

Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie  
ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin  
e-mail: justyna.lesniowska@up.lublin.pl

JUSTYNA LEŚNIEWSKA-NOWAK, AGNIESZKA GRĄDZIELEWSKA,  
MARZENA MAJEK

**Identyfikacja genów odporności na rdzę brunatną  
w wybranych europejskich odmianach pszenicy zwyczajnej  
oraz opracowanie warunków Multiplex PCR**

---

Identification of the gene resistant to leaf rust in selected European wheat  
cultivars and Multiplex PCR development

**Streszczenie.** Rdza brunatna powodowana przez grzyb *Puccinia triticina* jest jedną z najpoważniejszych chorób pszenicy zwyczajnej. Najskuteczniejszym sposobem ograniczania występowania tego patogenu jest wprowadzanie do uprawy odmian z genetycznie uwarunkowaną odpornością. Celem pracy była identyfikacja genów *Lr9*, *Lr10* i *Lr19* w europejskich odmianach pszenicy zwyczajnej oraz opracowanie warunków Multiplex PCR w celu jednoczesnej identyfikacji genów *Lr9* i *Lr19*. Opracowanie takiej reakcji umożliwi zmniejszenie kosztów i skrócenie czasu potrzebnego do przeprowadzenia analiz.

**Słowa kluczowe:** pszenżyto, geny karłowatości, wyleganie, komponenty plonu

WSTĘP

Rdza brunatna obok mączniaka prawdziwego oraz rdzy żółtej jest jedną z najgroźniejszych chorób pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L.) powodowaną przez grzyb *Puccinia triticina*. Najskuteczniejszą metodą kontrolowania i ograniczania skutków porażenia przez ten patogen jest wprowadzenie do uprawy odmian z genetycznie uwarunkowaną odpornością [Kolmer i in. 2007, Lind i Gulyaeva 2007].

Większość genów odporności na rdzę brunatną ma poznaną lokalizację chromosomową, a niemal połowa została przeniesiona z dzikich przodków i gatunków pokrewnych, takich jak: *Aegilops speltoides*, *Aegilops umbellulata*, *Aegilops tauschii*, *Aegilops ventricosa*, *Aegilops elongatum*, *Aegilops intermedium*, *Triticum monococcum*, *Triticum spelta* [Błaszczyk i Chełkowski 2010]. Do tej pory opisano ponad 60 genów odporności na rdzę brunatną. Do najbardziej skutecznych należą m.in. geny *Lr9*, *Lr10* i *Lr19*.

Gen *Lr9* został przeniesiony do pszenicy 'Chinese Spring' z *Ae. umbellulata*. Cztery lata po jego wprowadzeniu do pszenicy ozimej w USA stwierdzono przełamanie odporności niesionej przez ten gen. Pszenice z genem *Lr9* zajmują mniej niż 2% powierzchni uprawy pszenic na świecie [Gupta i in. 2006].

Stosunkowo często występującym w materiałach hodowlanych genem jest *Lr10*, który znajduje się na krótkim ramieniu chromosomu 1A. Po raz pierwszy został on wykryty w australijskich odmianach pszenic Lee i Timstein. Występuje dość powszechnie w pszenicach uprawianych na terenie Ameryki Północnej i Południowej, w Europie, Afryce oraz Azji Południowej i Wschodniej. *Lr10*, działając pojedynczo, nie jest skuteczny, jednak w połączeniu z innymi genami może dawać bardzo dobre rezultaty [Cherukuri i in. 2003, Li i in. 2006, 2007].

*Lr19* jest natomiast genem zlokalizowanym na długim ramieniu chromosomu 7D. Został przeniesiony z *Agropyron elongatum*. Zapewnia pełną ochronę przed patotypami rdzy brunatnej. Nie jest on jednak powszechnie używany w programach hodowlanych ze względu na sprzężenie z czynnikiem warunkującym żółte zabarwienie mąki, co nie jest cechą pożądaną [Woźniak-Strzembicka 1997].

Identyfikacja genów odporności w materiałach hodowlanych i odmianach możliwa jest dzięki wykorzystaniu testów żywiciel-patogen lub markerów molekularnych. Selekcja MAS umożliwi identyfikację poświadczonych genotypów na wczesnych etapach rozwoju rośliny i w dość krótkim czasie. Opracowanie zaś warunków reakcji Multiplex PCR umożliwiającej jednoczesną identyfikację dwóch lub trzech genów pozwoli na dodatkowo skrócenie czasu i ograniczenie kosztów prowadzonych analiz.

Celem prezentowanej pracy była identyfikacja genów *Lr9*, *Lr10* i *Lr19* w wybranych europejskich odmianach pszenicy zwyczajnej oraz opracowanie warunków Multiplex PCR do identyfikacji dwóch z nich (*Lr9* i *Lr19*) w pojedynczej reakcji.

#### MATERIAŁ I METODY

Przedmiot badań stanowiło 12 odmian pszenicy zwyczajnej pochodzących z krajów Europy Środkowej i Wschodniej (tab. 1). W pracy wykorzystywano również linie izogeniczne odmiany Thatcher zawierające odpowiednie geny *Lr* oraz linię pozbawioną genetycznie warunkowanej odporności na rdzę brunatną.

DNA wyizolowano z liści 5-dniowych siewek przy użyciu zestawu GeneMATRIX Plant & Fungi DNA Purification Kit. Stężenie DNA określono, wykorzystując spektrofotometr NanoDrop 2000. Próbki doprowadzono do jednakowego stężenia DNA 20 ng/μl. PCR przeprowadzono na termocyklerze T Professional (Biometra).

Identyfikację genu *Lr9* przeprowadzono z wykorzystaniem starterów SCS5<sub>550</sub>-F i SCS5<sub>550</sub>-R o sekwencjach:

F: 5'-TGC GCC CTT CAA AGG AAG-3'

R: 5'-TGC GCC CTT CTG AAC TGT AT-3' [Gupta i in. 2005].

W skład mieszaniny reakcyjnej o objętości 20 ml wchodziły: 1 × bufor do PCR (10 mM Tris pH 8,8, 50 mM KCl, 0,08% Nonidet P40) (Fermentas), 0,1 mM każdego dNTP, 10 nM każdego ze starterów, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 60 ng genomowego DNA, 0,5 U *Taq* DNA Polymerase (Fermentas, Litwa). Zastosowano następujący profil termiczny: wstępna denaturacja przez 2 min w 95°C, 35 cykli: 94°C – 1 min, 62°C – 1 min, 72°C – 2 min z końcową inkubacją 7 min w temp. 72°C.

Tabela 1. Badany materiał roślinny  
Table 1. Analyzed plant material

Lp. No.	Odmiana pszenicy Cultivare	Kraj pochodzenia Country of origin
1	Mobela	Polska
2	Tortija	Polska
3	Berezina	Białoruś
4	Kolhoznaya	Białoruś
5	Dar Zaporozhya	Ukraina
6	Dnieprzyanka	Ukraina
7	Faktor	Rosja
8	Charovnitca	Rosja
9	Angelina	Rosja
10	Basianka	Rosja
11	Lyutestcens	Łotwa
12	Priekulskaya	Łotwa
Gen Gene	Kontrola pozytywna Positive control	Kontrola negatywna Negative control
<i>Lr9</i>	Thatcher z genem <i>Lr9</i>	Thatcher
<i>Lr10</i>	Thatcher z genem <i>Lr10</i>	Thatcher
<i>Lr19</i>	Thatcher z genem <i>Lr19</i>	Thatcher

Identyfikację genu *Lr10* rozpoczęto od przeprowadzenia amplifikacji wstępnej z użyciem pary starterów Lrk 10–6 R i F o sekwencjach:

F: 5'-AAG ATC AAG TAC CAC TGC-3'

R: 5'-TGG AAC CCG AGA AAC CGT CC-3' [Schachermayr i in. 1997].

W skład mieszaniny reakcyjnej o objętości 20 ml wchodziły: 1 × bufor do PCR (10 mM Tris pH 8,8, 50 mM KCl, 0,08% Nonidet P40) (Fermentas), 0,1 mM każdego dNTP, 5 nM każdego ze starterów, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 60 ng genomowego DNA, 0,5 U *Taq* DNA Polymerase (Fermentas, Litwa). Zastosowano następujący profil termiczny: wstępna denaturacja przez 5 min w temp. 95°C, 35 cykli: 94°C – 45'', 60°C – 45'', 72°C – 90'' z końcową inkubacją 10 min w temp. 72°C.

Następnie dokonano amplifikacji właściwej z zastosowaniem pary starterów Lrk10 D R i F o sekwencjach:

F: 5'-GAA GCC CTT CGT CTC ATC TG-3'

R: 5'-TTG ATT CAT TGC AGA TGA GAT CAC-3' [Schachermayr i in. 2001].

Skład mieszaniny reakcyjnej był analogiczny jak przy amplifikacji wstępnej. Zastosowano tylko inny profil termiczny: wstępna denaturacja przez 5 min w temp. 95°C, 40 cykli: 94°C – 45'', 60°C – 45'', 72°C – 45'' z końcową inkubacją 7 min w temp. 72°C.

Identyfikację genu *Lr19* przeprowadzono z wykorzystaniem starterów GbF i GbR o sekwencjach:

F: 5'-CAT CCT TGG GGA CCT C-3'

R: 5'-CCA GCT CGC ATA CAT CCA-3' [Prins i in. 2001].

W skład mieszaniny reakcyjnej o objętości 20 ml wchodziły: 1 × bufor do PCR (10 mM Tris pH 8,8, 50 mM KCl, 0,08% Nonidet P40) (Fermentas), 0,2 mM każdego dNTP, 12,5 nM każdego ze starterów, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 100 ng genomowego DNA, 0,625 U *Taq* DNA Polymerase (Fermentas, Litwa). Zastosowano następujący profil termiczny:

wstępna denaturacja przez 4 min w temp. 95°C, 35 cykli: 94°C – 30'', 60°C – 30'', 72°C – 30'' z końcową inkubacją 5 min w 72°C.

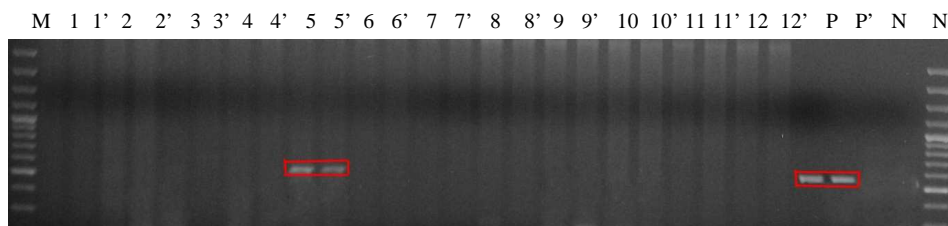
Jednoczesną identyfikację genów odporności na rdzę brunatną *Lr9* i *Lr19* w pszenicy zwyczajnej przeprowadzono, stosując równocześnie dwie pary starterów specyficznych dla tych genów. Reakcję prowadzono w dwóch powtórzeniach, stosując jako matrycę DNA pochodzące z linii kontrolnych Thatcher *Lr9* i Thatcher *Lr19*. Końcowa objętość mieszaniny reakcyjnej wynosiła 20 µl, a jej skład był następujący: 1 × bufor do PCR (10 mM Tris pH 8,8, 50 mM KCl, 0,08% Nonidet P40) (Fermentas), 0,2 mM każdego dNTP, 12,5 nM każdego ze starterów, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 100 ng genomowego DNA, 1,5 U *Taq* DNA Polymerase (Fermentas, Litwa). W reakcji tej wykorzystano profil termiczny specyficzny dla identyfikacji genu *Lr10*.

W celu wizualizacji otrzymanych wyników produkty amplifikacji rozdzielano elektroforetycznie w 1,5% żelu agarozowym, zawierającym 0,01% bromku etydyny, w buforze 1 × TBE przez 1,5 h przy napięciu 100 V. Po tym czasie żel przeniesiono na transiluminator UV i zarchiwizowano za pomocą systemu DigiGenius (SynGene).

## WYNIKI

### Identyfikacja genu *Lr9*

Po włączeniu do PCR starterów SCS<sub>550</sub>-F i SCS<sub>550</sub>-R uzyskano produkty o wielkości 550 pz świadczące o obecności genu *Lr9*. Wyraźny ampikon o tej wielkości zaobserwowano tylko w odmianie Dar Zaporozhya. W pozostałych odmianach nie zaobserwowano produktów o podobnej wielkości (fot. 1).



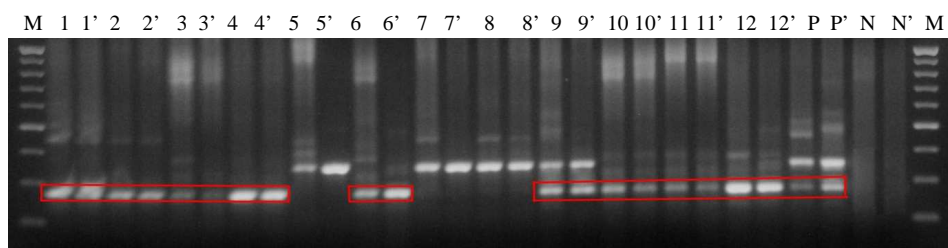
Fot. 1. Obraz elektroforetyczny produktów PCR w 1,5% żelu agarozowym po włączeniu do reakcji pary starterów SCS<sub>550</sub>-F i SCS<sub>550</sub>-R. M – Gene Ruler 100 bp DNA Ladder Plus (Fermentas), 1, 1' – 'Mobela', 2, 2' – 'Tortija', 3, 3' – 'Berezina', 4, 4' – 'Kolhoznaya', 5, 5' – 'Dar Zaporozhya', 6, 6' – 'Dnieprzyanka', 7, 7' – 'Faktor', 8, 8' – 'Chorovnitca', 9, 9' – 'Angelina', 10, 10' – 'Basianka', 11, 11' – 'Lyutestcens', 12, 12' – 'Priekulskaya', P, P' – kontrola pozytywna, N, N' – kontrola negatywna

Phot. 1. PCR products separated in 1,5% agarose gel after using of SCS<sub>550</sub>-F and SCS<sub>550</sub>-R primers. M – Gene Ruler 100 bp DNA Ladder Plus (Fermentas), 1, 1' – 'Mobela', 2, 2' – 'Tortija', 3, 3' – 'Berezina', 4, 4' – 'Kolhoznaya', 5, 5' – 'Dar Zaporozhya', 6, 6' – 'Dnieprzyanka', 7, 7' – 'Faktor', 8, 8' – 'Chorovnitca', 9, 9' – 'Angelina', 10, 10' – 'Basianka', 11, 11' – 'Lyutestcens', 12, 12' – 'Priekulskaya', P, P' – positive control, N, N' – negative control

### Identyfikacja genu *Lr10*

Po włączeniu do PCR starterów Lrk10D1 i Lrk10D2 otrzymano produkty o wielkości 282 pz świadczące o obecności genu *Lr10*. Wyraźny ampikon o tej wielkości zaob-

serwowano w odmianach: Mobela, Tortija, Berezina, Kolhoznava, Dnieprzyanka, Angelina, Basianka, Lyutestcens, Priekulskaya, natomiast w pozostałych odmianach nie zaobserwowano produktów o podobnej wielkości (fot. 2).

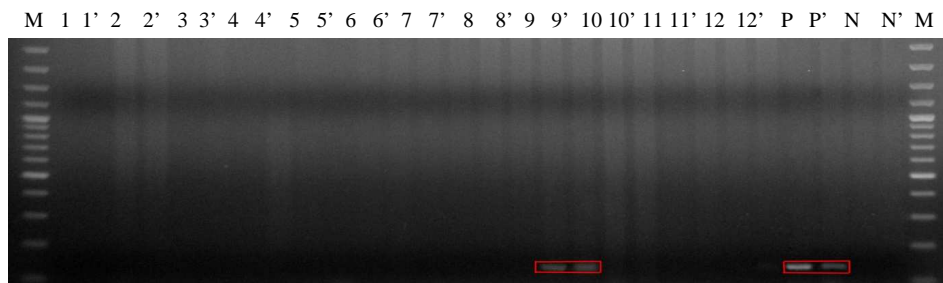


Fot. 2. Obraz elektroforetyczny produktów PCR w 1,5% żelu agarozowym po włączeniu do reakcji pary starterów Lrk10D1 i Lrk10D2. M – Gene Ruler 100 bp DNA Ladder Plus (Fermentas), 1, 1' – 'Mobela', 2, 2' – 'Tortija', 3, 3' – 'Berezina', 4, 4' – 'Kolhoznaya', 5, 5' – 'Dar Zaporozhya', 6, 6' – 'Dnieprzyanka', 7, 7' – 'Faktor', 8, 8' – 'Chorovnitca', 9, 9' – 'Angelina', 10, 10' – 'Basianka', 11, 11' – 'Lyutestcens', 12, 12' – 'Priekulskaya', P, P' – kontrola pozytywna, N, N' – kontrola negatywna

Phot. 2. PCR products separated in 1,5% agarose gel after using of Lrk10D1 and Lrk10D2 primers. M – Gene Ruler 100 bp DNA Ladder Plus (Fermentas), 1, 1' – 'Mobela', 2, 2' – 'Tortija', 3, 3' – 'Berezina', 4, 4' – 'Kolhoznaya', 5, 5' – 'Dar Zaporozhya', 6, 6' – 'Dnieprzyanka', 7, 7' – 'Faktor', 8, 8' – 'Chorovnitca', 9, 9' – 'Angelina', 10, 10' – 'Basianka', 11, 11' – 'Lyutestcens', 12, 12' – 'Priekulskaya', P, P' – positive control, N, N' – negative control

### Identyfikacja genu *Lr19*

Po włączeniu do PCR starterów GbF i GbR otrzymano produkty o wielkości 130 pz świadczące o obecności genu *Lr19*. Wyraźny produkt o tej wielkości zaobserwowano w odmianie Angelina, natomiast w pozostałych odmianach nie zaobserwowano produktów o podobnej wielkości (fot. 3).

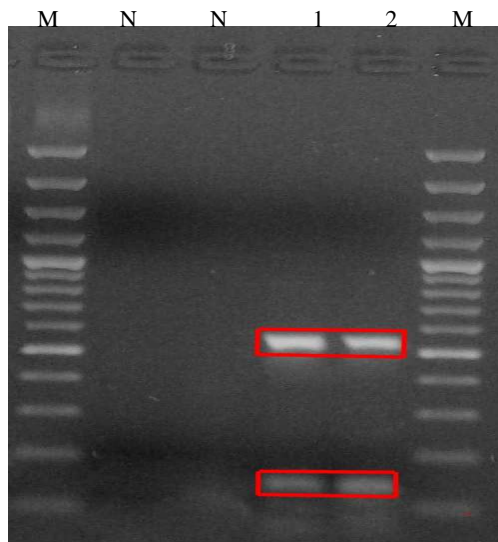


Fot. 3. Obraz elektroforetyczny produktów PCR w 1,5% żelu agarozowym po włączeniu do reakcji pary starterów GbF i GbR. M – Gene Ruler 100 bp DNA Ladder Plus (Fermentas), 1, 1' – 'Mobela', 2, 2' – 'Tortija', 3, 3' – 'Berezina', 4, 4' – 'Kolhoznava', 5, 5' – 'Dar Zaporozhya', 6, 6' – 'Dnieprzyanka', 7, 7' – 'Faktor', 8, 8' – 'Chorovnitca', 9, 9' – 'Angelina', 10, 10' – 'Basianka', 11, 11' – 'Lyutestcens', 12, 12' – 'Priekulskaya', P, P' – kontrola pozytywna, N, N' – kontrola negatywna

Phot. 3. PCR products separated in 1,5% agarose gel after using of GbF and GbR. -R primers. M – Gene Ruler 100 bp DNA Ladder Plus (Fermentas), 1, 1' – 'Mobela', 2, 2' – 'Tortija', 3, 3' – 'Berezina', 4, 4' – 'Kolhoznaya', 5, 5' – 'Dar Zaporozhya', 6, 6' – 'Dnieprzyanka', 7, 7' – 'Faktor', 8, 8' – 'Chorovnitca', 9, 9' – 'Angelina', 10, 10' – 'Basianka', 11, 11' – 'Lyutestcens', 12, 12' – 'Priekulskaya', P, P' – positive control, N, N' – negative control

### Amplifikacja DNA metodą Multipleks PCR dla genów *Lr9* i *Lr19*

Po włączeniu do PCR dwóch par starterów SCS<sub>550</sub>-F i SCS<sub>550</sub>-R oraz GbF i GbR otrzymano produkty o wielkościach 550 pz i 130 pz świadczące o obecności odpowiednio genów *Lr9* i *Lr19*. W badanych próbach kontrolnych wyraźnie zaobserwowano oba prążki o tych wielkościach, natomiast w kontrolach negatywnych nie otrzymano żadnych produktów. Dodatkowo nie zauważono innych prążków, które mogą świadczyć o obecności produktów niespecyficycznych (fot. 4).



Fot. 4. Obraz elektroforetyczny produktów PCR w 1,5% żelu agarozowym po włączeniu do reakcji dwóch par starterów SCS<sub>550</sub>-F i SCS<sub>550</sub>-R oraz GbF i GbR. M – Gene Ruler 100 bp DNA Ladder Plus (Fermentas), 1, 2, – próba kontrolna z linii Thatcher Lr9 i Thatcher Lr19, N, N' – kontrola negatywna

Phot. 4. PCR products separated in 1.5% agarose gel after using of SCS<sub>550</sub>-F and SCS<sub>550</sub>-R as well as GbF and GbR. -R primers. M – Gene Ruler 100 bp DNA Ladder Plus (Fermentas), N, N' – negative control, 1, 2 – positive control – Thatcher Lr9 and Thatcher Lr19 lines

### DYSKUSJA

W badaniach własnych podjęto próbę genotypowania 12 europejskich odmian uprawnych pod kątem obecności genów odporności na rdzę brunatną. Podobne badania prowadzili Stępień i in. [2003], którzy analizowali 37 odmian pszenicy zwyczajnej, pochodzących z 7 europejskich państw oraz 15 linii hodowlanych, pod kątem użyteczności markerów STS w identyfikacji siedmiu genów *Lr* odporności na rdzę brunatną (*Lr9*, *Lr10*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr26* i *Lr37*). Gen *Lr9* zidentyfikowano w dwóch liniach hodowlanych. Gen *Lr10* był obecny w 16 z 37 analizowanych odmian, natomiast gen *Lr19* występował w trzech liniach hodowlanych. Identyfikacja, w badaniach własnych, form zawierających konkretne geny odporności umożliwi wykorzystanie ich w programach hodowlanych jako źródła odporności na rdzę brunatną. Na szczególną uwagę zasługuje tutaj odmiana Angelina zawierająca geny *Lr10* i *Lr19*.

Schachermayr i in. [1994] przetestowali 20 linii za pomocą markerów RAPD oraz STS i w 19 z nich stwierdzili obecność genu *Lr19*. Uzyskane wyniki były identyczne przy użyciu obu systemów markerowych. W badaniach własnych spośród 12 analizowanych odmian obecność produktu o wielkości 550 pz, świadczącego o występowaniu genu *Lr9*, stwierdzono w jednej odmianie Dar Zaporozhya, co świadczy o tym, że gen ten nie występuje powszechnie w europejskich odmianach pszenicy zwyczajnej.

Schachermayr i in. [1997] opracowali markery molekularne pozwalające na identyfikację genu *Lr10* kodującego receptor kinezy. Wykorzystali do tego celu system markerowy RFLP. Identyfikację genu *Lr10* przy zastosowaniu opracowanych markerów autorzy przeprowadzili w 12 odmianach pszenicy i w 50 europejskich liniach hodowlanych. Wszystkie badane odmiany wykazywały obecność tych samych alleli genu *Lr10* co linia Thatcher *Lr10*. Większość natomiast linii o nieznannej kompozycji locus *Lr10* nie wykazywała obecności tego genu. Spośród badanych linii sześć wykazywało ten sam allel co linia Thatcher *Lr10*, natomiast 20% linii zawierało inny allel.

Kombinacja markerów STS Lrk10-6 została również wykorzystana przez Hanzalová i in. [2009] w celu wykrycia genu *Lr10*. Spośród 28 testowanych odmian pszenicy zwyczajnej gen ten zaobserwowano w 10 odmianach, co dowodzi, że jest on stosunkowo powszechnie wykorzystywany w programach hodowlanych. Powszechne wykorzystanie tego genu zostało również potwierdzone w badaniach własnych, gdzie stwierdzono jego obecność w 9 odmianach spośród 12 badanych.

Gen *Lr19* jest wykorzystywany w programach hodowlanych polskich spółek. Okoń i in. [2012] prowadzili badania pod kątem identyfikacji tego genu w liniach hodowlanych. Brak genu stwierdzono we wszystkich formach pochodzących z Poznańskiej Hodowli Roślin oraz Małopolskiej Hodowli Roślin. Obecność genu *Lr19* została stwierdzona jedynie w 33 liniach pochodzących z Hodowli Roślin Strzelce. Podobne wyniki uzyskali Kowalczyk i in. [2012]. Gen ten został zidentyfikowany w 20 liniach pochodzących z Hodowli Roślin Strzelce i pięciu pochodzących z Hodowli Roślin Smolice. Ponadto Kowalczyk i in. [2009] zidentyfikowali gen *Lr19* w 38 formach spośród 350 analizowanych genotypów. W przedstawionej pracy gen ten został stwierdzony tylko w jednej odmianie. Badania własne oraz innych autorów wskazują na niewielką popularność tego genu w programach hodowlanych pszenicy zwyczajnej.

W pracy podjęto również udaną próbę opracowania warunków Multiplex PCR dla genów *Lr9* i *Lr19*. Nie włączono genu *Lr10* ze względu na konieczność stosowania podwójnej amplifikacji. Warunki Multiplex PCR dla genów *Lr26* i *Lr37* opracowały i zoptymalizowały Sumíková i Hanzalová [2010].

Froidmont [1998] podjął się natomiast jednoczesnej identyfikacji pszenno-żytniej translokacji 1BL/1RS niosącej gen *Yr9* nadający odporność na rdzę żółtą, gen *Sr31* nadający odporność na rdzę żdźbłową, gen *Lr26* nadający odporność na rdzę brunatną oraz gen *Pm8* nadający odporność na mączniaka prawdziwego.

## WNIOSKI

1. Na podstawie uzyskanych wyników badań stwierdzono obecność genu *Lr10* w dziewięciu testowanych odmianach pszenicy zwyczajnej, co świadczy o powszechnym wykorzystaniu tego genu w europejskich programach hodowlanych pszenicy zwyczajnej.

2. Odmiana Angelina, w której zidentyfikowano zarówno gen *Lr10*, jak i *Lr19*, może być bardzo dobrym donorem genów odporności na rdzę brunatną w programach hodowlanych pszenicy oraz pszenżyta.

3. Opracowano warunki Multiplex PCR umożliwiające identyfikację genów *Lr9* i *Lr19*, co pozwoli na ograniczenie kosztów analiz.

#### PIŚMIENNICTWO

- Błaszczyk L., Chełkowski J., 2010. Geny odporności na patogeny w genomie pszenicy. *Hod. Roś. Nasienn.* 3, 15–22.
- Cherukuri D.P., Gupta S.K., Charpe A., Koul S., Prabhu K.V., Singh R.B., Hag Q.M., Chauhan S.V.S., 2003. Identification of a molecular marker linked to an *Agropyrum elongatum* – derived gene *Lr19* for leaf rust resistance in wheat. *Plant Breed.* 122, 204–208.
- Froidmont D., 1998. A co-dominant marker for the 1BL/1RS wheat-rye translocation via multiplex PCR. *J. Cereal. Sci.* 27 (3), 229–232.
- Gupta S.K., Chape A., Koul S., Prabhu K.V., Hag Q.M.R., 2005. Development and validation of molecular markers linked to an *Aegilops umbellulata* – derived leaf-rust-resistance gene, *Lr9*, for marker – assisted selection in bread wheat. *Genome* 48, 823–830.
- Gupta S.K., Charpe A., Prabhu K.V., Haque Q.M.R., 2006. Identification and validation of molecular markers linked to the leaf rust resistance gene *Lr19* in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 113, 1027–1036.
- Hanzalová A., Sumíková T., Bartoš P., 2009. Determination of Leaf Rust Resistance Gene *Lr10*, *Lr26* and *Lr37* by Molecular Markers in Wheat Cultivars Registered in Czech Republic. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 45 (2), 79–84.
- Kolmer J.A., Jin Y., Long D.L., 2007. Wheat leaf rust in the United States. *Austr. J. Agric. Res.* 58, 631–638.
- Kowalczyk K., Okoń S., Leśniowska-Nowak J., Nowak M., 2009. Wykorzystanie genów odporności na rdzę brunatną *Lr19*, *Lr21* i *Lr35* w programach hodowlanych pszenicy zwyczajnej w Polsce. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 542, 255–260.
- Kowalczyk K., Okoń S., Nowak M., Leśniowska-Nowak J., 2012. Using of DNA markers for selection of common wheat in Polish breeding programs. *EWAC Newsletter, Proc. of the 15th Int. Conf. Novi Sad, Serbia* 59–62.
- Li X., Yang W., Li Y., Liu D., Yan H., Meng Q., Zhang T., 2006. A SSR marker for leaf rust resistance gene *Lr19* in wheat. *Agric. Sci. China* 5, 111–115.
- Li X., Yang W., Li Y., Liu D., Yan H., Meng Q., Zhang T., 2007. Identification of AFLP markers linked to *Lr19* resistance to wheat leaf rust. *Agric. Sci. China* 6, 311–315.
- Lind V., Gultyaeva E., 2007. Virulence frequencies of *Puccinia triticina* in Germany and the european regions of Russian Federation. *J. Phytopathol.* 155, 13–21.
- Okoń S., Matysik P., Nita Z., Bichoński A., Rubrycki A., Woźniak-Pawlak U., Kowalczyk K., 2012. Identyfikacja genu *Lr 19* odporności na rdzę brunatną w polskich liniach pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L.). *Annales UMCS, Sec. E., Agricultura* 67 (3), 39–43.
- Prins R., Groenewald J.Z., Marais G.F., Snape J. W., Koebner R.M.D., 2001. AFLP and STS tagging of *Lr19*, a gene conferring resistance to leaf rust in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 103, 618–624.
- Schachermayr G., Feuillet C., Keller B., 1997. Molecular markers for the detection of the wheat leaf rust resistance gene *Lr10* in diverse genetic backgrounds. *Mol. Breed.* 3, 65–74.
- Schachermayr G., Siedlec H., Gale M. D., Winzler H., Winzler M., Keller G., 1994. Identification and localization of molecular markers linked to the *Lr9* leaf rust resistance gene of wheat. *Theor. Appl. Genet.* 88, 110–115.



- Stępień Ł., Golka L., Chełkowski J., 2003. Leaf rust resistance genes of wheat: identification in cultivars and resistance sources. *J. Appl. Genet.* 44 (2), 139–149.
- Sumřková T., Hanzalová A., 2010. Multiplex PCR Assay to Detect Rust Resistance Genes *Lr26* and *Lr37* in Wheat. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 46 (2), 85–89.
- Woźniak-Strzembicka A., 1997. Rdza brunatna pszenicy – genetyczne podstawy odporności. *Biul. IHAR* 204, 245–251.

**Summary.** Leaf rust caused by fungus *Puccinia triticina*, is considered to be one of the most significant diseases of bread wheat. The most efficient way of this pathogen limitation is breeding and cultivation of resistant cultivars with genetically introduced resistance. The aim of the study was identification of *Lr9*, *Lr10* and *Lr19* genes in European wheat cultivars and development of Multiplex PCR conditions for *Lr9* and *Lr19* genes identification. Development of this kind of reaction enables to reduce the cost and time of the analysis.

**Key words:** triticale, dwarfing genes, lodging, yield components