

Захист і карантин рослин 2013. Вип. 59.  
УДК 575+577.1 : 633.1

**А.В. КАРЕЛОВ**, науковий співробітник  
**Н.О. КОЗУБ**, кандидат біологічних наук  
**І.О. СОЗІНОВ**, старший науковий співробітник  
**О.О. СОЗІНОВ**, доктор сільськогосподарських наук, провідний науковий співробітник, академік НААН і НАН України, професор  
Інститут захисту рослин НААН

**С.П. ЛІКАР**, науковий співробітник  
Український інститут експертизи сортів

**Я.Б. БЛЮМ**, доктор біологічних наук, директор,  
академік НАН України, професор  
ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАНУ»

## **ХАРАКТЕРИСТИКА УКРАЇНСЬКИХ СОРТІВ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ (*TRITICUM AESTIVUM* L.) ЗА ДОПОМОГОЮ НОВІТНІХ МОЛЕКУЛЯРНИХ МАРКЕРІВ ГЕНІВ ПОМІРНОЇ СТІЙКОСТІ ПРОТИ ІРЖАСТИХ ГРИБІВ**

---

*Досліджено 41 сорт озимої м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.) української селекції за допомогою молекулярних маркерів алельного стану гена *Lr34*, асоційованого з помірно расонеспецифічною стійкістю проти бурї, жовтої та стеблової іржі, толерантністю до борошнистої роси та вірусу карликовості ячменю та гена *Sr2*, асоційованого з помірною стійкістю проти всіх рас стеблової іржі, расоспецифічною «коекспресованою» стійкістю проти листкової іржі та толерантністю щодо борошнистої роси. Серед досліджених сортів для жодного не визначили т.з. алель «Норе» маркера, пов'язаний із присутністю стійкості за *Sr2*-типом у 100% випадків, натомість для 73% сортів визначили алель «Marquis», пов'язаний зі стійкістю в 5% випадків. Для *Lr34* було оптимізовано умови мультиплексної ПЛР з праймерами, що фланкують алель-специфічні маркери і визначено алель, асоційований зі стійкістю, у зразках ДНК із 61% сортів.*

**алель, молекулярний маркер, помірна стійкість, бура іржа,  
стеблова іржа, пшениця**

Грибні фітопатогени є збудниками небезпечних хвороб пшениці, що мають здатність переноситись на великі відстані з повітряними по-

токами й виживати у несприятливих умовах у вигляді спор та є причиною щорічних втрат врожаю близько 14% [1]. Серед них іржасті гриби є достатньо поширеними й небезпечними. Так бура іржа, спричинена видом грибів *Puccinia triticina* Erikss., може бути причиною втрат врожаю за різних кліматичних умов до 18% [2] або навіть більше 30% [3]. Збудником стеблової іржі пшениці є гриб виду *Puccinia graminis* Pers., що, з огляду на появу нових шкідливих рас Ug99 (TTKS та TTKST), може бути причиною втрат понад 50% а в деяких випадках — до 100% врожаю [4, 5].

Селекція і створення нових сортів, що характеризуються ефективною і довготривалою стійкістю до хвороб, спричинених іржастими грибами, є першочерговим завданням в області дослідження і селекції пшениці. Більшість генів, що надають расоспецифічну резистентність (R гени), зберігають ефективність лише протягом кількох років після чого з'являються нові раси тих самих видів, проти яких ці гени не діють [5-7]. На відміну від них, гени що забезпечують «дорослу» (adult plant resistance, APR) неспецифічну, часткову резистентність до грибних патогенів, зберігають ефективність протягом досить тривалого часу [8-10]. До них належить ген *Lr34* [11]. Вперше стійкість, зумовлену цим геном, описано в Канаді [12], було визначено його локалізацію на короткому плечі хромосоми 7D [13]. Крім того виявлено, що ген *Lr34* є генетично невіддільним від гена дорослої резистентності (APR) *Yr18*, що надає помірну резистентність до смугастої або жовтої іржі (*P. striiformis* Westend. f. sp. *tritici*) [14, 15]. Також була виявлена коасоціація цього гена із геном стійкості проти борошністої роси (*Blumeria graminis* (DC.) E.O. Speer f. sp. *tritici*) *Pm38* [16]. Локус також асоціюється зі стійкістю проти вірусу жовтої карликовості ячменю *Bdv1* [17]. Нещодавно також було доведено, що із відповідним алельним станом локусу асоціюється помірна стійкість щодо стеблової іржі, в зв'язку з чим ген отримав додаткове позначення як *Sr57* [18, 19]. Ген *Sr2* було перенесено в пшеницю від сорту полби-двозернянки Ярослав у 20-х роках XX сторіччя, в результаті чого отримали сорт Норе [20]. Цей ген локалізували на короткому плечі хромосоми 3В [21]. Окрім помірної «дорослої» стійкості проти всіх рас стеблової іржі, включаючи раси Ug99, даний ген асоціюють із расоспецифічною ювенільною стійкістю проти бурої іржі у коекспресії з геном *Lr31*, у зв'язку з чим його також позначають як *Lr27*. Також ген забезпечує толерантність проти борошністої роси та коасоціює з фенотиповою ознакою характерного почорніння соломини [21, 22].

Локус *Lr34* кодує (PDR)-подібний АТФ-зв'язуючий контейнерний (ABC)-транспортер, локалізований на клітинній мембрані, що забезпечує характерний тип резистентності. Нуклеотидна послідовність *Lr34* має довжину 11,805 п.н. і містить 24 екзони [8, 23]. На основі

отриманого сиквенсу було визначено кілька алельних станів гена, серед яких лише один забезпечує асоційовану з ним стійкість [24, 25]. Крім цього показано, що в експресії стійкості бере участь також експресована ділянка між ABC-транспортером та цитохромом P450 [25]. Для майже всіх асоційованих зі стійкістю/чутливістю генотипів локусу *Lr34* характерним є одонуклеотидний поліморфізм у 12 екзоні, який визначається за домінантним маркером *caSNP12*. Поліморфізм у експресованій ділянці між ABC-транспортером та цитохромом P450 визначається за кодомінантним маркером *caISBP1* [25]. Локус *Sr2* було локалізовано між відповідними маркерами секвенованої послідовності сорту Chinese Spring й було визначено ряд маркерів, які косягують з даним локусом [22]. Також було створено ВАС-клон ділянки, характерної для сорту Норе, на основі якого розроблено CAPS-маркер стійкості за *Sr2*-типом *csSr2* [26].

**Метою було дослідити** існуючі сорти пшениці за допомогою генспецифічних молекулярних маркерів, асоційованих із генами *Lr34* та *Sr2* і оптимізувати умови ПЛР для кодомінантного маркера на основі поліморфізму в 12 екзоні локусу *Lr34* та інсерції-делеції між ним та геном цитохрому P450.

**Методика досліджень.** Дослідили 21 сорт озимої м'якої пшениці, що створені в Селекційно-генетичному інституті — Національному центрі насіннезнавства та сортовивчення (далі СГІ) та 20 сортів, створених у Миронівському інституті пшениці ім. В.М. Ремесла НААН України (далі — МІП) спільно з Інститутом фізіології рослин і генетики Національної академії наук України (далі — ІФРiГ), повний перелік сортів наведено у таблиці 2. У якості контролів для алельних станів локусу *Lr34* використовували сорти Thatcher +*Lr34* (RL6058) (+ контроль) та Thatcher (– контроль), у якості контролів для локусу *Sr2* — сорти Selkirk, Marquis та Chinese Spring. Виділяли ДНК із наважок рослинного матеріалу масою 25–40 мг, отриманого шляхом подрібнення у керамічних ступках до стану однорідного порошку п'яти зернин та подальшого відбору й зважування. Виділяли ДНК за допомогою наборів Diatom™ DNA Prep100 (дистриб'ютор в Україні — фірма NEOGENE®) за стандартною методикою з певними модифікаціями. ПЛР проводили на ампліфікаторі 2720 GeneAMP System за допомогою наборів GenPak® PCR Core (дистриб'ютор в Україні — фірма NEOGENE®) за методикою виробника. Послідовності праймерів та основна інформація наведені в таблиці 1.

В результаті ПЛР із сумішню праймерів, що фланкують маркери *caISBP1* та *caSNP12*, стійкому алельному стану маркерів (далі — *Lr34+*) відповідали амплікони завдовжки 509 п.н. та 234 п.н., чутливому — амплікони завдовжки 391 п.н. (далі — *Lr34-*) [25]. В результаті ПЛР із сумішню праймерів, що фланкують маркер *csSr2*, у випадку

1. Основні дані щодо праймерів та умов ПЛР  
(послідовності праймерів за [25] та [26])

Назва маркера	Назва праймера	Послідовність праймера	Кінцева концентрація, пМ	Температура відпаду, °С
<i>caISBP1</i>	caISBP1F1	5'-CATATCGAGCTTGCCAAACG-3'	0,3	62
	caISBP1F2	5'-TCAGCCACACAATGTTCCAT-3'	0,5	
	caISBP1R	5'-CGTGAGCACAGAGAAAACCA-3'	0,3	
<i>caSNP12</i>	caSNP12F	5'-TCCCCAGTTTAACCATCCTG-3'	0,2	
	caSNP12R	5'-CATTCAGTCACCTCGCAGC-3'	0,2	
<i>csSr2</i>	csSr2F	5'-CAAGGGTTGCTAGGATTGGAAAAC-3'	0,3	60
	csSr2R	5'-AGATAACTCTATGATCTTACATTTTCTG-3'	0,5	

алелів “Норе” і “Marquis” утворюються амплікони завдовжки 337 п.н., у випадку алелю “null” амплікони не утворюються. В результаті подальшої рестрикції фрагментів рестриктазою *BspHI* / *CciI* алелю “Marquis” відповідають фрагменти завдовжки 225 та 112 п.н., алелю “Норе” — завдовжки 172, 112 та 53 п.н. [26].

Результати ПЛР візуалізували шляхом електрофорезу на 2% агарозному гелі із додаванням в якості барвника бромистого етидію із подальшим використанням системи для гель-документації VISION Gel.

**Результати досліджень.** Проаналізовані сорти умовно розділили на групи, залежно від походження та алельного стану кожного з маркерів (табл. 2).

Як видно з таблиці, більшість із досліджених сортів української селекції несуть алель гена *Lr34+*. Це, разом з гетерогенними, 25 сортів із 41 проаналізованого, або 61%. Більша частина з них, а саме 10 гомогенних (із лише алелем *Lr34+*) та 8 гетерогенних, припадають на сорти, створені в СГІ, тоді як для сортів лісостепової зони це 5 гомогенних і 2 гетерогенних. Загальна кількість українських сортів, що несуть алель “Marquis” маркера *csSr2* становить 30, або 73% з усіх проаналізованих. Однак у двох групах кількість сортів, що несуть цей алель, приблизно однакова й становить 16 для створених у СГІ й 14 — для створених у МІП спільно з ІФРІГ. Отримані нами результати цілком передбачувані й корелюють із отриманими раніше з використанням іншого молекулярно-генетичного маркера, асоційованого із локусом *Lr34*, згідно яких кількість сортів, що несуть алель гена *Lr34+*, більша серед сортів

2. Результати ПЛР із праймерами, що фланкують молекулярні маркери, асоційовані зі стійкістю за Lr34 та Sr2 типом

Установа-оригінатор	Сорти	Кількість сортів	Алель маркера <i>csSr2</i>	Алель маркерів <i>caISBP1+caSNP12</i>
СГІ	Заможність, Запорука, Косовиця, Красуня, Ластівка, Скарбниця, Юнат одеський	7	“Marquis”	Lr34+
	Селена, Струмок	2	“Marquis”	Lr34-
	Знахідка, Іллічівка, Одеська 265, Писанка, Прима, Промінь, Фантазія	7	“Marquis”	п/м <sup>1</sup>
	Вікторія, Небокрай, Ольвія	3	“null”	Lr34+
	Одеська 51	1	“null”	Lr34-
	Гурт	1	“null”	п/м <sup>1</sup>
МІП + ІФРІГ	Вдячна, Крижинка, Святкова	3	“Marquis”	Lr34+
	Волошкова, Легенда Миронівщини, Миронівська 61, Миронівська 66, Миронівська сторічна, Монотип, Паляниця, Переяславка, Сміла, Ювіляр миронівський	10	“Marquis”	Lr34-
	Економка	1	“Marquis”	п/м <sup>1</sup>
	Володарка, Пам'яті Ремесла	2	“null”	Lr34+
	Достаток, Ласуня, Мадярка, Мирлена, Пивна, Сонечко, Фаворитка	3	“null”	Lr34-
	Миронівська 65	1	“null”	п/м <sup>1</sup>

<sup>1</sup> — позначено гетерогенні сорти, тобто такі, в яких утворились амплікони, що відповідають обом алельним станам

селекції СГІ [27]. Таку закономірність можна пояснити тим, що при створенні сортів у СГІ широко використовували сорт Безоста 1, який, згідно з нашими дослідженнями, несе також алель Lr34+ [27]. Разом з тим, стійкість за Lr34-типом є помірною, що передбачає відсутність видимих її проявів на високих інфекційних фонах чи за умов епіфітотії, тому важливою складовою на нашу думку є також особливість селекційного процесу сортів селекції СГІ. Ми не знайшли жодного сорту української селекції із алелем “Норе” маркера *csSr2*, однак згідно з даними авторів маркера, деяким сортам із алелем “Marquis” також може бути властива така стійкість [26]. На користь наявності стійкості за Sr2-типом серед сортів української селекції свідчить також наявність

серед родоходів багатьох сортів, що несли алель “Marquis”, попередників, відомих як носіїв алеля “Норе” маркера *csSr2*.

Також нами оптимізовані умови проведення мультиплексної ПЛР з використанням пар праймерів із різною температурою відпалу (маркери *caISBP1* та *caSNP12*). Для пари праймерів, що фланкують маркер *caSNP12*, характерна температура відпалу 65°C і таку температуру пропонують використовувати автори [26]. Однак у випадку залучення в реакцію праймерів для визначення алельного стану кодомінантного маркера *caISBP1* у концентрації, рівній такій для *caSNP12F* та *caSNP12R*, спостерігали наявність ампліконів, характерних для обох алельних станів маркера одночасно. У випадку зниження температури до 60°C й використання всіх праймерів у рівних концентраціях спостерігали появу ампліконів завдовжки 234 п.н., характерних для алельного стану маркера, пов'язаного зі стійкістю, також у випадках ПЛР із ДНК, виділеною із сорту Thatcher. Отже експериментальним шляхом нами були визначені оптимальні концентрації кожного з праймерів та температура відпалу (див. табл. 1), за яких результат ПЛР із зразками ДНК, виділеної описаним методом, та набором для ПЛР GenPak® PCR Core є однозначним. Крім наведених у таблиці, ми пропонуємо: вибрати температуру денатурації в кожному циклі до 95°C; час денатурації встановити рівним 40 с для більшої специфічності реакції; час елонгації при 72°C встановити рівним 45 с. Кількість циклів — не більше 32.

## ВИСНОВКИ

Дослідили 41 сорт озимої м'якої пшениці української селекції за допомогою ПЛР та молекулярно-генетичних маркерів генів, асоційованих із помірною стійкістю до важливих грибних захворювань. Для значної частки сортів визначили алелі маркерів, пов'язані зі стійкістю. Вибрали та оптимізували умови мультиплексної ПЛР для комбінації маркерів, які найбільш точно вказують на наявність стійкості за Lr34-типом. Деякі із сортів, для яких був знайдений алель “Marquis” маркера *csSr2*, також можуть бути джерелом стійкості за Sr2-типом, на що може вказувати характерне почорніння соломини в польових умовах.

## БІБЛІОГРАФІЧНИЙ СПИСОК

1. *Agrios G.N.* Plant Pathology. (5th Ed) / G.N. Agrios // San Diego: Elsevier Academic Press, 2005. 978 p.
2. *Samborski D.J.* Wheat leaf rust / D.J. Samborski // The Cereal Rusts Vol. 2, A. P. Roelfs and W. R. Bushnell, eds. Academic Press, Orlando, FL, 1985. — P. 39—59.
3. *Nagarajan S.* Epidemiology of *Puccinia triticina* in Gangetic plain and planned containment of crop losses / S. Nagarajan, M. S. Saharan // Developments in Plant Breeding. — 2007. — Vol. 12. — P. 71—76.

4. *Singh R.P.* The wheat rusts / R.P. Singh, J. Huerta-Espino, A.P. Roelfs // FAO Plant Production and Protection Series. — <http://www.fao.org/docrep/006/y4011e/y4011e0g.htm>. — 2002.

5. *Detection* of virulence to resistance gene Sr24 within race TTKS of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. / Y. Jin, Z.A. Pretorius, R.P. Singh, [et al.] // Plant Dis. — 2008. — Vol. 92. — P. 923–926.

6. *Detection* of virulence to wheat stem rust resistance gene *Sr31* in *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in Uganda. / Z. A. Pretorius, R.P. Singh, W.W. Wagoire, [et al.] // Plant Dis. — 2000. — Vol. 84. — P. 203.

7. *Postulated* resistance gene in cultivars and lines with alien genes to leaf rust wheat / T.M. Kolomiets, E.D. Kovalenko, A.I. Zhemchuzhina, et al. // Cereal Rusts and Powdery Mildews Bulletin [[www.crpmb.org/](http://www.crpmb.org/)] 2004/1029kolomiets.

8. *How* has *Lr34/Yr18* conferred effective rust resistance in wheat for so long? / B. Keller, E.S. Lagudah, L.L. Selter, et al. // BGRI Blog, Электронный ресурс [[http://www.globalrust.org/db/attachments/bgriworkshop/13/1/keller\\_web.pdf](http://www.globalrust.org/db/attachments/bgriworkshop/13/1/keller_web.pdf)].

9. *Global* incidence of wheat rusts and powdery mildew during 1969–2010 and durability of resistance of winter wheat variety Bezostaya 1. // A. Morgounov, H.A. Tufan, R. Sharma [et al.] // Eur. J. Plant Path. — 2012. — Vol. 132. — P. 323–340.

10. *Lagudah E.S.* Molecular genetics of race non-specific rust resistance in wheat / E.S. Lagudah // Euphytica. — 2011. — Vol. 179. — P. 81–91.

11. *McIntosh R.A.* Wheat rusts: an atlas of resistance genes / R.A. McIntosh, C.R. Wellings, R.F. Park // CSIRO, Australia. — 1995.

12. *Dyck P.L.* Genetics of leaf rust reaction in three introductions of common wheat / P.L. Dyck // Can. J. Genet. Cytol. — 1977. — Vol. 19. — P. 711–716.

13. *Dyck P.L.* The association of a gene for leaf rust resistance with the chromosome 7D suppressor of stem rust resistance in common wheat / P.L. Dyck // Genome. — 1987. — Vol. 29. — P. 467–469.

14. *Singh R.P.* Genetic association of leaf rust resistance gene *Lr34* with adult plant resistance to stripe rust in bread wheat / R.P. Singh // Phytopathology. — 1992. — Vol. 82. — P. 835–838.

15. *McIntosh R.A.* Close genetic linkage of genes conferring adult-plant resistance to leaf rust and stripe rust in wheat / R.A. McIntosh // Plant Pathol. — 1992. — Vol. 41. — P. 523–527.

16. *Dyck P.L.* Inheritance of leaf rust and stem rust resistance in ‘Roblin’ wheat / P.L. Dyck // Genome. — 1993 — 36. — P. 289–293.

17. *Singh R.P.* Genetic association of gene *Bdv1* for tolerance to barley yellow dwarf virus with genes *Lr34* and *Yr18* for adult plant resistance to rusts in bread wheat / R.P. Singh // Plant Dis. — 1993. — Vol. 77. — P. 1103–1106.

18. Kolmer J.A. Expression of a Thatcher wheat adult plant stem rust resistance QTL on chromosome arm 2BL is enhanced by *Lr34* / J.A. Kolmer, D.F. Garvin, Y. Jin // Crop Sci. — 2011. — Vol. 51. — P. 526.

19. Catalogue of gene symbols for wheat: 2012 supplement. / R.A. McIntosh, J. Dubcovsky, W.J. Rogers, [et al.] // Annual Wheat Newsletter 57. — 2012. — P. 303—321. (<http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/awn/57/TEXTFILES/WGC.pdf>).

20. McFadden E.S. A successful transfer of emmer characters to vulgare wheat / E.S. McFadden // Journal of the American Society of Agronomy. — 1930. — Vol. 22. — P. 1020—1034.

21. Hare R.A. Genetic and cytogenetic studies of durable adult-plant resistances in 'Hope' and related cultivars to wheat rusts / R.A. Hare, R.A. McIntosh // Z Pflanzenzuchtg. — 1979. — Vol. 83. — P. 350—367.

22. A multiple resistance locus on chromosome arm 3BS in wheat confers resistance to stem rust (*Sr2*), leaf rust (*Lr27*) and powdery mildew / R. Mago, L. Tabe, R.A. McIntosh, [et al.] // Theor. Appl. Genet. — 2011. — Vol. 123. — P. 615—623.

23. A putative ABC transporter confers durable resistance to multiple fungal pathogens in wheat / S.G. Krattinger, E.S. Lagudah, W. Spielmeier, [et al.] // Science — 2009. — Vol. 323. — P. 1360—1363.

24. Gene-specific markers for the wheat gene *Lr34/Yr18/Pm38* which confers resistance to multiple fungal pathogens / E.S. Lagudah, S.G. Krattinger, S. Herrera-Foessel, [et al.] // Theoretical and Applied Genetics. — 2009. — Vol. 119, N 5. — P. 889—898

25. Fine-mapping of the leaf rust *Lr34* locus in *Triticum aestivum* (L.) and characterization of large germplasm collections support the ABC transporter as essential for gene function / A. Dakouri, B.D. McCallum, A.Z. Walichnowski, [et al.] // Theor. Appl. Genet. — 2010. — Vol. 121. P. 373—384.

26. An accurate DNA marker assay for stem rust resistance gene *Sr2* in wheat / R. Mago, G. Brown-Guedira, S. Dreisigacker, [et al.] // Theor. Appl. Genet. — 2011. — Vol. 122. — P. 735—744.

27. Идентификация аллельного состояния гена устойчивости к бурой ржавчине *Lr34* у сортов озимой мягкой пшеницы украинской селекции / А.В. Карелов, Я.В. Пирко, Н.А. Козуб, [и др.] // Цитология и генетика. — 2011. — Т. 45, №5. — С. 3—10.

**Карелов А.В., Козуб Н.А., Созинов И.А.,  
Созинов А.А., Ликар С.П., Блюм Я.Б. Характеристика украинских  
сортов озимой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) при помощи  
новых молекулярных маркеров генов умеренной устойчивости против  
ржавчинных грибов**

*Исследовали 41 сорт озимой мягкой пшеницы (Triticum aestivum L.) украинской селекции при помощи молекулярных маркеров аллельного со-*



стояния гена *Lr34*, ассоциированного с умеренной расонеспецифической устойчивостью к бурой, жёлтой и стеблевой ржавчине, толерантностью к мучнистой росе и вирусу карликовости ячменя и гена *Sr2*, ассоциированного с умеренной устойчивостью ко всем расам стеблевой ржавчины, расоспецифической «коэкспрессируемой» устойчивостью к бурой ржавчине и толерантностью к мучнистой росе. Среди исследованных образцов сортов ни для одного не определили т.н. аллель “Hope” маркера, связанную с устойчивостью по *Sr2*-типу в 100% случаев, однако у 73% сортов определили аллель “Marquis”, связанный с устойчивостью в 5% случаев. Для *Lr34* были оптимизированы условия проведения мультиплексной ПЦР с праймерами, фланкирующими аллель-специфические маркеры и определен аллель, связанный с устойчивостью, в образцах ДНК из 61% сортов.

**Karelov A.V., Kozub N.O., Sozinov I.O., Sozinov O.O., Likar S.P., Blume Ya.B. Characteristics of Ukrainian cultivars of common wheat (*Triticum aestivum* L.) using the newest molecular markers of moderate resistance against rust fungi**

*Forty one common wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars of Ukrainian breeding were studied using molecular markers for the allelic state of the *Lr34* gene associated with moderate non-race-specific resistance against leaf, yellow and stem rusts, tolerance against powdery mildew and barley yellow dwarf virus and for the *Sr2* gene associated with moderate resistance against all races of stem rust, race-specific “co-expressing” resistance against leaf rust and powdery mildew tolerance. We detected no “Hope” allele of the marker related to the *Sr2*-type resistance in 100% of cases, but for 73% of the cultivars the “Marquis” allele related to the resistance in 5% of cases was detected. Conditions for multiplex PCR with primers flanking allele-specific markers were optimized and the resistance-related allele for the DNA samples from 61% of cultivars was detected in the case of the *Lr34* gene.*