6 ; Corpas 8 ; Corpas 10 ; Dabiaclaumar 1 ; Dachefre 5 ; Damiano ; Demar 4 ; E. 51 ; Eubav 3 ; F. 51 ; Fiorello ; Fo. S. 44.3 ; Fortunato ; Freccia ; Fubamin 11 ; Fubav C. 9 ; Marhein 21 ; Marhein 26 ; Maribend 3 ; Mariclau 1 ; Mariclau 7 ; Ovest ; Pasmicolun 5 ; Propasmar 2 ; Provemarimp 2 ; R. 37 ; Salabav ; Vimentamen ; Virest ; Virgilio ; Virmen ; Yotev ; Mentana.

tre ore con agitatore Griffin con tre parti di una soluzione di NaCl 0,85 % (peso/vol.). La sospensione ottenuta in tal modo fu centrifugata per 20 min a 13.000 r.p.m. in centrifuga International modello HR-I. Il supernatante limpido fu usato come tale.

In alcuni casi prima dell'estrazione 2 g di sfarinato integrale furono trattati per tre volte con 10 ml di n-butanolo saturo di acqua.

*Elettroforesi discontinua su gel di poliacrilammide.* 0,02 ml dell'estratto furono caricati per ogni gel. La preparazione dei gel e l'elettroforesi è stata effettuata secondo quanto descritto da SILANO *et al.* (1967).

## RISULTATI E DISCUSSIONE

In Fig. 1 sono mostrate le quattro composizioni elettoforetiche diverse evidenziate dall'analisi delle 50 varietà di *Triticum aestivum* (A, B, C, D) e quelle (E, F) evidenziate per le 50 di *Triticum durum*.

Per quanto riguarda il *Triticum aestivum* la prima (A) è rappresentata per il 25 %, la seconda (B) e la terza (C) ognuna per il 30 % ed infine la quarta (D) per il 15 %.

Nel caso del *Triticum durum*, invece i due prototipi sono rappresentati per il 72 % (E) e per il 28 % (F).

Dall'esame dei gel si nota che la separazione è stata soddisfacente soltanto per le proteine ad alta mobilità elettoforetica; la banda ad  $R_f = 0,24$  è, infatti, composta da almeno tre bande non ben separate.

Evidenti differenze varietali vi sono tra le frazioni a maggiore mobilità elettoforetica. Considerando infatti il *Triticum aestivum*, rispetto al prototipo A nel prototipo B mancano la banda ad  $R_f = 0,58$ , in quello C quella ad  $R_f = 0,54$  ed in quello D le due ad  $R_f = 0,50$  e  $0,58$ . Analogamente avviene per il *Triticum durum* ed infatti nel prototipo F mancano le due bande ad  $R_f = 0,40$  e  $0,50$ , presenti in E, e compaiono due bande ad  $R_f = 0,37$  e  $0,41$ . Per quanto riguarda invece le frazioni a minore mobilità elettoforetica non si sono evidenziate differenze né di specie né varietali.

Nonostante ciò appare che le composizioni elettoforetiche nel loro complesso sono abbastanza caratteristiche; infatti, in nessun caso per il *Triticum durum* si è trovata una composizione elettoforetica qualitativamente eguale ad una del *Triticum aestivum*.

Esiste, inoltre nelle composizioni elettoforetiche degli estratti proteici analizzati una caratteristica non sottoposta a variazione varietale e di immediata osservazione che permette di distinguere con un trascurabile errore un estratto proteico di *Triticum durum* da uno di *Triticum aestivum*.

Dalla Fig. 1 si può notare che alcune bande sono verdi a differenza delle altre che sono bleu-scuro. In tutti i campioni di *Triticum aestivum* analiz-

zati sono state identificate quattro bande verdi ( $R_f = 0,16; 0,35; 0,37; 0,47$ ), mentre per il *Triticum durum* al massimo se ne sono trovate tre. In nessun caso è stata osservata la presenza della banda verde ad  $R_f = 0,37$  nelle composizioni elettroforetiche di *Triticum durum*; infatti nel prototipo E manca del tutto una banda con tale  $R_f$  e nel prototipo F, pur essendovi una banda con tale  $R_f$  non presenta la colorazione verde.

Nulla possiamo dire, per ora, sulla natura di queste bande tranne che esse non vengono modificate dal trattamento del campione con n-butanolo saturo di acqua (Fig. 2).

#### CONCLUSIONI

La metodologia adottata ha evidentemente mostrato dei limiti notevolissimi per il fatto che non permette una sufficiente risoluzione delle proteine presenti negli estratti e non può quindi essere adottata, almeno come tale, per l'analisi di miscele di cereali.

Tuttavia da queste ricerche preliminari è emerso che la composizione della frazione proteica che comprende le bande a maggiore mobilità elettroforetica risente delle caratteristiche di specie e di quelle varietali, mentre quella della frazione proteica che comprende le bande a minore mobilità elettroforetica, non è interessata dalle variazioni predette, anche se non possiamo escludere che una maggiore risoluzione delle proteine potrebbe evidenziare ulteriori differenze. Un elemento caratteristico, invece, della specie sembra essere il numero e la posizione delle bande colorate in verde la cui natura proteica è stata accertata idrolizzando l'estratto ottenuto dalla zona del gel corrispondente con HCl 6 N e rivelando la presenza di amminoacidi con ninidrina (dati non pubblicati). Essendo indubbia la necessità di chiarire la natura di questa diversa colorazione, questa ricerca preliminare sembra averci fornito un buon indizio per la ricerca di almeno una proteina caratteristica del *Triticum aestivum*.

31 ottobre 1967.

#### BIBLIOGRAFIA

- BROGIONI, M. & U. FRANCONI, 1963. *Boll. Lab. Chim. Provinciali*, **14**, 135.
- CORBI, D. & E. PARISELLA, 1961. *Molini d'Italia*, **12**, 234.
- COULSON, C. B. & A. K. SIM, 1964. *Nature*, **202**, 1305.
- COULSON, C. B. & A. K. SIM, 1965. *J. Sci. Food Agr.*, **16**, 458.
- DAVIS, B., 1964. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **121**, 321.
- FEILLET, P., 1965. *Ann. Technol. Agr.*, **14**, hors-série I, 1.
- FEILLET, P., 1967. *Ann. Technol. Agr.*, **16**, 135.
- GIACANELLI, E. 1959. *Molini d'Italia*, **16**, 355.
- LAFORTE, A. & A. CAVALLARO, 1964. *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, **41**, 641.

- KELLEY, J. J. & V. L. KOENIG, 1963, *J. Sci. Food Agr.*, **14**, 29.  
KOENIG, V. L., A. OGRINS, H. B. TRIMBO & V. L. MILER, 1964, *J. Sci. Food Agr.*, **15**, 492.  
MATWEFF, M., 1952, *Compt. Rend. Acad. Agr. France*, **39**, 658.  
MIKOLA, J., 1965, *Ann. Acad. Sci. Fennicae, Ser. A*, **130**, 1.  
NARAYAN, K. A., M. I. VOGEL & J. M. LAWRENCE, 1965, *Anal. Biochem.*, **12**, 526.  
ORNSTEIN, L., 1964 *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **121**, 321.  
PENCE, J. W., N. E. WEINSTEIN & D. K. MECHAM, 1954, *Cereal Chem.*, **31**, 303.  
SILANO, V., A. M. D'ERRICO, F. MUNTONI & F. POCCHIARI, 1967, *Ann. Ist. Super. Sanità* (in corso di stampa).  
WALDSCHMIDT-LEITZ, E. & K. HOCHSTRASSER, 1961, *Z. Physiol. Chem.*, **324**, 243.