

VARIJABILNOST GLUTENINSKIH LOKUSA HRVATSKE GERMLAZME PŠENICE

Ivana Rukavina ⁽¹⁾, Sonja Marić ⁽²⁾, V. Guberac ⁽²⁾, T. Čupić ⁽³⁾, Cornelia Tepper ⁽⁴⁾

Izvorni znanstveni članak
Original scientific paper

SAŽETAK

Gluteninski lokusi korišteni su za procjenu varijabilnosti 50 sorti heksaploidne ozime pšenice porijeklom iz pet hrvatskih oplemenjivačkih centara. Primijenjena je poliakrilamid gel elektroforeza (PAGE) u prisutnosti natrijeva dodecil sulfata (SDS-sodium dodecyl sulphate) za utvrđivanje visokomolekularnih glutenina (HMW-GS). Broj alela po lokusu kretao se od 3, na Glu-A1, do 5, na Glu-B1 i Glu-D1, te je prosječni broj alela iznosio 4,33. Najveća genetska različitost utvrđena je na lokusu Glu-B1. Najčešća podjedinica na lokusu Glu-A1 bila je 2* (56%). Na lokusu Glu-B1 najzastupljenija je bila kombinacija podjedinica 7+8 s 40% te na lokusu Glu-D1 5+10 sa 68%. U ispitivanju su definirane i visokokvalitetne sorte s najvećim brojem Glu-bodova. Rezultati dobiveni u ovom istraživanju omogućuju daljni razvoj ciljanih oplemenjivačkih programa za podizanje kvalitete ozime pšenice i formiranje sorti poboljšivača.

Ključne riječi: pšenica, varijabilnost, glutenini, SDS PAGE

UVOD

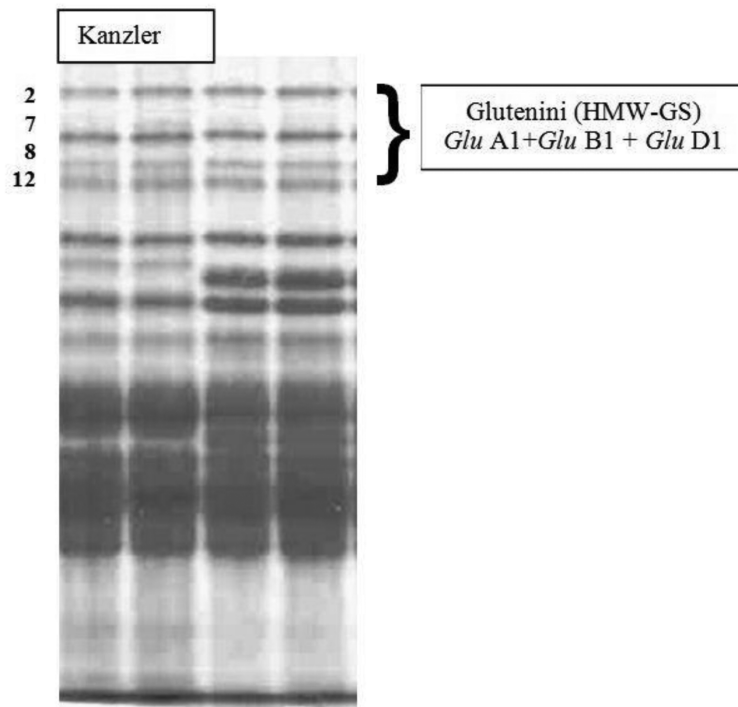
Kvaliteta pšenice u najvećoj mjeri ovisi o količini i kvaliteti glutena. Gluten je složeni polimer, koji omogućuje razvoj viskoznih i elastičnih svojstava tijesta, a čini ga više od 50 različitih proteina (Shewry i Titham, 1997.). Jedna od najvažnijih komponenti glutena su glutenini, proteini koji su topivi u razrijeđenim kiselinama i lužinama, ali netopivi u neutralnim alkoholnim otopinama i otopinama soli te se sastoje od podjedinica povezanih disulfidnim vezama u polimere. Glutenini čine oko 45% bjelančevina zrna pšenice (Lasztity, 1996.) te se dijele u dvije skupine: glutenini velike molekularne mase (High Molecular Weight Glutenin Subunits-HMW GS) 80-130 kDa i glutenini male molekularne mase (Low Molecular Weight Glutenin Subunits-LMW GS) 10-70 kDa. Varijacija HMW glutenina odražava se na kvalitetu brašna, tijesta i kruha. Te su bjelančevine izgrađene od oko 20 podjedinica, nasljeđivanje im je kontrolirano lokusima *Glu-A1*, *Glu-B1* i *Glu-D1* (McIntosh, 2008.). Veliki je broj istraživanja na navedenim trima lokusima (*Glu-A1*, *Glu-B1* i *Glu-D1*), koji kodiraju HMW podjedinice glutenina, pokazao da su vrlo polimorfni. Ispitivanje tih lokusa dio je oplemenjivačkih programa pšenice i u Hrvatskoj (Drezner, 1995.; Samobor i sur., 2005.; Horvat i sur., 2008.; Horvat i sur., 2009.) i u svijetu (Oberforster i Werteker, 1995.; Denčić, 2006., Mandoulakani i sur.,

2006.; Atanasova i sur., 2009.; Zahng i sur., 2009.; Afshan i Naqvi, 2011.). Za buduće oplemenjivačke programe vrlo je važno očuvati varijabilnost na tim lokusima. Cilj je ovoga istraživanja procjena varijabilnosti hrvatske germplazme pšenice na osnovi gluteninskih lokusa.

MATERIJAL I METODE

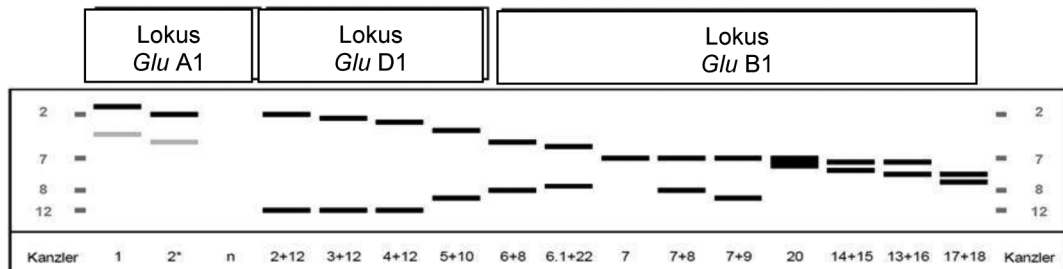
Istraživanje je provedeno na 50 sorti heksaploidne ozime pšenice porijeklom iz pet hrvatskih oplemenjivačkih centara (Poljoprivredni institut Osijek – 17 sorti, Bc institut za oplemenjivanje i proizvodnju bilja d.d. – 15 sorti, Agrigenetics d.o.o. – 12 sorti, Jošt sjeme istraživanja d.o.o. – 4 sorte i Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu – 2 sorte) priznatih u periodu 1983.-2010. godine. Korišteno je i sedam standardnih sorti primjera za utvrđivanje ekspresije alela na gluteninskim lokusima (Alidos, Carolus, Gorbi, Herzog, Kanzler, Renan i Ritmo).

Dr.sc. Ivana Rukavina – Hrvatski centar za poljoprivredu, hranu i selo, Zavod za sjemenarstvo i rasadničarstvo, Usorska 19, Brijest – Osijek, Hrvatska (ivana.rukavina@hcphs.hr), (2) Prof.dr.sc. Sonja Marić, prof. dr.sc. Vlado Guberac – Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Kralja Petra Svačića 1d, Osijek, Hrvatska, (3) Dr.sc. Tihomir Čupić – Poljoprivredni institut Osijek, Južno predgrađe 17, Osijek, Hrvatska (4) Cornelia Tepper, dipl.biol. – Bundessortenamt, Osterfelddamm 80, Hannover, Njemačka



Slika 1. SDS PAGE: Elektroforegram lokusa glutenina sorte primjera Kanzler (izvor: BSA vodič za elektroforezu pšenice)

Figure 1. SDS PAGE: Electrophoregram glutenin loci of example variety Kanzler (source: BSA guideline for wheat electrophoresis)



Slika 2. Prikaz lokusa HMW-GS kalibriranih prema sorti Kanzler (izvor: BSA vodič za elektroforezu pšenice)

Figure 2. View of HMW-GS loci calibrated according to example variety Kanzler (source: BSA guideline for wheat electrophoresis)

U biokemijskome laboratoriju Bundessortenamta (BSA) u Hannoveru analizirana je kompozicija visokomolekularnih glutenina (HMW-GS) uporabom poliakrilamid gel elektroforeze (PAGE) u prisutnosti natrijeva dodecil sulfata (SDS-sodium dodecyl sulphate) prema TG/3/11 vodiču za pšenicu (UPOV, 1996) i BSA vodiču za elektroforezu pšenice (Bundessortenamt, 2007). Identifikacija kompozicije glutenina na lokusima *Glu-A1*, *Glu-B1* i *Glu-D1* (Slika 1. i Slika 2.) također je napravljena prema UPOV TG/3/11 (1996) i BSA vodiču za elektroforezu pšenice (2007).

Izračunata je frekvencija alela za sva tri ispitivana lokusa. Programom Powermarker ver.3.25 analizirana

je genetska različitost (H_E) i polimorfnost genlokusa na osnovi ukupnoga i prosječnoga broja alela po genlokusu (N_a) te je procijenjen polimorfizam (PIC – Polymorphic information content index) za svaki genlokus.

Genetski varijacijski koeficijent (Nei, 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 identifikacije visokomolekularnih (HMW) podjedinica glutenina (GS) ispitivanih sorata pšenice nalaze se u Tablici 1. Analizom sastava i udjela HMW GS (Tablica 2), utvrđeno je da je najčešća podjedinica na *Glu-A1* lokusu bila 2* kod ukupno 56% sorata te podjedinica 1 kod 32 % sorata, što je u skladu s istraživanjima Sultana i sur. (2007.) te Denčića i sur. (2008.), gdje je dominacija 2* podjedinice utvrđena kod modernih sorata, što se upravo odnosi na većinu ovdje ispitivanih sorata. Branlard i sur. (2003.) te Izadi-Drabandi i sur. (2010.) navode da je većinom kod starijih sorata utvrđena dominacija nultog alela te se smatra da su oplemenjivači doveli do nestanka tog alela u populaciji novih sorata, s ciljem stvaranja što kvalitetnijih sorti (Sultana i sur., 2007.). Na *Glu-B1* najčešće su kombinacije bile 7+8 (40%) i 7+9 (32%), što su utvrdili Jurković i sur. (2000), Branlard i sur. (2003) te Petrović (2011.). Na *Glu-D1* najzastupljenija kombinacija podjedinica bila je 5+10 (68%) i 2+12 (20%), što je sukladno istraživanjima Denčića i sur. (2008.), Lerner i sur. (2009.), kao i Petrović (2011.). Zabilježeni su i neki rijetki aleli (3+12; 4+12), što su u svom istraživanju utvrdili i Oury i sur. (2010.). Prema rezultatima navedenog istraživanja, zaključeno je da su podjedinice 5+10 poželjnije nego podjedinice 2+12 te posebno 3+12 i 4+12 na lokusu *Glu-D1*, zbog njihovog utjecaja na čvrstoću glutena. Jurković i sur. (2000.) okarakterizirali su sorte koje na lokusu *Glu-D1* imaju podjedinice 5+10 kao visokokvalitetne sorte i sorte poboljšivači, čiji je gluten indeks bio veći od 90 te, time, i čvršći gluten. Sorte kod kojih je utvrđena podjedinica 1 na lokusu *Glu-A1* i 2+12 na

lokusu *Glu-D1* imale su dobru pekarsku kvalitetu, dok su sorte na podjedinici N na *Glu-A1* i 2+12 na lokusu *Glu-D1* imale nižu pekarsku kvalitetu (gluten indeks 60 do 90). U istom istraživanju utvrđena je dobra pozitivna korelacija između dvaju lokusa *Glu-A1* (1 i N) i *Glu-D1* (2+12 i 5+10) i gluten indeksa. S obzirom na to da je jedan od glavnih oplemenjivačkih ciljeva povećanje kvalitete krušnih pšenica, u ovom istraživanju zamjetna je dominacija podjedinica 5+10 na lokusu *Glu-D1* kod sorti novijeg datuma nastajanja, što je vidljivo i iz *Glu*-bodova (Tablica 1.). Visokokvalitetne sorte s najvećim brojem *Glu-1* bodova (10) su Kalista, Matea, Anika, Dea, Ema, AFZG Karla, Zdenka, Aura, Bc Lira, Talia, Aida, Seka, Katarina, Felix, Ilirija i Nova Žitarka. Sorta Adriana istaknula se niskim brojem *Glu*-bodova (4) te je i od oplemenjivača deklarirana kao kvalitetna grupa C2/C1, kvalitetni razred izvan klase, namjena za konditorsku industriju (mrežni izvor: bc-institut.hr). Posebno je potrebno izdvojiti sortu Bc Lidija, kod koje su utvrđene iznimno rijetke podjedinice 5+12, koje su, kao takve, u svom istraživanju također zabilježili Terasawa i sur. (2009., 2011.). U njihovu istraživanju od 1139 sorata krušne pšenice porijeklom iz Azije svega 0,9% sorata imalo je podjedinice 5+12 na lokusu *Glu-D1*, dok su svom istraživanju Novolseskaya-Dragovich i sur. (2011.) kod kineskih pšenica utvrdili frekvenciju podjedinica 5+12 od 17,9%. U trenutnoj Bundessortenamt kolekciji pšenice porijeklom iz Njemačke do sada nisu imali identificirane podjedinice 5+12 na lokusu *Glu-D1*, stoga će na osnovi rezultata ovog istraživanja sorta Bc Lidija biti uvrštena kao sorta primjer za navedene podjedinice u revidiranome BSA vodiču za elektroforazu pšenice.

Tablica 1. Sastav i ocjena HMW podjedinica gluteninskih lokusa ispitivanih sorti pšenice

Table 1. HMW glutenin subunits composition and score of tested wheat varieties

Sorta Variety	<i>Glu-A1</i>	Ocjena* Score*	<i>Glu-B1</i>	Ocjena* Score*	<i>Glu-D1</i>	Ocjena* Score*	<i>Glu 1</i> bodovi <i>Glu 1</i> score
ADRIANA	N	3	6+8	1	2+12	1	4
BC ELVIRA	1	1	6+8	1	2+12	1	6
BC MIRA	1	1	6+8	1	2+12	1	6
GOLUBICA	1	1	7+9	3	2+12	1	7
PANONKA	2*	2	7+9	3	2+12	1	7
JANICA	1	1	7+9	3	2+12	1	7
ŽITARKA	1	1	7+8	2	2+12	1	8
BARBARA	1	1	7+8	2	2+12	1	8
SUPER ŽITARKA	1	1	7+8	2	2+12	1	8
BC IRENA	1	1	7+9	3	2+12	1	9
SANA	2*	2	6+8	1	3+12	2	6
NIKA	1	1	6+8	1	4+12	3	4
NINA	2*	2	6+8	1	4+12	3	4
PRIMA	2*	2	6+8	1	4+12	3	4
BC ANTEA	2*	2	6+8	1	4+12	3	4
BC LIDIJA	2*	2	7+9	3	5+12	5	5
FIESTA	N	3	7+9	4	5+10	4	7
BANICA	2*	2	7+9	4	5+10	4	9
MARIJA	2*	2	7	4	5+10	4	7
BC RENATA	N	3	7+9	4	5+10	4	7
MURA	1	1	6+8	1	5+10	4	8
HELIA	2*	2	6+8	1	5+10	4	8

Tablica 1. Sastav i ocjena HMW podjedinica gluteninskih lokusa ispitivanih sorti pšenice (nastavak)

Table 1. HMW glutenin subunits composition and score of tested wheat varieties (extension)

Sorta Variety	Glu-A1	Ocjena* Mark*	Glu-B1	Ocjena* Mark*	Glu-D1	Ocjena* Mark*	Glu 1 bodovi Glu 1 score
ALKA	N	3	6+8	1	5+10	4	8
GABI	1	1	7+9	4	5+10	4	9
ATENA	2*	2	7	4	5+10	4	9
UNA	1	1	7+9	4	5+10	4	9
MIHELCA	2*	2	7+9	4	5+10	4	9
CERERA	2*	2	7+9	4	5+10	4	9
DIVANA	2*	2	7+9	4	5+10	4	9
KOLEDA	2*	2	7+9	4	5+10	4	9
ZLATA	2*	2	7+9	4	5+10	4	9
OLIMPIJA	2*	2	7+9	4	5+10	4	9
KALISTA	2*	2	7+8	2	5+10	4	10
MATEA	2*	2	7+8	2	5+10	4	10
ANIKA	2*	2	7+8	2	5+10	4	10
DEA	2*	2	7+8	2	5+10	4	10
EMA	2*	2	7+8	2	5+10	4	10
AFZG KARLA	2*	2	7+8	2	5+10	4	10
ZDENKA	2*	2	7+8	2	5+10	4	10
AURA	2*	2	7+8	2	5+10	4	10
BC LIRA	2*	2	7+8	2	5+10	4	10
TALIA	1	1	7+8	2	5+10	4	10
SRPANJKA	N	3	7+8	2	5+10	4	10
LUCIJA	N	3	7+8	2	5+10	4	10
AIDA	2*	2	17+18	7	5+10	4	10
SEKA	1	1	7+8	2	5+10	4	10
KATARINA	1	1	7+8	2	5+10	4	10
FELIX	2*	2	7+8	2	5+10	4	10
ILIRIJA	2*	2	7+8	2	5+10	4	10
NOVA ŽITARKA	1	1	7+8	2	5+10	4	10

*Ocjena prema UPOV i BSA vodiču za elektroforezu pšenice: * Mark according to UPOV and BSA guide for wheat electrophoresis

Tablica 2. Frekvencije HMW podjedinica gluteninskih lokusa ispitivanih sorata pšenice

Table 2. Frequency of HMW glutenin subunits of tested wheat varieties

Glu-A1		Glu-B1		Glu-D1	
Podjedinica Subunit	Frekv.% Freq.%	Podjedinica Subunit	Frekv.% Freq.%	Podjedinica Subunit	Frekv.% Freq.%
1	32	6+8	22	2+12	20
2*	56	7	4	3+12	2
N	12	7+8	40	4+12	8
		7+9	32	5+10	68
		17+18	2	5+12	2

Polimorfnost lokusa i genetska različitost analizirana je na osnovi broja alela (N_a), genetske različitosti (H_e) i polimorfizma (PIC) (Tablica 3.). Broj alela po lokusu kretao se od 3, na *Glu-A1*, do 5, na *Glu-B1* i *Glu-D1*, a prosječni broj alela iznosio je 4,33 alela. Najveća genetska različitost ($H_e=0,687$), kao i najveći PIC (0,627), utvrđeni su na lokusu *Glu-B1*, što su u svojem istraživanju utvrdili Bradová i Štočková (2010.), dok je Petrović (2011.) u svom istraživanju utvrdila najveću genetsku različitost na lokusu *Glu-A1*

($H_e=0,44$), a najmanju na *Glu-B1* ($H_e=0,23$). Biljni materijal koji je korišten u prethodno navedenom ispitivanju različit je od materijala korištenog u ovom ispitivanju. Uz hrvatske sorte, korištene su sorte francuskoga i austrijskoga porijekla, stoga je i za očekivati da se dobiveni rezultati razlikuju.

Tablica 3. Ispitivani gluteninski lokusi pšenice, broj alela (N_a), genetska različitost (H_e) i polimorfizam (PIC)Table 3. HMW glutenin loci of wheat, number of alleles (N_a), genetic diversity (H_e) and polymorphism (PIC)

Lokus	N_a	H_e	PIC
<i>Glu-A1</i>	3	0,509	0,413
<i>Glu-B1</i>	5	0,687	0,627
<i>Glu-D1</i>	5	0,490	0,446
Prosjeck:	4,33	0,562	0,495

ZAKLJUČAK

Analizom sastava gluteninskih lokusa kod 50 sorti ozime pšenice porijeklom iz Hrvatske utvrđena je najčešća podjedinica 2* (56%) na lokusu *Glu-A1*. Na lokusu

Glu-B1 najzastupljenija je bila kombinacija podjedinica 7+8 s 40% te na lokusu *Glu*-D1 5+10 sa 68%. Broj alela po lokusu kretao se od 3 (*Glu*-A1) do 5 (*Glu*-B1 i *Glu*-D1), a prosječni broj alela iznosio je 4,33. Najveća genetska različitost utvrđena je na lokusu *Glu*-B1. Definirane su visokokvalitetne sorte s najvećim brojem *Glu* – bodova (Kalista, Matea, Anika, Dea, Ema, AFZG Karla, Zdenka, Aura, Bc Lira, Talia, Aida, Seka, Katarina, Felix, Ilirija i Nova Žitarka). Postojanje genetske varijabilnosti u sadržaju i sastavu bjelanjčevina zrna pšenice vrlo je značajno za daljnji napredak selekcije pšenice, što omogućuje razvoj ciljanih oplemenjivačkih programa za podizanje kvalitete ozime pšenice i formiranje sorti poboljšivača.

ZAHVALA

Ovo istraživanje proizašlo je iz suradnje s biokemijskim laboratorijem Bundessortenamt, Hannover, Njemačka kroz CPVO (Community Plant Variety Office) Multi Beneficiary Program on Participation of Former Yugoslav Republic of Macedonia, Turkey and Croatia.

LITERATURA

1. Afshan, S., Naqvi F.N. (2011): Allelic Variation in high Molecular Weight Glutenin Subunits in Pakistani Bread wheat Genotypes. *Cereal Res. Commun.*, 39(1): 109-119.
2. Atanasova, D., Tsenov, N., Todorov, I., Ivanova, I. (2009): Glutenin composition of winter wheat varieties bred in Dobrudzha agricultural institute. *Bulgarian J. Agric. Sci.*, 15(1): 9-19.
3. Bc Institut Zagreb, Proizvodi – pšenica Adriana, 2012., www.bc-institut.hr (07.11.2012.)
4. Bradová, J., Štočková, L. (2010): Evaluation of Winter wheat Collection in terms of HMW- and LMW-Glutenin Subunits. *Czech J. Genet.Plant Breed.*, 46: 96-99.
5. Branlard, G., Dardevet, M., Amieur, 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.
6. Bundessortenamt (2007): Guidelines for the Conduct of Electrophoresis Tests for Distinctness, Uniformity and Stability of Wheat.
7. Denčić, S. (2006.): Genetika i oplemenjivanje strnih žita. Zbornik radova Naučnog Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, 42(2): 377.-394.
8. Denčić, S., Obreht, D., Kobiljski, B., Štatkić, S. (2008.): Genetska determiniranost kvalitete pšenice. Zbornik radova 43. Hrvatskog i 3. Međunarodnog simpozija agronoma u Opatiji; 278.-281.
9. Drezner, G. (1995.): Oplemenjivanje bilja na Poljoprivrednom institutu Osijek, Sjemenarstvo, 12(1): 13.-18.
10. Horvat, D., Drezner, G., Šimić, G., Mijić, A., Magdić, D. (2008): Quality of wheat cultivars created at the Agricultural Institute Osijek in relation to high molecular weight glutenin subunits (HMW-GS) composition. *Periodicum biologorum*, 110(3): 263-268.
11. Horvat, D., Kurtanjek, Ž., Drezner, G., Šimić, G., Magdić, D. (2009): Effect of HMM glutenin subunits on wheat quality attributes. *Food Technol. Biotechnol.*, 43(3): 253-259.
12. Izadi-Darbandi, A., Yazdisamadi, B., Shanejat-Boushehri, A.A., Mohammadi, M. (2010): Allelic variation in *Glu*-1 and *Glu*-3 loci of historical and modern Iranian bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *J. Genet.*, 89(2): 193-199.
13. Jurković, Z., Sudar, R., Drezner, G., Horvat, D. (2000): The HMW glutenin subunit composition of OS wheat cultivars and their relationship with bread-making quality. *Cereal Res. Commun.*, 28(3): 271-277.
14. Lásztity, R. (1996): The chemistry of cereal proteins. CRC Press, USA, 2nd edition: 1-328.
15. Lerner, S.E., Kolman, M.A., Rogers, W.J. (2009): Quality and endosperm storage protein variation in Argentinean grow bread wheat. I. Allelic diversity and discrimination between cultivars. *J. Cereal Sci.*, 49: 337-345.
16. Mandoulakani, B.A., Gomarian, M., Shahnejat-Bushehri, A.A. (2006): Identification of the parents for bread-making quality improvement in bread wheat based on RAPD and seed storage protein (HMW-GS) markers, *Pakistan J. Biol. Sci.*, 9(3): 497-502.
17. McIntosh, R.A., Hart, G.E., Devos, K.M., Gale, M., Rogers, W.J., Dubcovsky, J., Morris, C.F. (2008): Catalogue of Gene Symbols for Wheat. 2008.edition.
18. Nei, M. (1973): Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of national Academy of Science USA* 70: 3321-3323
19. Novoselskaya-Dragovich, A.Y., Fisenko, A.V., Yankovsky, N.K., Kudryavtsev, A.M., Yang, Q., Lu, Z., Wang, D. (2011): Genetic diversity of storage protein genes in common wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars from China and its comparison with genetic diversity of cultivars from other countries. *Genetic. Resour. Crop. Evol.*, 58: 533-543.
20. Oberforester, M., Werteker, M. (1995): Wheat breeding and breadmaking quality in Austria. *Sjemenarstvo*, 12(6): 413-425.
21. Oury, F.X., Chiron, H., Faye, A., Gardet, O., Heumez, E. Rolland, B., Rousset, M., Trotter, M., Charmet, g., Branlard, G. (2010): The prediction of wheat quality: joint use of the phenotypic information brought by technological tests and the genetic informations brought by HMW and LMW glutenin subunits. *Euphytica*, 171: 87-109.
22. Petrović, S. (2011.): Genetska različitost germplazme ozime krušne pšenice (*Triticum aestivum* L. ssp. *vulgare*). Doktorski rad, Sveučilište J.J.Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet, Osijek, Hrvatska

23. Samobor, V., Vukobratović, M., Ivanek-Martinčić, M., Jošt, M. (2005.): Oplemenjivanje pšenice na visoku pekarsku kakvoću. *Sjemenarstvo*, 22(1-2): 5-11.
24. Shewry, P.R., Titham, A.S. (1997): Disulfide bonds in wheat gluten proteins. *J. Cereal Sci.*, 25: 207-227.
25. Sultana, T., Ghafoor, A., Ashraf, M. (2007): Genetic variability in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) pakistan based on polymorphism for high molecular weight glutenin subunits. *Genetic. Resour. Crop Evol.*, 54: 1159-1165.
26. Terasawa, Y., Kawahara, T., Sasakuma, T., Sasanuma, T. (2009): Evaluation of the genetic diversity of an Afgan wheat collection based on morphological variation, HMW glutenin subunit polymorphisms, and AFLP. *Breeding Sci.*, 59: 631-371.
27. Terasawa, Y., Takata, K., Hirano, H., Kato, K., Kawahara, T., Sasakuma, T., Sasanuma, T. (2011): Genetic variation of high-molecular-weight glutenin subunit composition in Asian wheat. *Genetic. Resour. Crop Evol.*, 58: 283-289.
28. UPOV (1996): Guideline for the distinctness, uniformity and stability wheat (*Triticum aestivum* L.). TG/3/11.
29. Zahng, P.P., Ma, H.X., Yao, J.B., He, Z.H. (2009): Effect of allelic variation and expression quantity at *Glu-1* loci on size distribution of glutenin polymer in common wheat. *Acta Agronomica sinica*, 35(9): 1606-1612.

GLUTENIN LOCI VARIABILITY OF CROATIAN WHEAT GERMLASM

SUMMARY

Glutenins loci were used for variability estimation in 50 varieties of hexaploid winter wheat originated from Croatian breeding centres. Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) in presence of sodium dodecyl sulphate (SDS) was used for determination of high molecular weight glutenins (HMW-GS). Number of alleles per loci ranged from 3 at *Glu-A1* to 5 at *Glu-B1* and *Glu-D1*, the average number of alleles was 4.33. The highest genetic diversity was found at loci *Glu-B1* ($H_e=0.687$). The most frequent subunit at loci *Glu-A1* was 2* (56%). At loci *Glu-B1* the most common combination of subunits was 7+8 with 40%, and at loci *Glu-D1* 5+10 with 68%. The study also defines high quality varieties with largest number of *Glu*-scores. The results attained from this study allow further development of specific breeding programs for winter wheat quality improvement and improvers creation.

Key-words: wheat, variability, glutenins, SDS PAGE

(Primljeno 12. studenoga 2012.; prihvaćeno 22. studenoga 2012. - Received on 12 November 2012; accepted on 22 November 2012)