

## ANALIZA KOMPOZICIJE GLIJADINSKIH LOKUSA HRVATSKE GERMPLAZME HEKSAPLOIDNE PŠENICE

Ivana RUKAVINA<sup>1</sup>, Sonja MARIĆ<sup>2</sup>, V.GUBERAC<sup>2</sup>, Sonja PETROVIĆ<sup>2</sup>,  
T.ČUPIĆ<sup>3</sup> i Cornelia TEPPER<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Hrvatski centar za poljoprivredu, hranu i selo - Zavod za sjemenarstvo i rasadničarstvo  
Croatian Centre for Agriculture, Food and Rural Affairs – Institute for Seed and Seedlings

<sup>2</sup>Poljoprivredni fakultet Sveučilišta u Osijeku  
Faculty of Agriculture University of Osijek

<sup>3</sup>Poljoprivredni institut Osijek  
Agricultural Institute Osijek

<sup>4</sup>Bundessortenamt, Hannover, Njemačka

### SAŽETAK

Kod 50 sorti heksaploidne ozime pšenice (*Triticum aestivum* L.) porijeklom iz Republike Hrvatske utvrđena je i analizirana kompozicija  $\omega$  – glijadina. Poliakrilamid gel elektroforeza (PAGE) u prisutnosti natrijeva dodecil sulfata (SDS – sodium dodecyl sulphate) korištena je za identifikaciju podjedinica na *Gli*-B1 i *Gli*-D1 genlokusima. Utvrđena je najčešća kombinacija podjedinica 63+67 s frekvencijom od 64% na genloku *Gli*-B1, zatim podjedinica 66 sa frekvencijom od 16%, te nulti alel (N) s frekvencijom od 14%. Na lokusu *Gli*-D1 najzastupljenija podjedinica je bila 55 s frekvencijom od 94%. Broj alela po lokusu kretao se od 3 (*Gli*-D1) do 7 (*Gli*-B1), veća genetska različitost ( $H_e=0,557$ ) kao i veći PIC (0,529) utvrđeni su na lokusu *Gli*-B1, dok je znatno manja genetska različitost utvrđena na lokusu *Gli*-D1 ( $H_e=0,114$ ) kao i PIC (0,110).

Ključne riječi: heksaploidna pšenica, sorta,  $\omega$  – glijadini, podjedinica, SDS PAGE

### UVOD

Glutenini i glijadini zajedno čine oko 80% od ukupnih bjelančevina zrna, od čega 40% su glijadini (L a s z t i t y, 1996., S h e w r y i sur., 2003.). Glijadini su bjelančevine topive u 70-90% etanolu, a kombinacija glutenina i glijadina je značajna za postizanje krušne kvalitete pšenice. Glijadini se dijele na osnovu njihove mobilnosti u gel elektroforezi u četiri grupe  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  i  $\omega$  – glijadine (L a e m m l i, 1970.). Kombinacije

različitih podjedinica glijadina omogućuju razlikovanje genotipova pšenice. Svi  $\omega$ -glijadini i većina  $\gamma$ -glijadina su determinirani komplementarnim lokusima, dovoljno udaljenim jedno od drugih na kratkom kraku kromosoma 1 (P a y n e i sur., 1982.). Ovi lokusi označeni su kao *Gli-A1*, *Gli-B1* i *Gli-D1*. Ostala tri lokusa za  $\alpha$ - i  $\beta$ -glijadine nalaze se na kratkom kraku kromosoma 6. Svaki kromosom grupe 6 nosi po jedan lokus koji kodira sve  $\alpha$ -glijadine i većinu  $\beta$ -glijadina. Ovi lokusi označeni su sa *Gli-A2*, *Gli-B2* i *Gli-D2* (S o z i n o v i Poperelya, 1980.). Alelne varijacije glijadinskih lokusa mogu se utvrditi uporabom PAGE pH 3,1 (acid polyacrylamide gel electrophoresis) ili SDS PAGE metode. T a n a k a i sur. (2003.) koristili su ACID PAGE metodu kako bi utvrdili elektroforetsku kompoziciju podjedinica glijadina kod linija pšenice uzgojenih u Japanu, dok su B r a n l a r d i sur. (2003.) za utvrđivanje kompozicije  $\omega$ -glijadina francuske germplazme pšenice uspješno koristili SDS PAGE metodu.

H a r b e r d i sur. (1985.) kao i P a y n e (1987.) utvrdili su da alelna varijacija gen lokusa glutenina i glijadina utječe na kvalitetu kruha. Također je utvrđen značajan pozitivan efekt određenih glijadinskih podjedinica na čvrstoću glutena (Metakovsky i sur., 1997.), što je potvrđeno i istraživanjima X u i sur. (2007.) te W a n g i sur. (2008.). Altenbach i Kothari (2007.) zabilježili su da  $\omega$ -glijadini reagiraju na pristupačnost dušika, faktor koji može utjecati na kvalitetu pšenice različite genetske osnove uzgajane u različitim okolinskim uvjetima. Kompozicija glijadinskih lokusa i genetski polimorfizam glijadina koristio se za procjenu genetske varijabilnosti unutar nekoliko germplazmi u Australiji (Metakovsky i sur., 1990.), Italiji (Metakovsky i sur., 1994.), Francuskoj (Metakovsky i Branlard, 1998.) i Španjolskoj (Metakovsky i sur., 2000.). Cilj ovog istraživanja je analiza kompozicije  $\omega$  – glijadinskih lokusa hrvatske germplazme heksaploidne pšenice.

## MATERIJAL I METODE

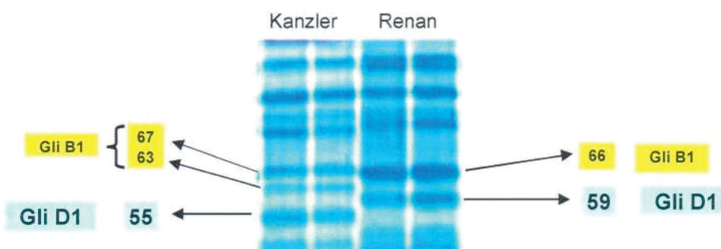
Istraživanje je provedeno na 50 sorti heksaploidne ozime pšenice (*Triticum aestivum* L.) porijeklom iz Republike Hrvatske. Pri izboru sorti uključeno je svih pet hrvatskih oplemenjivačkih kuća te je odabir napravljen prema zastupljenosti sorti na tržištu i značajnosti u proizvodnji. U istraživanje je bilo uključeno 17 sorti Poljoprivrednog instituta iz Osijeka, 15 sorti Bc instituta za oplemenjivanje i proizvodnju bilja d.d. Zagreb, 12 sorti tvrtke Agrigenetics d.o.o., 4 sorte tvrtke Jošt sjeme-istraživanja d.o.o. Križevci i 2 sorte Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, te 8 standardnih sorti primjera (Alidos, Carolus, Cortez, Herzog, Idol, Kanzler, Leiffer i Renan) korišteno je za utvrđivanje ekspresije alela na  $\omega$  – glijadinskih lokusima.

Poliakrilamid gel elektroforeza (PAGE) u prisutnosti natrijeva dodecil sulfata (SDS – sodium dodecyl sulphate) prema BSA vodiču za elektroforezu pšenice (Bundessortenamt, 2007.) korištena je za analizu kompozicije  $\omega$  – glijadina. Za SDS-PAGE metodu utvrđivanja  $\omega$ -glijadina koristila su se 32 zrna po ispitanjoj sorti i

dotatno po dva zrna osam standardnih sorti primjera. Količina od 200 $\mu$ l ekstrakcijske otopine (etilen glikol, urea, CHAPS i deionizirana voda) za ekstrakciju glijadina dodana je po jažici mikrotitarske ploče i inkubirana jedan dan u hladnjaku. Mikrotitarska ploča se inkubirala na sobnoj temperaturi tijekom noći, nakon čega se zamrznuła do izvođenja SDS-PAGE elektroforeze. Gel elektroforeza obavljena je na uređaju "Multigel Modell BSA" (Biometra, Göttingen) u sljedećim uvjetima: 250 V, 20 mA, 20 min, 15°C, koristeći za svaku sortu četiri pripremljena gela veličine 60 mm x 110 mm x 1 mm. Za pripremu četiri odvojena gela izmiješana je sljedeća otopina: 30 ml razdvajajućeg gel pufera (TRIS i deionizirana voda), 1.2 ml deionizirana voda, 12.5 ml 40% akrilamid otopina, 3.2 ml 2% BIS otopina i 0,5 ml 10% SDS otopina i na kraju je slijedila polimerizacija dodavanjem TEMED-a i 2% APS otopine. Za bojanje gelova koristila se Coomassie Blue G 250 i R 250 boja.

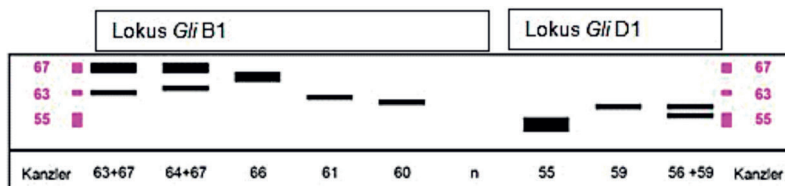
**Slika 1. SDS PAGE elektroforegram  $\omega$  – glijadinskih lokusa sorte primjera Kanzler i Renan (izvor: BSA vodič za elektroforezu pšenice)**

Figure 1 SDS PAGE electrophoregram of  $\omega$ - gliadins loci at example varieties Kanzler and Renan (source: BSA guideline for wheat electrophoresis)



**Slika 2. Prikaz bandova  $\omega$  – glijadinskih lokusa u odnosu na sortu primjer Kanzler (izvor: BSA vodič za elektroforezu pšenice)**

Figure 2 Display of bands at  $\omega$ - gliadins loci according to example variety Kanzler (source: BSA guideline for wheat electrophoresis)



Identifikacija kompozicije  $\omega$  – glijadina na lokusima *Gli*-B1 i *Gli*-D1 (Slika 1. i Slika 2.) također je urađena prema BSA vodiču za elektroforezu pšenice (2007.).

Utvrđivanje podjedinica  $\omega$  – glijadinskih lokusa napravljeno je usporedbom sa standardnim sortama primjerima (Tablica 1.).

**Tablica 1. Obilježavanje lokusa, podjedinica  $\omega$ -glijadina te ocjena prema BSA vodiču za elektroforezu pšenice**

*Table 1. Marking of loci,  $\omega$ -gliadin subunits and mark according to BSA guideline for wheat electrophoresis*

Lokus <i>Loci</i>	Podjedinice <i>Subunits</i>	Sorta primjer <i>Example varieties</i>	Ocjena BSA Mark BSA
<i>Gli-B1</i>	63+67	Kanzler, Alidos, Ritmo	1
	N	Gorbi, Herzog	2
	66	Renan	3
	61	Tambor	4
	63	Enorm	5
	60	Cortez	6
	64+67	Idol	7
<i>Gli-D1</i>	55	Kanzler	1
	59	Renan	2
	56+59	Carolus	3
	55+56+59	Leiffer	4

Za oba ispitivana lokusa izračunata je frekvencija alela. Programom Powermarker ver.3.25 (L i u, 2002.) analizirana je genetska različitost ( $H_e$ ) polimorfnost genlokusa na osnovu ukupnog i prosječnog broja alela po genlokusu ( $N_a$ ) te je procijenjen polimorfizam (PIC – Polymorphic information content index) za svaki lokus.

Genetski varijacijski koeficijent (N e i, 1973.) odnosno genetska različitost ( $H_e$ ) procijenjena je za svaki lokus uporabom formule:

$$H_E = 1 - \sum_{i=1}^I p_i^2$$

gdje  $p_i$  predstavlja učestalost alela  $i$ , a  $I$  predstavlja ukupni broj alela.

## REZULTATI I RASPRAVA

Rezultati utvrđenog sastava podjedinica  $\omega$  – glijadinskih lokusa *Gli-B1* i *Gli-D1* ispitivanih sorata heksaploidne ozime pšenice nalaze se u Tablici 2. Analizom sastava i udjela podjedinica na  $\omega$ -glijadinskom lokusu *Gli-B1* (Tablica 3.) utvrđena je najčešća kombinacija podjedinica 63+67 s frekvencijom od 64% odnosno kod 32 sorte (Gabi, Mura, Atena, Nika, Matea, Anika, Dea, Una, Sana, Adriana, Zdenka, Nina, Prima, Bc Antea, Bc Elvira, Bc Mira, Bc Renata, Bc Lidija, Žitarka, Srpanjka, Barbara, Golubica, Super Žitarka, Lucija, Panonka, Alka, Janica, Seka, Katarina, Felix, Zlata, Olimpija i Nova Žitarka). Slijedi podjedinica 66 s frekvencijom od 16% , prisutan kod 8 sorti

(Kalista, Ema, Banica, Mihelca, Aura, Bc Lira, Bc Irena i Ilirija), te nulti alel (N) s frekvencijom od 14% odnosno utvrđen kod 7 sorti (Fiesta, Mura, Helia, Marija, Koleda, Talia i Aida). Kod dvije sorte (Cerera i Divana) utvrđena je podjedinica 60 odnosno frekvencija od 4% , te kod jedne sorte (AFZG KARLA) je utvrđena podjedinica 61 odnosno frekvencija od 2%. Na lokusu *Gli-D1* najzastupljenija podjedinica je bila 55 s frekvencijom 94% odnosno kod 47 sorata, što je sukladno istraživanjima B r a n l a r d i sur. (2003.) te B r a d o v a i Šašek (2005.). Kod dvije sorte (Aura i Bc Lira) utvrđena je podjedinica 59 (4%), te kod jedne sorte (Mihelca) utvrđene su podjednice 55+56+59 (2%).

Genetski polimorfizam glijadina istraživani je u različitim zemljama u svrhu identifikacije sorti pšenice. Polimorfnost lokusa i genetska različitost hrvatske germplazme pšenice analizirana je na osnovu broja alela ( $N_a$ ), genetske različitosti ( $H_e$ ) i polimorfizma (PIC) (Tablica 4.). Broj alela po lokusu kretao se od 3 (*Gli-D1*) do 7 (*Gli-B1*), te je prosječno iznosio je 5,00. Drugačije su utvrdili B r a d o v a i Šašek (2005.) kod čeških pšenica gdje je utvrđeno 7 alela na lokusu *Gli-D1*, te M e t a k o v s k y i sur. (2000.) kod španjolskih pšenica gdje je utvrđeno 10 alela na *Gli-D1*.

**Tablica 2. Sastav i ocjena podjedinica ω-glijadinskih lokusa ispitivanih sorata pšenice**  
*Table 2 ω-gliadin subunits compositions and mark of tested varieties*

Br/Nr	Sorta / Variety	<i>Gli-B1</i>	Ocjena*/ Mark*	<i>Gli-D1</i>	Ocjena*/Mark*
1	FIESTA	N	2	55	1
2	GABI	63+67	1	55	1
3	MURA	N	2	55	1
4	ATENA	63+67	1	55	1
5	NIKA	63+67	1	55	1
6	HELIA	N	2	55	1
7	KALISTA	66	3	55	1
8	MATEA	63+67	1	55	1
9	ANIKA	63+67	1	55	1
10	DEA	63+67	1	55	1
11	UNA	63+67	1	55	1
12	EMA	66	3	55	1
13	BANICA	66	3	55	1
14	AFZG KARLA	61	4	55	1
15	SANA	63+67	1	55	1
16	ADRIANA	63+67	1	55	1
17	MARIJA	N	2	55	1
18	MIHELCA	66	3	55+56+59	4

Ivana Rukavina i sur.: Analiza kompozicije glijadinskih lokusa  
Hrvatske germplazme heksaploidne pšenice

Bt/Nr	Sorta / Variety	Gli-B1	Ocjena* / Mark*	Gli-D1	Ocjena* / Mark*
19	ZDENKA	63+67	1	55	1
20	AURA	66	3	59	2
21	NINA	63+67	1	55	1
22	PRIMA	63+67	1	55	1
23	BC ANTEA	63+67	1	55	1
24	BC ELVIRA	63+67	1	55	1
25	BC MIRA	63+67	1	55	1
26	BC RENATA	63+67	1	55	1
27	BC LIDIJA	63+67	1	55	1
28	BC LIRA	66	3	59	2
29	BC IRENA	66	3	55	1
30	CERERA	60	6	55	1
31	DIVANA	60	6	55	1
32	KOLEDA	N	2	55	1
33	TALIA	N	2	55	1
34	ŽITARKA	63+67	1	55	1
35	SRPANJKA	63+67	1	55	1
36	BARBARA	63+67	1	55	1
37	GOLUBICA	63+67	1	55	1
38	SUPER ŽITARKA	63+67	1	55	1
39	LUCIJA	63+67	1	55	1
40	PANONKA	63+67	1	55	1
41	ALKA	63+67	1	55	1
42	JANICA	63+67	1	55	1
43	AIDA	N	2	55	1
44	SEKA	63+67	1	55	1
45	KATARINA	63+67	1	55	1
46	FELIX	63+67	1	55	1
47	ZLATA	63+67	1	55	1
48	ILIRIJA	66	3	55	1
49	OLIMPIJA	63+67	1	55	1
50	NOVA ŽITARKA	63+67	1	55	1

\* Ocjena prema BSA vodiču za elektroforezu pšenice / Mark according to BSA guideline for wheat electrophoresis

Ivana Rukavina i sur.: Analiza kompozicije glijadinskih lokusa  
Hrvatske germplazme heksaploidne pšenice

**Tablica 3. Frekvencije podjedinica  $\omega$ -glijadinskih lokusa ispitivanih sorata pšenice**  
*Table 3 Frequency of  $\omega$ -gliadin subunits of tested wheat varieties*

<i>Gli-B1</i>		<i>Gli-D1</i>	
Podjedinica / Subunit	Frekv.% / Freq.%	Podjedinica / Subunit	Frekv.% / Freq.%
63+67	64	55	94
N	14	59	4
66	16	55+56+59	2
61	2		
60	4		

**Tablica 4. Ispitivani lokusi pšenice, broj alela ( $N_a$ ), genetska različitost ( $H_e$ ) i polimorfizam (PIC)**  
*Table 4  $\omega$ -gliadin loci of wheat, number of alleles ( $N_a$ ), genetic diversity ( $H_e$ ) and polymorphism (PIC)*

Lokus / Loci	$N_a$	$H_e$	PIC
<i>Gli-B1</i>	7	0,557	0,529
<i>Gli-D1</i>	3	0,114	0,110
Prosjeak / Average:	5,00	0,335	0,319

Kod australske germplazme pšenice identificirano je 6 alela na lokusu *Gli-B1*, te 5 alela na lokusu *Gli-D1* (M e t a k o v s k y i sur., 1990.), dok je kod francuske germplazme pšenice identificirano 13 alela na *Gli-B1* lokusu i 9 alela na *Gli-D1* lokusu (B r a n l a r d i sur., 2003.). Kod ispitivanih sorti porijeklom iz oplemenjivačkog centra Kragujevac, Srbija utvrđeno je 6 alela na *Gli-B1* lokusu sa frekvencijom u rasponu od 4 do 44%, te 5 alela na *Gli-D1* lokusu sa frekvencijom u rasponu 4% do 52% (K n e ž e v i ć i sur., 2006.; K n e ž e v i ć i sur., 2007.). Veća genetska različitost ( $H_e = 0,557$ ) kao i veći PIC (0,529) kod ispitivanih sorti u ovom istraživanju utvrđeni su na lokusu *Gli-B1*, dok je znatno manja genetska različitost utvrđena na lokusu *Gli-D1* ( $H_e = 0,114$ ) kao i PIC (0,110). Prosječna genetska različitost ( $H_e$ ) unutar ispitivanih sorata iznosila je 0,335, a polimorfizam (PIC) 0,319. U istraživanju B r a n l a r d a i sur. (2003.) utvrđeno je visok indeks genetske različitosti ( $H_e = 0,714$ ) kod  $\omega$  – glijadinskih lokusa francuskih pšenica, te također S e w a i sur. (2005.) uporabom ACID PAGE metode kod indijskih pšenica zabilježili su ekstenzivni polimorfizam ( $H_e = 0,875$ ). Obzirom da se radi o istraživanjima na različitim biljnim materijalima, za očekivati je da se dobiveni rezultati i razlikuju. Također su kod spelta pšenice C a b a l l e r o i sur. (2004.) zabilježili ekstenzivni polimorfizam kompozicije  $\omega$ -glijadina ( $N_a = 3,80$ ;  $H_e = 0,595$ ).

Posljednjih godina zamjetan je i broj istraživanja kompozicije glijadinskih lokusa kod durum pšenica, te je tako osim S e w a i sur. (2005.) visok indeks genetske različitosti ( $H_e = 0,892$ ) utvrđen je i kod durum pšenica porijeklom iz sjeverozapadnog Irana i Azerbajdžana (Z a e f i z d a d e h i sur., 2010.). D j u k i ć i sur. (2011.) su analizirali kompoziciju 21 sorte durum pšenice porijeklom iz različitih zemalja svijeta uporabom ACID PAGE metode, te su identificirali 27 različitih *Gli*- alela (5 alela na *Gli*-A1, 4 na *Gli*-B1, 9 na *Gli*-A2 i 9 na *Gli*-B2).

Opće je poznato da je analiza glijadina uporabom ACID PAGE metode pokazala bolje rezultate nego SDS PAGE metoda prilikom otkrivanja mutacija koje utječu na veličinu i punjenje ovih proteina, no ipak za analizu kompozicije glijadina kao i glutenina, korištenje SDS PAGE predstavlja jednostavnu metodu za identifikaciju alela i analizu kompozicije skladišnih proteina koji se nalaze na kratkom kraku komosoma 1 (P a y n e i sur., 1982; D u P o n t i sur., 2000.; B r a n l a r d i sur., 2003.). U ovom istraživanju utvrđen je velik polimorfizam  $\omega$ -glijadinskog lokusa *Gli*-B1, te sukladno i drugim istraživanjima (M e t a k o v s k y i sur., 2000.; B r a n l a r d i sur., 2003.; C a b a l l e r o i sur., 2004.; B r a d o v a i Šašek, 2005.; D j u k i ć i sur., 2011.) glijadinski aleli se smatraju vrlo pogodnima za identifikaciju i razlikovanje genotipova pšenice.

## ZAKLJUČAK

Analizom kompozicije  $\omega$ -glijadinskih lokusa 50 sorti heksaploidne pšenice porijeklom iz Hrvatske utvrđena je najčešća kombinacija podjedinica 63+67 s frekvencijom od 64% na genloku *Gli*-B1, zatim podjedinica 66 sa frekvencijom od 16%, te nulti alel (N) s frekvencijom od 14%. Na lokusu *Gli*-D1 najzastupljenija podjedinica je bila 55 s frekvencijom od 94%.

Broj alela po lokusu kretao se od 3 (*Gli*-D1) do 7 (*Gli*-B1). Veća genetska različitost ( $H_e = 0,557$ ) kao i veći PIC (0,529) utvrđeni su na lokusu *Gli*-B1, dok je znatno manja genetska različitost utvrđena na lokusu *Gli*-D1 ( $H_e = 0,114$ ) kao i PIC (0,110).

Kombinacije podjedinica sa visokom frekvencijom mogu biti rezultat križanja odnosno direktne selekcije u odnosu na poželjna genetska, morfološka, fiziološka i tehnološka svojstva. U budućnosti oplemenjivačke prakse vrlo je značajno uspostaviti vezu između glijadinskih lokusa i bioloških svojstava, jer glijadini imaju značajnu vrijednost kao genetski markeri kod pšenice.



## GLIADIN LOCI COMPOSITION ANALYSIS OF CROATIAN HEXAPLOID WHEAT GERMPLASM

### SUMMARY

The composition of  $\omega$  – gliadins was identified and analyzed in 50 varieties of hexaploid winter wheat (*Triticum aestivum ssp. vulgare L.*) originated from the Republic of Croatia. Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) in presence of sodium dodecyl sulfate (SDS) was used for determination of subunits at *Gli-B1* i *Gli-D1* genloci. The most common combination of subunits at genloci *Gli-B1* was 63+67 with frequency of 64%, then subunit 66 with frequency of 16% and null allele (N) with frequency of 14%. At *Gli-D1* loci the most frequent subunit was 55 with presence at 94% in tested varieties. Number of alleles per loci was from 3 (*Gli-D1*) to 7 (*Gli-B1*), high genetic diversity ( $H_e = 0,557$ ) and high PIC (0,529) were estimated at loci *Gli-B1*, while significantly lower genetic diversity was estimated at loci *Gli-D1* ( $H_e = 0,114$ ) and PIC (0,110).

Key words: hexaploid wheat, variety,  $\omega$  – gliadins, subunits, SDS PAGE

### LITERATURA - REFERENCES

1. Altenbach, S.B., Kothari, K.M. (2007): Omega gliadin genes expressed in *Triticum aestivum* cv. Butte 86: Effects of post-anthesis fertilizer on transcript accumulation during grain development. *J.Cereal Science*, 46:169-177.
2. Bradová, J., Šašek, A. (2005): Diversity of Gliadins and HMW Glutenin Subunits in Czech Registered Wheat Varieties. *Czech J.Genet. Plant Breed.*, 41: 1-4.
3. Branlard, G., Dardevet, M., Amiour, N., Igrajes, G. (2003): Allelic diversity of HMW and LMW glutenin subunits and omegagliadins in french bread wheat (*Triticum aestivum L.*). *Genet.Resour.Crop Evol.*50: 669-679.
4. Bundessortenamt (2007): Guidelines for the Conduct of Electrophoresis Tests for Distinctness, Uniformity and Stability of Wheat.
5. Caballero, L., Martin, L.M., Alvarez, J.B. (2004): Variation and genetic diversity for gliadin in Spanish spelt wheat accessions. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 51: 679-686.
6. Dupont, F.M., Vensel, W.H., Chan, R., Kasarda, D.D. (2000): Characterization of the 1B-type  $\omega$  – gliadins from *Triticum aestivum* cultivar Butte. *Cereal Chem.* 77: 607-614.
7. Đukić, N., Knežević, D., Horvat, D. (2011): Similarity of cultivars of wheat (*Triticum durum*) on the basis of composition of gliadin alleles. *Genetika*, 43(3): 527-536.
8. Harberd, N.P., Bartels, D., Thomson, R.D. (1985): Analysis of the gliadin multigene loci in bread wheat using nullisomic-tetrasomic lines. *Mol.Gen.Genet.*, 198: 234-242.
9. Knežević, D., Yurievna-Dragovich, A., Đukić, N. (2006): Polymorphism of *Gli-B1* alleles in 25 Kragujevac's wheat cultivars (*Triticum aestivum L.*). *Kragujevac J.Sci.*, 28: 147-152.

10. Knežević, D., Novoselskaya-Dragovich, Yu. A. (2007): Polymorphism of *Gli-D1* alleles of Kragujevac's winter wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). *Genetika*, 39(2): 273-282.
11. Laemmli, S. (1970): Cleavage of structural proteins during assembly on the head of bacteriophage-T4. *Nature*, 227: 680-685.
12. Lásztity, R. (1996): The chemistry of cereal proteins. CRC Press, USA, 2nd edition: 1-328.
13. Liu, J. (2002): Powermarker – A powerful software for marker data analysis. North Carolina State University, Bioinformatics Research Center, Raleigh, NC (<http://powermarker.net>).
14. Metakovsky, E.V., Wrigley, C.W., Bekes, F., Gupta, R.B. (1990): Gluten polypeptides as useful genetic markers in Australian wheats (*Triticum aestivum*). *Australian Journal of Agriculture Research*, 41: 289-306.
15. Metakovsky, E.V., Pogna, N.E., Biancardi, A.M., Redaelli, R. (1994): Gliadin allele composition of common wheat cultivars grown in Italy. *Journal of Genetics and Breeding*, 48: 55-66.
16. Metakovsky, E.V., Annicchiarico, P., Boggini, G., Pogna, N.E. (1997): Relationship between gliadin alleles and dough strength in Italian bread wheat cultivars. *Journal of Cereal Science*, 25: 229-236.
17. Metakovsky, E.V., Branlard, G. (1998): Genetic diversity of French common wheat germplasm based on gliadin alleles. *Theoretical and Applied Genetics*, 96: 209-218.
18. Metakovsky, E.V., Gómez, M., Vázquez, J.F., Carrillo, J.M. (2000): High genetic diversity of Spanish common wheat as judged from gliadina alleles. *Plant breeding*, 119: 37-42.
19. Nei, M. (1973): Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of national Academy of Science USA* 70: 3321-3323.
20. Payne, P.I., Holt, L.M., Worland, A.J., Law, C.N. (1982): Structural and genetical studies on the HMW subunits of wheat glutenin. Part III. Telocentric mapping of the subunit genes on the long arms of the homoeologous group I chromosomes. *Theoretical and Applied Genetics*, 63: 129-138.
21. Payne, P.I. (1987): Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread-making quality. *Annual Review of Plant Physiology*, 38: 141-153.
22. Sewa, R., Jain, N., Dawar, V., Singh, R.P., Shoran, J. (2005): Analysis of Acid-PAGE gliadin pattern of Indian wheats (*Triticum aestivum* L.) representing different environments and periods. *Crop Science*, 45: 1256-1263.
23. Shewry, P.R., Halford, N.G., Lafandra, D. (2003): Genetics of wheat glutenin proteins. *Adv Genet* 49: 111-184.
24. Sozinov, A.A., Popereleya, F.A. (1980): Genetic classification of prolamines and its use for plant breeding. *Ann.Technol.Agric.*, 29: 229-245.
25. Tanaka, H., Tomita, M., Tsujimoto, Y., Yasumuro, Y. (2003): Limited but specific variations of seed storage proteins in Japanese common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica*, 132: 167-174.
26. Wang, A., Gao, L., Li, X., Zhang, Y., He, Z., Xia, X., Zhang, Y., Yan, Y. (2008): Characterization of two 1D-encoded  $\omega$  – gliadin subunits closely related to dough strength and pan bread-making quality in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *J.Cereal Science*, 47:528-535.
27. Xu, J., Bietz, J.A., Carriere, C.J. (2007): Viscoelastic properties of wheat gliadin and glutenin suspensions. *Food Chemistry*, 101: 1025-1030.
28. Zaefizadeh, M., Jamaati-e-Somarin, S., Ojaghi, J., Seyedi, S.M., Zabihi-e-Mahmoodabad, R., Ochi, M. (2010): Genetic diversity for gliadin patterns of durum wheat landraces in the Northwest of Iran and Azerbaijan. *Pasq.agropec.bras.* 45 (12): 1425-1432.

Ivana Rukavina i sur.: Analiza kompozicije glijadinskih lokusa  
Hrvatske germplazme heksaploidne pšenice

---

**Adresa autora - Author's address:**

Dr. sc. Ivana Rukavina  
Hrvatski centar za poljoprivredu, hranu i selo  
Zavod za sjemenarstvo i rasadničarstvo  
Usorska 19, Brijest - Osijek  
Tel. 385 31 27 57 18  
Fax. 385 31 27 57 16  
E-mail: ivana.rukavina@hcphs.hr

**Primljeno-Received:**

21. 01. 2013.

Prof.dr.sc. Sonja Marić  
Prof.dr.sc. Vlado Guberac  
Doc.dr.sc. Sonja Petrović  
Poljoprivredni fakultet Sveučilišta u Osijeku  
Kralja Petra Svačića 1d, Osijek

Dr.sc. Tihomir Čupić  
Poljoprivredni institut Osijek  
Južno predgrade 17, Osijek

Dipl. biol. Cornelia Tepper  
Bundessorteamt  
Osterfelddamm 80, Hannover  
Njemačka

