


АГРОНОМІЯ

УДК 57.085.2:57.082.13:634.71

**Використання ДНК-маркерів
у дослідженнях малини (*Rubus L.*): огляд**Димань Н.О. , Карпук Л.М. 

Білоцерківський національний аграрний університет

 Димань Н.О. nathalie.dyman@gmail.com; Карпук Л.М. lesya_karpuk@ukr.netДимань Н.О., Карпук Л.М. Використання ДНК-маркерів у дослідженнях малини (*Rubus L.*): огляд. «Агробіологія», 2023. № 2. С. 67–77.Dyman N., Karpuk L. The use of DNA markers in raspberry (*Rubus L.*) research: a review. «Agrobiologia», 2023. no. 2, pp. 67–77.Рукопис отримано: 24.10.2023 р.
Прийнято: 08.11.2023 р.
Затверджено до друку: 23.11.2023 р.

doi: 10.33245/2310-9270-2023-183-2-67-77

Малина (*Rubus L.*) належить до найпоширеніших ягідних культур у садівництві, є цінним харчовим продуктом для людини й сировиною для переробних підприємств харчової промисловості. Сортимент малини в Україні налічує понад 30 сортів. Сучасні селекційно-генетичні програми спрямовано на розширення генетичного різноманіття і створення нових сортів малини. Як у фундаментальних, так і прикладних дослідженнях представників роду *Rubus* дедалі ширше використовують молекулярно-генетичні методи. В статті представлено огляд основних типів застосовуваних молекулярних маркерів для вивчення генетичного поліморфізму видів роду *Rubus*.

Зі всього різноманіття наявних ДНК-маркерів найбільш результативними стосовно вирішення проблем, пов'язаних з генотипами, оцінюванням поліморфізму популяцій, генетичним картуванням, філогенетичними дослідженнями малини, виявились такі молекулярні методи аналізу як RAPD, RFLP, AFLP, ISSR, SSR та SNPs. Їх високу ефективність пов'язують з підвищеною роздільною здатністю, відтворюваністю, високою інформативністю, можливістю автоматизації аналізу, швидкістю, простотою та доступністю. Зазначені маркери є зручним інструментом для геномної селекції й дослідження генетичного різноманіття не лише представників роду *Rubus*, а також усіх живих організмів. Стосовно ретротранспозонних маркерів, які становлять основну частину геному еукаріот, наукові праці про їх використання для дослідження представників роду *Rubus*, на відміну від інших культур, нечисленні. Значний прогрес у селекції малини пов'язаний з розвитком сучасних технологій секвенування.

Повногеномне секвенування (*WGS*) дає змогу одночасно генерувати велику кількість SNP-маркерів, які використовують для створення генетичних карт, ідентифікації генів стійкості до патогенів, картування господарсько корисних ознак та ін.

Ключові слова: *Rubus*, малина, ДНК-маркери, поліморфізм, селекція.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень. Малина (*Rubus L.*) належить до найпоширеніших ягідних культур у садівництві, її виробництво в Європі за останні 50 років зросло майже в чотири рази [17]. Ягода характеризується високим умістом харчових волокон (6,5 г/100 г сирової речовини), цінних нутрієнтів (вітаміну С, магнію, калію, кальцію, заліза тощо) [47], тому є цінним харчовим продуктом для людини і сировиною для переробних підприємств харчової промисловості.

Сучасний сортимент малини в Україні налічує понад 30 сортів [2], 10 з них занесено до Державного реєстру сортів України [1].

У селекційно-генетичних програмах, спрямованих на створення нового покоління сортів ягідних культур, вчені дедалі ширше використовують досягнення молекулярної генетики, біотехнології, геноміки. Класична селекція ягідних культур – це тривалий і витратний процес. Наприклад, тривалість виведення нового сорту малини може сягати 15 років [21].

Використання маркерної селекції може значно прискорити цей процес.

У 80-х роках минулого століття відбулося фундаментальне зрушення у виявленні та моніторингу генетичної мінливості в селекції рослин і генетичних дослідженнях, що пов'язано з відкриттям нових методів аналізу генетичного поліморфізму нуклеїнових кислот: електрофоретичних методів розділення макромолекул, гібридизації, секвенування (визначення первинної нуклеотидної послідовності), полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) та ін. Завдяки цьому став можливим аналіз генетичного поліморфізму на рівні генетичного матеріалу клітини (поліморфізм ДНК). Вивчення генів та їх функцій і практичне втілення наукових розробок у селекційний процес дало змогу молекулярно-біологічним методам швидко поширитися в різних напрямках досліджень живих організмів.

ДНК-маркери мають низку переваг над іншими типами маркерів (біохімічними, білковими). Вони дають змогу маркувати різні ділянки ДНК, зокрема некодувальні. Молекулярні маркери є корисним доповненням до морфологічних і фізіологічних характеристик сортів, оскільки уможливають їх ідентифікацію на ранніх стадіях розвитку рослин, відтак значно підвищують ефективність селекції. Матеріалом для такого маркування можуть слугувати різні тканини і органи незалежно від стадії онтогенезу [20, 46].

Застосування технологій ДНК-маркерного аналізу в роботі з генетичними ресурсами культурних рослин дає змогу значно розширити сферу досліджень – від оцінювання генетичного різноманіття і паспортизації сортів до захисту авторських прав селекціонерів та визначення генетичної чистоти селекційного матеріалу.

ДНК-маркери мають характеризуватися певними властивостями і відповідати низці вимог, зокрема мати високий рівень поліморфізму, кодомінантний прояв успадкування, оптимальну частоту в геномі, рівномірний розподіл за локалізацією в геномі, просте оцінювання параметрів маркера, високу відтворюваність, можливість автоматизації процесів оцінювання та обміну даними між лабораторіями тощо [13, 20, 55].

Для молекулярно-генетичного аналізу видів роду *Rubus* застосовують набір технологій. Серед найпоширеніших методів виявлення поліморфізму послідовностей ДНК виділяють наступні: аналіз поліморфізму довжин рестрикційних фрагментів ДНК (ПДРФ чи RFLP); аналіз поліморфізму за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (RAPD, ISSR, AFLP, SSR).

Найбільш ефективною є технологія з використанням «мікрочіпу» на основі одонуклеотидного поліморфізму SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) [26, 50].

Мета роботи – проаналізувати напрями використання ДНК-маркерів у вивченні генетичного поліморфізму видів роду *Rubus*.

RFLP (restriction fragment length polymorphism – поліморфізм довжин рестрикційних фрагментів, ПДРФ)

RFLP – один із перших методів молекулярного маркування, який базується на процесі розщеплення молекул ДНК, гомологічні ділянки яких різняться, за допомогою специфічних рестрикційних ферментів (ендонуклеаз рестрикції) [6]. ПДРФ-оцінювання можна проводити у різний спосіб, однак найбільш традиційним є метод з використанням блот-гібридизації. Він передбачає виділення ДНК, отримання фрагментів рестрикції, їх електрофоретичне розділення, перенесення на мембрани з подальшою гібридизацією специфічних ДНК-зондів з отриманими фрагментами клонованої ДНК. Гібридизація дає змогу визначати довжини фрагментів, комплементарних пробам. Кожен фрагмент розглядають як окремий алель і використовують у генетичному аналізі. Достатній рівень поліморфізму, кодомінантність, частота й рівномірний розподіл по геному, а також висока відтворюваність сприяли використанню цього методу для вирішення широкого кола проблем генетики [44].

У випадку з представниками роду *Rubus* RFLP-маркери почали застосовувати ще в 90-х роках минулого століття з метою вивчення між- та внутрішньовидового генетичного різноманіття. Як зонди використовували проби чужорідної ДНК. Зокрема, фрагменти ДНК фага M13 [39], проби мінісателітної ДНК гена міоглобіну людини [41], а також проби із бібліотек хлоропластної ДНК томатів [38] було успішно використано для визначення генотипів малини та ожини й аналізу їх родоводів. За використання зазначених зондів досліджували генетичне різноманіття популяцій *R. idaeus*, які росли на забруднених та екологічно чистих територіях [30]; вивчали соматоклональну мінливість сортів малини в культурі *in vitro* [27].

RAPD (random amplification of polymorphic DNA – випадково ампліфікована поліморфна ДНК)

RAPD-аналіз здійснюють за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з використанням одного декануклеотидного праймера з довільною нуклеотидною послідовністю [45]. RAPD – це полілокусна система, яка уможливає аналіз одразу значної частки

генотипу, що досить зручно у разі вивчення генетичної структури популяцій, встановлення спорідненості між таксонами, порівняння геномів різних груп організмів [18]. У генетиці рослин метод активно використовують, починаючи з 90-х років минулого століття, передусім для вивчення генетичного різноманіття маловивчених таксономічних груп. Для деяких видів рослин з його допомогою побудовано генетичні карти. Метод швидкий і простий для виконання, універсальний для різних видів й родів живих організмів, має порівняно низьку собівартість [53]. Водночас RAPD-технологія має низьку недоліків: внаслідок стохастичної природи ДНК-ампліфікації важливими є оптимізація й підтримання відповідних умов для отримання відтворюваних результатів; RAPD-маркери зазвичай ведуть себе як домінуючі і їх гетерозиготний та гомозиготний стани не різняться. Технологію використовують у популяційному аналізі й для ідентифікації генетичних ресурсів, однак точність оцінок порівняно з кодомінуючими маркерами знижена [3, 18, 53].

RAPD-маркери були серед перших ПЛР-маркерів, застосованих для малини, зокрема для визначення генотипів та уточнення родоводів селекційних сортів малини звичайної [23, 46], малини західної [51], дикорослих популяцій *R. idaeus* [24]. Корейськими дослідниками RAPD-аналіз було використано для уточнення походження місцевого сорту ожини КСВ (*Korean Cultivated Bramble* – ожина, культивована в Корей). Литовські вчені за допомогою маркерів RAPD-PCR дослідили генетичну структуру 19 популяцій *Rubus idaeus* із різних агрокліматичних зон країни. Всього було проаналізовано 315 зразків малини й підтверджено, що екологічні чинники мають значний вплив на генетичне різноманіття досліджених популяцій [42].

ISSR (inter simple sequence repeats – між-мікросателітні послідовності)

Поліпшення методу RAPD досягають за допомогою підвищення точності випалювання (подовження праймера) і зменшення його «випадковості» – анонімності. Один із таких підходів – використання ISSR-маркерів. У цьому методі, аналогічно RAPD-аналізу, використовують один чи декілька праймерів розміром 15–24 нуклеотиди. Праймери становлять собою тандемні короткі дво-чотирихнуклеотидні повтори, часто з додатковими «якірними» нуклеотидами (1–4) на 3'- чи 5'-кінці. Такі праймери дають змогу ампліфікувати фрагменти ДНК, які знаходяться між двома досить близько розташованими інвертованими мікро-

сателітами. В результаті ампліфікується досить велика кількість фрагментів, представлених на електрофореграмі дискретними смугами (ISSR-фінгерпрінтинг). Метод почав розвиватися в 1994 р. і набув поширення в дослідженнях генотипів різних видів рослин [55]. Аналогічно методам RAPD і AFLP, ISSR-маркери не потребують попереднього розшифрування нуклеотидної послідовності досліджуваної ДНК. Метод характеризується доброю відтворюваністю завдяки високій температурі випалювання й успішно використовується для виявлення міжвидової і внутрішньовидової генетичної мінливості, ідентифікації видів, популяцій, ліній, а іноді й для визначення генотипів окремих індивідуумів. ISSR-маркери використовують також для картування геномів і виявлення маркерів господарсько корисних ознак [20].

За використання 15 ISSR-праймерів було проведено аналіз зразків дикорослої малини *R. idaeus*, зібраних у 19 локальностях Чорноморського узбережжя Туреччини. Низка апробованих праймерів (ди- та тринуклеотидних) продемонстрували високий рівень поліморфізму ($PI > 0,3$), довівши свою перспективність для вивчення генетичної мінливості малини [13].

AFLP (amplified fragment length polymorphism – поліморфізм довжин ампліфікованих фрагментів)

Технологія AFLP базується на застосуванні рестрикційного аналізу геномної ДНК з подальшою ампліфікацією зі спеціально сконструйованими праймерами. Як матрицю для ампліфікації використовують фрагменти ДНК, що утворилися внаслідок рестрикції та були ліговані зі специфічними олігонуклеотидними адаптерами. Праймери складаються з фіксованої частини, що містить послідовність, комплементарну адаптеру, сайту рестрикції використаної ендонуклеази і короткого фрагмента (на 3'-кінці) з довільною послідовністю нуклеотидів (2–4 нуклеотиди) [5]. Здатність методу диференціювати індивідуальні відмінності в конкретній популяції обумовила його використання для визначення й уточнення філогенетичних взаємовідносин, генетичного картування та ін. [36].

За допомогою AFLP-маркерів було досліджено внутрішньовидову генетичну мінливість європейських видів *Rubus armeniacus Focke* та *R. bifrons Vest.* [31], генетичне різноманіття культурних і диких видів малини із регіону Центральних Анд Південної Америки – *R. glaucus Benth.*, *R. adenotrichos Schltdl.*, *R. bogotensis Kunth*, *R. robustus C. Presl.*, *R. rosifolius Sm.*, *R. urticifolius Poir.* [35]. Автори

зазначених досліджень дійшли висновку, що рівень поліморфізму рослин залежить передусім від типу їх розмноження (апоміксис чи статеве розмноження).

Турецькі вчені застосували AFLP-маркери для вивчення генетичного різноманіття дикорослих зразків малини *R. idaeus*, зібраних у різних регіонах Туреччини [15]. Японські дослідники їх використали для з'ясування філогенетичних взаємовідносин різних видів роду *Rubus* (як сортів, так і дикорослих популяцій), що ростуть на японських островах Хонсю, Кюсю та Хоккайдо. Автори відмітили високий рівень поліморфізму (95 %) зразків *R. idaeus* var. *aculeatissimus*, зібраних на о. Хоккайдо [37].

Маркери RAPD, ISSR, AFLP одночасно було використано в дослідженнях генетичного різноманіття сортів андської ожини та споріднених видів ягід в Еквадорі. Загалом у цьому дослідженні було проаналізовано 106 зразків рослин. Найбільш інформативними виявилися AFLP-маркери, які дали змогу зробити висновки про можливу інтрогресію диких видів *Rubus* у *R. glaucus* [19].

SSR (simple sequence repeats – прості повтворювані послідовності)

SSR – найпоширеніший тип ДНК-маркерних систем, використовуваний під час роботи з генетичними ресурсами рослин, зокрема представників роду *Rubus*. Їх застосовують для вивчення генетичної структури колекцій і видової специфічності, з'ясування ступеня генетичної спорідненості видів і сортів, ідентифікації та ДНК-паспортизації зразків.

Мікросателіти – клас диспергованих у геномі тандемних повторів, корові мотиви яких складаються з 2–6 нуклеотидів і можуть повторюватися 5–50 разів, наприклад (CA)₂₉, (CAC)₁₈ або (GACA)₃₂. Для цього типу генетичних маркерів відомо декілька тотожних назв: мікросателіти, STMS (*Sequence Tagged Microsatellite Site*), STR (*Short Tandem Repeat*) та SSR (*Simple Sequence Repeat*) [54]. Мікросателіти присутні як у кодувальних, так і некодувальних ділянках геному, а також у хлоропластному та мітохондріальному геномах [29]. Для ампліфікації SSR-маркерів підбирають унікальні послідовності ДНК, які обмежують кожний індивідуальний локус, що потребує попереднього секвенування. Поліморфізм зумовлений відмінностями за кількістю тандемних повторів, які розміщені між консервативними послідовностями кожного локусу. Високий рівень поліморфізму мікросателітів, відносно рівномірний їх розподіл в еухроматині та кододомінантний тип успадкування сприяли тому, що вони стали досить популярними молекулярно-генетичними маркерами.

Завдяки використанню праймерів завдовжки 18–25 п. н., тобто жорстким умовам проведення ПЛР, для SSR-маркерів характерна висока відтворюваність. Незважаючи на те що аналіз мікросателітів є монолокусною технікою, можливо одночасно ампліфікувати декілька SSR-локусів, якщо молекулярний розмір продуктів ПЛР достатньо різниться [28]. Це дає змогу значно зменшити вартість дослідження. SSR-алелі розділяють у поліакриламідному гелі в денатурувальних умовах та візуалізують нітратом срібла, авторадіографічно (якщо праймери містять радіоактивну мітку) або за допомогою флуоресцентних барвників. У останньому випадку можлива автоматизація аналізу.

Гіперваріабельні мікросателіти є універсальною системою генетичних маркерів для аналізу спадкових змін на рівні ядерної ДНК і широко використовуються в дослідженнях генетичного поліморфізму популяцій людини, рослин і тварин.

Незважаючи на високу популярність SSR-методу, він має певні недоліки. Нерівномірність швидкості мутацій різних мікросателітів ускладнює популяційно-генетичний аналіз. Спостерігаються також певні технічні проблеми, зокрема артефакти під час проведення ПЛР, складнощі в розробленні технологій для автоматичного скринінгу мікросателітних алелів [49].

Перші дослідження SSR-поліморфізму в представників роду *Rubus* було проведено наприкінці 90-х років минулого століття. Мікросателітні ділянки виявляли методом блотгібридизації за Саузерном, використовуючи як зонд дві синтетичні ДНК-проби з тандемно повторюваними послідовностями GACA та GATA [10].

Першу генетичну карту для червоної малини *R. idaeus* L. було розроблено у 2004 р. [21], для чорної малини *R. occidentalis* – у 2013 р. [7]. Найповніші генетичні карти для червоної малини було отримано за використання GBS (*genotyping-by-sequencing* – генотипування методом секвенування) для генерації SNP-маркерів, доповнених набором SSR в геномі [8, 50].

Сьогодні праймери для SSR-аналізу конструюють базуючись на інформації про ділянки, що фланкують мікросателітні повтори. Для цього проводять пошук повторів у відомих послідовностях чи сиквенсах, отриманих експериментально. Наприклад, за результатами секвенування бібліотек кДНК було розроблено набори SSR-маркерів для *R. idaeus* (сорт Херітейдж) та *R. occidentalis* (сорт Брістоль) – відповідно 131 та 288 пар праймерів [9].

Інший спосіб підбору мікросателітів – використання бібліотек, збагачених SSR-повторами, що не потребує інформації про аналізований геном. Геномну ДНК піддають впливу рестриктаз, після чого фрагменти рестрикції клонують у ВАС-векторах (*BAC* – *bacterial artificial chromosome* – штучна бактеріальна хромосома). Методом гібридизації з олігонуклеотидними пробами проводять скринінг отриманих бібліотек ВАС-клонів. Позитивні ВАС-клони, що містять відповідні мікросателітні ділянки, відбирають, секвенують і, базуючись на інформації про їх послідовності, розробляють SSR-праймери. У низці досліджень малини було застосовано саме такий підхід. Зокрема, методом секвенування клонів із бібліотек, збагачених послідовностями (AC)_n та (AG)_n, було виявлено SSR-ділянки й розроблено відповідні праймери. Їх було апробовано на вибірці із 50 генотипів, що включала сорти малини звичайної та малини західної, сорти ожини, зразки дикорослих видів *R. grabowski*, *R. deliciosus*, а також міжвидові гібриди. У результаті було відібрано десять найбільш інформативних пар праймерів, які уможлилювали отримання значної кількості (від 7 до 16) поліморфних продуктів [32].

У багатьох лабораторіях було створено набори SSR-маркерів для різних видів малини та ожини: *R. occidentalis* [14], *R. coreanus* [32], *R. glaucus* [34].

Сконструйовані набори SSR-маркерів широко використовують для вивчення генетичного різноманіття та генотипування селекційних сортів малини і ожини. Наприклад, було проведено кластерний аналіз 48 сортів малини і 48 сортів ожини за використання 13 пар SSR-праймерів, одну з яких було розроблено на основі послідовності із Генбанку NCBI (*National Center for Biotechnological Information* – Національний центр біотехнологічної інформації США), а решту – на базі геномних бібліотек сорту малини Мікер і сорту ожини Мерілон [11].

За допомогою зазначеного методу активно досліджують генетичне різноманіття дикорослих популяцій різних видів малини та ожини: *R. idaeus* [24], *R. mollucanus* L. [10], *R. crataegifolius*, *R. fruticosus* L., *R. coreanus* Miq. [32], аборигенних кенійських видів ожини [40].

У результаті дослідження поліморфізму дикорослих популяцій *R. occidentalis*, зібраних у 27 штатах США та двох провінціях Канади, було з'ясовано, що їх генетичне різноманіття нижче порівняно з культурними формами малини західної [14]. Тимчасом аналіз різноманіття дикорослих популяцій *R. idaeus* у

Шотландії, навпаки, виявив високий рівень генетичного різноманіття: 10 пар SSR-праймерів генерували 80 алелів у досліджених зразках 12 популяцій [24].

За допомогою SSR-маркерів оцінювали також генетичну стабільність кріорегенерантів малини та ожини. За використання 10 пар SSR-маркерів та 10 пар AFLP-праймерів дослідники порівнювали молекулярні спектри вихідних рослин, кріорегенерантів та *ex vitro* рослин. SSR-маркери не виявили відмінностей між аналізованими генотипами, тимчасом AFLP-маркери уможливили встановлення поліморфізму в кріорегенерантах [11].

SNP (*single-nucleotide polymorphism* – мононуклеотидний поліморфізм, поліморфізм за одним нуклеотидом)

Маркери цього типу дедалі більше використовують у дослідженнях геному – для вивчення алельного поліморфізму, тестування чистоти насіння, аналізу гаплотипу та родоводів, а також для генотипування та побудови генетичних карт. Метод базується на тому, що в організмах зміни в одному нуклеотиді призводять до точкових мутацій, зумовлюючи поліморфізм за одним нуклеотидом (діалельний тип маркерів). Для створення специфічних праймерів необхідно знати послідовності та фланкуючі ділянки. Відбувається автоматизоване високороздільне генотипування (високотехнологічне секвенування) з одночасним використанням великого масиву SNP-маркерів. Наявність багатьох тисяч проб на чипі уможлилює аналіз досить значної кількості SNPs. Однак відмінності алелів лише за одним нуклеотидом і велика кількість проб не дають змоги створити оптимальні умови гібридизації для всього масиву проб. У ряді випадків відбувається гібридизація аналізованої ДНК з невідповідними пробами. З огляду на це, оцінювання поліморфізму становить проблему [15, 25]. Метод робить генетичний аналіз максимально спеціалізованим, однак у зв'язку з дорожнечою його доступність обмежена.

У дослідженнях видів роду *Rubus* методи високотехнологічного секвенування також використовують. Наявні повногеномні сиквенси двох видів – *R. idaeus* [52] та близькоспорідненого *R. occidentalis* [48]. За допомогою технологій секвенування та генетичного аналізу виявлено високий рівень синтенії геномів *R. occidentalis* та суниці лісової *Fragaria vesca* L. [48]. SNP-маркери було використано також для реєстрації мутаційних змін, спричинених впливом гамма-променів, у 14 зразках ожини та гібридів *Boysenberry* [43].

Повногеномне секвенування (*WGS – whole genome sequencing*) дає змогу одночасно генерувати велику кількість SNP-маркерів, які використовують для створення генетичних карт [26, 50], ідентифікації генів стійкості до патогенів, наприклад до *Verticillium* [48], а також для картування господарсько корисних ознак [34].

Ретротранспозонні маркери

Методи RAPD, ISSR, AFLP та SSR слугували основою створення нових молекулярно-генетичних маркерів, які являють собою послідовності ретротранспозонів – мобільних генетичних елементів, широко представлених в геномах рослин. Вони становлять основну частину геному (до 50 %) еукаріот і виявляються у всіх хромосомах [20]. На основі RAPD за використання як праймерів коротких послідовностей ретротранспозонів розроблено метод IRAP (*Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism* – поліморфізм ампліфікованих ділянок між ретротранспозонами). ISSR став основою для методу REMAP (*Retrotransposon-Microsatellite Amplified Polymorphism* – поліморфізм ампліфікованих ділянок між ретротранспозонами та мікросателітами), в якому використовуються обидва варіанти праймерів – із ретротранспозона та мікросателіта. AFLP сприяв створенню більш спеціалізованого методу, оснований на використанні послідовностей ретротранспозонів – SSAP (*Sequence Specific Amplification Polymorphism*). І, нарешті, SSR, поліморфізм мікросателітних локусів, з використанням локус-специфічних праймерів до флангів мікросателітного повтору сприяв розвитку методу RBIP (*Retrotransposon-Based Insertion Polymorphisms*), в якому використовують праймери, що фланкують сайти ретротранспозиції [20].

Стосовно ягідних культур, у ГенБанку (*GenBank*) депоновано деякі послідовності транспозонів малини, зокрема ретротранспозон Cassandra (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/AY860317>). На відміну від інших культур, для представників роду *Rubus* наукові праці про використання ретротранспозонних маркерів нечисленні. Зокрема, Y. Liang з колегами [33], вивчаючи LTR-послідовності (*LTR, long terminal repeat* – довгі кінцеві повтори) у геномі черемхи, розробили 336 пар праймерів, частина з яких була спроможна ампліфікувати ДНК сортів малини та ожини – відповідно 8,6 і 6,5 %.

Висновки. Молекулярно-генетичні методи сьогодні широко використовують як у фундаментальних, так і прикладних дослідженнях представників роду *Rubus*. Зі всього різноманіття наявних ДНК-маркерів найбільш результативними стосовно вирішення про-

блем, пов'язаних з генотипами, оцінюванням поліморфізму популяцій, генетичним картуванням, філогенетичними дослідженнями малини, виявились такі молекулярні методи аналізу як RAPD, RFLP, AFLP, ISSR, SSR та SNPs. Їх високу ефективність пов'язують з підвищеною роздільною здатністю, відтворюваністю, високою інформативністю, можливістю автоматизації аналізу, швидкістю, простотою та доступністю. Зазначені маркери є зручним інструментом для геномної селекції й дослідження генетичного різноманіття не лише представників роду *Rubus*, а також усіх живих організмів. Значний прогрес у селекції малини пов'язаний з розвитком сучасних технологій секвенування.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні. Міністерство аграрної політики та продовольства України. URL: <https://minagro.gov.ua/ua/file-storage/reyestr-sortiv-roslin>.
2. Марковський В.С., Бахмат М.І. Ягідні культури в Україні. Кам'янець-Подільський: ПП «Медобори-2006», 2008. 200 с.
3. Молекулярні маркери для ідентифікації посухостійких генотипів пшениці в умовах змін клімату / С.В. Пикало та ін. Екологічні науки. 2020. 4(31). С. 193–202. DOI: 10.32846/2306-9716/2020.ес0.4-31.31
4. Поліщук І.М. Фітохімічне вивчення малини звичайної та створення на її основі нових лікарських засобів: дис. ... доктора філософії. 226 – Фармація, 22 – Охорона здоров'я. Харків, 2020. 256 с.
5. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting / P. Vos et al. *Nucleic Acids Res.* 1995. Vol. 23 (21). P. 4407–4414.
6. Botstein D., White R.L., Skolnick M., Davis R.W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics.* 1980. Vol. 32 (3). P. 314–331.
7. QTL involved in the modification of cyanidin compounds in black and red raspberry fruit / J.M. Bushakra et al. *Theoretical and Applied Genetics.* 2013. Vol. 126 (3). P. 847–865. DOI: 10.1007/s00122-012-2022-4.
8. Construction of black (*Rubus occidentalis*) and red (*R. idaeus*) raspberry linkage maps and their comparison to the genomes of strawberry, apple, and peach / J.M. Bushakra et al. *Theor. Appl. Genet.* 2012. Vol. 125(2). P. 311–327. DOI: 10.1007/s00122-012-1835-5.
9. Developing expressed sequence tag libraries and the discovery of simple sequence repeat markers for two species of raspberry (*Rubus* L.) *BMC Plant Biol* / J.M. Bushakra et al. 2015. Vol. 15. P. 258–269. DOI: 10.1007/s00122-015-2541-x.
10. Bussemeyer D.T., Pelikan S., Kennedy R.S., Rogstad S.H. Genetic diversity of Philippine *Rubus moluccanus* L. (*Rosaceae*) populations examined

- with VNTR DNA probes. *Trop. Biol.* 1997. Vol. 14. P. 867–884. DOI: 10.1017/S0266467400011044.
11. Castillo N.R.F., Bassil N.V., Wada S., Reed B.M. Genetic stability of cryopreserved shoot tips of *Rubus* germplasm. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 2010. Vol. 46(3). P. 246–256. DOI: 10.1007/s11627-009-9265-z.
12. Microsatellite markers for raspberry and blackberry / N.R.F. Castillo et al. *Am. Soc. Hortic. Sci.* 2010. Vol. 135. P. 271–278.
13. Cekic C., Calis O., Ozturk E.S. Genetic diversity of wild raspberry genotypes (*Rubus idaeus* L.) in North Anatolia based on ISSR markers. *Appl. Ecol. Environ. Res.* 2018. Vol. 16(5). P. 6835–6843. DOI: 10.15666/aecer/1605_68356843.
14. Dossett M., Bassil N., Finn C. SSR fingerprinting of black raspberry cultivars shows discrepancies in identification. *Acta Hortic.* 2012. Vol. 946. P. 49–53. DOI: 10.17660/ActaHortic.2012.946.4.
15. Eckert A.J. High-throughput genotyping and mapping of single nucleotide polymorphisms in loblolly pine (*Pinus taeda* L.). *Tree Genetics & Genomes.* 2009. Vol. 5(1). P. 225–234.
16. AFLP-based genetic relationships in wild and cultivated raspberry genotypes (*Rubus idaeus* L.) / S. Ercisli et al. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 2008. Vol. 22(4). P. 907–910.
17. FAO 2018. Statistics Raspberry Europe.
18. Garcia A.A.F., Banchimol L.L., Barbosa A.M.M. Comparison of RAPD, RFLP, AFLP and SSR markers for diversity studies in tropical maize inbred lines. *Genetics and Molecular Biology.* 2004. Vol. 27 (4). 4. P. 579–588.
19. Garrido P., Morillo E., Vásquez-Castillo W. Genetic diversity of the Andean blackberry (*Rubus glaucus* Benth.) in Ecuador assessed by AFLP markers. *Plant Genetic Resources.* 2020. Vol. 18(4). P. 243–250. DOI: 10.1017/S1479262120000283
20. Glazko V.I., Dubin A.V., Kalendar R.I., Glazko G.V. Genetic relationships between soybean breeds assessed using ISSR markers. *Cytology and Genetics.* 1999. Vol. 33 (5). P. 47–51.
21. The construction of a genetic linkage map of red raspberry (*Rubus idaeus* subsp *idaeus*) based on AFLPs, genomic-SSR and EST-SSR markers / J. Graham et al. *Theoretical and Applied Genetics.* 2004. Vol. 109. P. 740–749. DOI: 10.1007/s00122-004-1687-8
22. Graham J., Smith K., Woodhead M., Russell J.R. Development and use of simple sequence repeat SSR markers in *Rubus* species. *Mol. Ecol. Notes.* 2002. Vol. 2. P. 250–252.
23. Graham J., Squire B., Marshall B., Harrison R.E. Spatially dependent genetic diversity within and between colonies of wild raspberry *R. idaeus* detected using RAPD markers. *Mol. Ecol.* 1997. Vol. 6. P. 1001–1008.
24. New insight into wild red raspberry populations using simple sequence repeat markers / J. Graham et al. *Am. Soc. Hort. Sci.* 2009. Vol. 134(1). P. 109–119.
25. Current trends in microsatellite genotyping / E. Guichoux et al. *Molecular Ecology Resources.* 2011. Vol. 11. P. 591–611.
26. Enhancement of Glen Moy × Latham raspberry linkage map using GbS to further understand control of development processes leading to fruit ripening / C.A. Hackett et al. *BMC Genetics.* 2018. Vol. 19. 59 p. DOI 10.1186/s12863-018-0666-z.
27. Hoepfner A.S., Nybom H., Carlsson U., Franzen R. DNA fingerprinting useful for monitoring cell line identity in micropropagated raspberries. *Acta Agric. Scand. Sect. B. Soil Plant Sci.* 1993. Vol. 43. P. 53–57.
28. John J.St., Ransler F., Quinn T., Oyler-McCance S. Characterization of microsatellite loci isolated in trumpeter swan (*Cygnus buccinator*). *Mol. Ecol. Notes.* 2006. Vol. 6. P. 1083–1085.
29. Kalia R.K., Rai M.K., Kalia S., Singh R., Dhawan A.K. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. *Euphytica.* 2011. Vol. 177. P. 309–334.
30. Keane B., Smith M.K., Rogstad S.H. Genetic variation in red raspberries (*Rubus idaeus* L., Rosaceae) from sites differing in organic pollutants compared with synthetic repeat DNA probes. *Environ. Toxicol. Chem.* 1998. Vol. 17. P. 2027–2034. DOI: 10.1002/etc.5620171019.
31. Kollmann J., Steinger T., Roy B.A. Evidence of sexuality in european *Rubus* (Rosaceae) species based on AFLP and allozyme analysis. *Am. J. Bot.* 2000. Vol. 87(11). P. 1592–1598.
32. Novel microsatellite markers acquired from *Rubus coreanus* Miq. and cross-amplification in other *Rubus* species / G.A. Lee et al. *Molecules.* 2015. Vol. 20. P. 6432–6442. DOI: 10.3390/molecules20046432.
33. Liang Y., Lenz R.R., Dai W. Development of retrotransposon-based molecular markers and their application in genetic mapping in chokecherry (*Prunus virginiana* L.). *Mol. Breed.* 2016. Vol. 36. 109 p. DOI: 10.1007/s11032-016-0535-2.
34. López A., Barrera C., Marulanda M. Evaluation of SSR and SNP markers in *R. glaucus* Benth progenitors' selection. *Rev. Bras. Frutic.* 2019. Vol. 41(1). P. 1–14. DOI: 10.1590/0100-29452019081.
35. Marulanda M., Lopez A., Aguilar S. Genetic diversity of wild and cultivated *Rubus* species in Colombia using AFLP and SSR markers. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 2007. Vol. 7. P. 242–252.
36. McGregor C.E., Treuren R., Hoekstra R., Hintum T.L. Analysis of the wild potato germplasm of the series *Acaulia* with AFLPs: implications for ex situ conservation. *Theor. Appl. Gen.* 2002. Vol. 104. P. 146–156.
37. Miyashita T., Kunitake H., Yotsukura N., Hoshino Y. Assessment of genetic relationships among cultivated and wild *Rubus* accessions using AFLP-markers. *Sci. Hortic.* 2015. Vol. 193. P. 165–173.
38. Moore P.P. Chloroplast DNA diversity in raspberry. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 1993. Vol. 118. P. 371–376.
39. Nybom H., Rogstad S.H., Schaal B.A. Genetic variation detected by use of the M13 'DNA fingerprint' probe in *Malus*, *Prunus* and *Rubus* (Rosaceae). *Theor. Appl. Genet.* 1990. Vol. 79. P. 153–156.

40. Genetic diversity of blackberry (*Rubus* subgenus *Rubus* Watson) in selected counties in Kenya using simple sequence repeats (SSRs) markers / J.A. Ochieng et al. Afr. J. Biotechnol. 2018. Vol. 17(39). P. 1247–1264. DOI: 10.5897/AJB2018.16613.

41. Parent J.G., Pagé D. Identification of raspberry cultivars by sequence characterized amplified region DNA analysis. HortScience. 1998. Vol. 33. P. 140–142.

42. The genetic structure of red raspberry (*Rubus idaeus* L.) populations in Lithuania / J. Patamsytė et al. Cent. Eur. J. Biol. 2010. Vol. 5(4). P. 496–506. DOI: 10.2478/s11535-010-0034-0.

43. Genotyping-by-sequencing based single nucleotide polymorphisms enabled Kompetitive Allele Specific PCR marker development in mutant *Rubus* genotypes / J. Ryu et al. Electron. J. Biotechnol. 2018. Vol. 35. P. 57–62. DOI: 10.1016/j.ejbt.2018.08.001.

44. Semagn K., Bjornstad Å., Ndjiondjop M.N. An overview of molecular marker methods for plants. African Journal of Biotechnology. 2006. Vol. 5 (25). P. 2540–2568.

45. An effective method for axillary bud culture and RAPD analysis of cloned plants in tetraploid black locust / Q.Y. Shu et al. Plant Cell Report. 2003. Vol. 22 (3). P. 175–180.

46. Simlat M., Ptak A., Kula A., Orzel A. Assessment of genetic variability among raspberry accessions using molecular markers. Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus. 2018. Vol. 17(5). P. 61–72. DOI: 10.24326/asphc.2018.5.6.

47. USDA. 2018. Branded Food Products Database. Available at: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list>.

48. Sequence and analysis of the black raspberry (*Rubus occidentalis*) genome / R. VanBuren et al. The Genomes of Rosaceous Berries and Their Wild Relatives. Springer, 2018. P. 185–197.

49. Varshney R.K., Graner A., Sorrells M.E. Genetic microsatellite markers in plants: features and applications. TRENDS in Biotechnology. 2005. Vol. 23. P. 48–55.

50. Saturated linkage map construction in *Rubus idaeus* using genotyping by sequencing and genome-independent imputation / J.A. Ward et al. BMC genomics. 2013. Vol. 14 (2). DOI: 10.1186/1471-2164-14-2

51. Weber C.A., Pattison J., Samuelian S. Marker assisted selection for resistance to root rot in red raspberry caused by *Phytophthora fragariae* var. *rubi*. Acta Hort. 2008. Vol. 777. P. 311–316. DOI: 10.17660/ActaHortic.2008.777.46.

52. Draft genome assembly and annotation of red raspberry *Rubus idaeus* / H. Wight et al. BioRxiv. 2019. DOI: 10.1101/546135.

53. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers / J.G.K. Williams et al. Nucleic Acids Research. 1990. Vol. 18 (22). P. 6531–6535.

54. Zane L., Bargelloni L., Patarnello T. Strategies for microsatellite isolation: a review. Mol. Ecol. 2002. Vol. 11. P. 1–16.

55. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by sequence repeat (SSR) – anchored polymerase chain reaction amplification. Genomics. 1994. Vol. 20. P. 176–183.

REFERENCES

1. Derzhavnyj rejestr sortiv roslyn, prydatnyh dlja poshyrennja v Ukraini [State register of plant varieties suitable for distribution in Ukraine]. Ministerstvo agrarnoi' polityky ta prodovol'stva Ukrainy [Ministry of Agrarian Policy and Food of Ukraine]. Available at: <https://minagro.gov.ua/ua/file-storage/rejestr-sortiv-roslyn>.

2. Markovs'kyj, V.S., Bahmat, M.I. (2008). Jagidni kul'tury v Ukraini [Berry crops in Ukraine]. Kamianets-Podilskyi, PP Medobory-2006, 200 p.

3. Pykalo, S.V., Demydov, O.A., Jurchenko, T.V., Homenko, S.O., Gumenjuk, O.V., Harchenko, M.V. (2020). Molekuljarni markery dlja identyfikacii' posuhostijkyh genotypiv pshenyци v umovah zmin klimatu [Molecular markers for identification of drought-resistant genotypes of wheat under conditions of climate change]. Ekologichni nauky [Environmental sciences]. no. 4(31), pp. 193–202. DOI: 10.32846/2306-9716/2020.eco.4-31.31

4. Polishchuk, I.M. (2020). Fitohimichne vyvchenja malyny zvyčajnoi' ta stvorenja na ii' osnovi novyh likars'kyh zasobiv: dys. na zdobuttja naukovogo stupenja doktora filosofii'. 226 – Farmacija, 22 – Ohorona zdorov'ja [Phytochemical study of common raspberry and creation of new medicinal products based on it: PhD dissertation. 226 – Pharmacy, 22 – Health care]. Kharkiv, 256 p.

5. Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Res. Vol. 23 (21), pp. 4407–4414.

6. Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M., Davis, R.W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. American Journal of Human Genetics. Vol. 32 (3), pp. 314–331.

7. Bushakra, J.M., Krieger, C., Deng, D., Stephens, M.J., Allan, A.C., Storey, R., Symonds, V.V., Stevenson, D., McGhie, T., Chagne, D., Buck, E.J., Gardiner, S.E. (2013). QTL involved in the modification of cyanidin compounds in black and red raspberry fruit. Theoretical and Applied Genetics. Vol. 126 (3), pp. 847–865. DOI: 10.1007/s00122-012-2022-4.

8. Bushakra, J.M., Stephens, M.J., Atmadja, A.N., Lewers, K.S., Symonds, V.V., Udall, J.A., Chagné, D., Buck, E.J., Gardiner, S.E. (2012). Construction of black (*Rubus occidentalis*) and red (*R. idaeus*) raspberry linkage maps and their comparison to the genomes of strawberry, apple, and peach. Theor. Appl. Genet. Vol. 125(2), pp. 311–327. DOI: 10.1007/s00122-012-1835-5.

9. Bushakra, J.M., Lewers, K.S., Staton, M.E., Zhebentyayeva, T., Saski, C.A. (2015). Developing expressed sequence tag libraries and the discovery of simple sequence repeat markers for two species of raspberry (*Rubus* L.) BMC Plant Biol. Vol. 15, pp. 258–269. DOI: 10.1007/s00122-015-2541-x.

10. Bussemeyer, D.T., Pelikan, S., Kennedy, R.S., Rogstad, S.H. (1997). Genetic diversity of Philippine *Rubus moluccanus* L. (*Rosaceae*) populations examined with VNTR DNA probes. Trop. Biol. Vol. 14, pp. 867–884. DOI: 10.1017/S0266467400011044.

11. Castillo, N.R.F., Bassil, N.V., Wada, S., Reed, B.M. (2010). Genetic stability of cryopreserved shoot tips of *Rubus* germplasm. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* Vol. 46(3), pp. 246–256. DOI: 10.1007/s11627-009-9265-z.
12. Castillo, N.R.F., Reed, B.M., Graham, J., Fernández-Fernández, F., Bassil, N.V. (2010). Microsatellite markers for raspberry and blackberry. *Am. Soc. Hortic. Sci.* Vol. 135, pp. 271–278.
13. Cekic, C., Calis, O., Ozturk, E.S. (2018). Genetic diversity of wild raspberry genotypes (*Rubus idaeus* L.) in North Anatolia based on ISSR markers. *Appl. Ecol. Environ. Res.* Vol. 16(5), pp. 6835–6843. DOI: 10.15666/aecer/1605_68356843.
14. Dossett, M., Bassil, N., Finn, C. (2012). SSR fingerprinting of black raspberry cultivars shows discrepancies in identification. *Acta Hort.* Vol. 946, pp. 49–53. DOI: 10.17660/ActaHortic.2012.946.4.
15. Eckert, A.J. (2009). High-throughput genotyping and mapping of single nucleotide polymorphisms in loblolly pine (*Pinus taeda* L.). *Tree Genetics & Genomes.* Vol. 5(1), pp. 225–234.
16. Ercisli, S., Badjakov, I., Kondakova, V., Atanassov, A., Todorovska, E. (2008). AFLP-based genetic relationships in wild and cultivated raspberry genotypes (*Rubus idaeus* L.). *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* Vol. 22(4), pp. 907–910.
17. FAO 2018. Statistics Raspberry Europe.
18. Garcia, A.A.F., Banchimol, L.L., Barbosa, A.M.M. (2004). Comparison of RAPD, RFLP, AFLP and SSR markers for diversity studies in tropical maize inbred lines. *Genetics and Molecular Biology.* Vol. 27 (4), no. 4, pp. 579–588.
19. Garrido, P., Morillo, E., Vásquez-Castillo, W. (2020). Genetic diversity of the Andean blackberry (*Rubus glaucus* Benth.) in Ecuador assessed by AFLP markers. *Plant Genetic Resources.* Vol. 18(4), pp. 243–250. DOI: 10.1017/S1479262120000283
20. Glazko, V.I., Dubin, A.V., Kalendar, R.I., Glazko, G.V. (1999). Genetic relationships between soybean breeds assessed using ISSR markers. *Cytology and Genetics.* Vol. 33 (5), pp. 47–51.
21. Graham, J., Smith, K., MacKenzie, K., Jorgenson, L., Hackett, C., Powell, W. (2004). The construction of a genetic linkage map of red raspberry (*Rubus idaeus* subsp *idaeus*) based on AFLPs, genomic-SSR and EST-SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics.* Vol. 109, pp. 740–749. DOI: 10.1007/s00122-004-1687-8
22. Graham, J., Smith, K., Woodhead, M., Russell, J.R. (2002). Development and use of simple sequence repeat SSR markers in *Rubus* species. *Mol. Ecol. Notes.* Vol. 2, pp. 250–252.
23. Graham, J., Squire, B., Marshall, B., Harrison, R.E. (1997). Spatially dependent genetic diversity within and between colonies of wild raspberry *R. idaeus* detected using RAPD markers. *Mol. Ecol.* Vol. 6, pp. 1001–1008.
24. Graham, J., Woodhead, M., Smith, K., Russell, J., Marshall, B., Ramsay, G., Squire, G. (2009). New insight into wild red raspberry populations using simple sequence repeat markers. *Am. Soc. Hort. Sci.* Vol. 134(1), pp. 109–119.
25. Guichoux, E., Lagache, L., Wagner, S., Chauveil, P., Le. Ger, P., Lepais, O., Lepoittevin, C., Malauza, E., Revardel, E., Salin, F., Petit, R.J. (2011). Current trends in microsatellite genotyping. *Molecular Ecology Resources.* Vol. 11, pp. 591–611.
26. Hackett, C.A., Milne, L., Smith, K., Hedley, P., Morris, J., Simpson, C.J., Preedy, K., Graham, J. (2018). Enhancement of Glen Moy × Latham raspberry linkage map using GbS to further understand control of development processes leading to fruit ripening. *BMC Genetics.* Vol. 19, 59 p. DOI: 10.1186/s12863-018-0666-z.
27. Hoepfner, A.S., Nybom, H., Carlsson, U., Franzen, R. (1993). DNA fingerprinting useful for monitoring cell line identity in micropropagated raspberries. *Acta Agric. Scand. Sect. B. Soil Plant Sci.* Vol. 43, pp. 53–57.
28. John, J. St., Ransler, F., Quinn, T., Oyler-McCance, S. (2006). Characterization of microsatellite loci isolated in trumpeter swan (*Cygnus buccinator*). *Mol. Ecol. Notes.* Vol. 6, pp. 1083–1085.
29. Kalia, R.K., Rai, M.K., Kalia, S., Singh, R., Dhawan, A.K. (2011). Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. *Euphytica.* Vol. 177, pp. 309–334.
30. Keane, B., Smith, M.K., Rogstad, S.H. (1998). Genetic variation in red raspberries (*Rubus idaeus* L., Rosaceae) from sites differing in organic pollutants compared with synthetic repeat DNA probes. *Environ. Toxicol. Chem.* Vol. 17, pp. 2027–2034. DOI: 10.1002/etc.5620171019.
31. Kollmann, J., Steinger, T., Roy, B.A. (2000). Evidence of sexuality in european *Rubus* (Rosaceae) species based on AFLP and allozyme analysis. *Am. J. Bot.* Vol. 87(11), pp. 1592–1598.
32. Lee, G.A., Song, J.Y., Choi, H.R., Chung, J.W., Jeon, Y.A., Lee, J.R., Ma, K.H., Lee, M.C. (2015). Novel microsatellite markers acquired from *Rubus coreanus* Miq. and cross-amplification in other *Rubus* species. *Molecules.* Vol. 20, pp. 6432–6442. DOI: 10.3390/molecules20046432.
33. Liang, Y., Lenz, R.R., Dai, W. (2016). Development of retrotransposon-based molecular markers and their application in genetic mapping in chokecherry (*Prunus virginiana* L.). *Mol. Breed.* Vol. 36, 109 p. DOI: 10.1007/s11032-016-0535-2.
34. López, A., Barrera, C., Marulanda, M. (2019). Evaluation of SSR and SNP markers in *R. glaucus* Benth progenitors' selection. *Rev. Bras. Frutic.* Vol. 41(1), pp. 1–14. DOI: 10.1590/0100-29452019081.
35. Marulanda, M., Lopez, A., Aguilar, S. (2007). Genetic diversity of wild and cultivated *Rubus* species in Colombia using AFLP and SSR markers. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* Vol. 7, pp. 242–252.
36. McGregor, C.E., Treuren, R., Hoekstra, R., Hintum, T.L. (2002). Analysis of the wild potato germplasm of the series *Acaulia* with AFLPs: implications for ex situ conservation. *Theor. Appl. Gen.* Vol. 104, pp. 146–156.
37. Miyashita, T., Kunitake, H., Yotsukura, N., Hoshino, Y. (2015). Assessment of genetic relationships among cultivated and wild *Rubus* accessions using AFLP-markers. *Sci. Hortic.* Vol. 193, pp. 165–173.

38. Moore, P.P. (1993). Chloroplast DNA diversity in raspberry. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* Vol. 118, pp. 371–376.
39. Nybom, H., Rogstad, S.H., Schaal, B.A. (1990). Genetic variation detected by use of the M13 'DNA fingerprint' probe in *Malus*, *Prunus* and *Rubus* (*Rosaceae*). *Theor. Appl. Genet.* Vol. 79, pp. 153–156.
40. Ochieng, J.A., Oyoo, M.E., Gesimba, R.M., Korir, P.C., Ojwang, P.P.O., Owuoch, J.O. (2018). Genetic diversity of blackberry (*Rubus* subgenus *Rubus* Watson) in selected counties in Kenya using simple sequence repeats (SSRs) markers. *Afr. J. Biotechnol.* Vol. 17(39), pp. 1247–1264. DOI: 10.5897/AJB2018.16613.
41. Parent, J.G., Pagé, D. (1998). Identification of raspberry cultivars by sequence characterized amplified region DNA analysis. *HortScience.* Vol. 33, pp. 140–142.
42. Patamsytė, J., Kleizaitė, V., Čėsniėnė, T., Rančelis, V., Žvingila, D. (2010). The genetic structure of red raspberry (*Rubus idaeus* L.) populations in Lithuania. *Cent. Eur. J. Biol.* Vol. 5(4), pp. 496–506. DOI: 10.2478/s11535-010-0034-0.
43. Ryu, J., Kim, W.J., Im, J., Kim, S.H., Lee, K.S., Jo, H.J., Kim, E.Y., Kang, S.Y., Lee, J.H., Ha, B.H. (2018). Genotyping-by-sequencing based single nucleotide polymorphisms enabled Kompetitive Allele Specific PCR marker development in mutant *Rubus* genotypes. *Electron. J. Biotechnol.* Vol. 35, pp. 57–62. DOI: 10.1016/j.ejbt.2018.08.001.
44. Semagn, K., Bjornstad, Å., Ndjiondjop, M.N. (2006). An overview of molecular marker methods for plants. *African Journal of Biotechnology.* Vol. 5 (25), pp. 2540–2568.
45. Shu, Q.Y., Liu, G.S., Qi, D.M., Chu, C.C., Liu, J., Li, H.J. (2003). An effective method for axillary bud culture and RAPD analysis of cloned plants in tetraploid black locust. *Plant Cell Report.* Vol. 22 (3), pp. 175–180.
46. Simlat, M., Ptak, A., Kula, A., Orzel, A. (2018). Assessment of genetic variability among raspberry accessions using molecular markers. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus.* Vol. 17(5), pp. 61–72. DOI: 10.24326/aspbc.2018.5.6.
47. USDA. 2018. Branded Food Products Database. Available at: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list>.
48. VanBuren, R., Bryant, D., Bushakra, J.M., Vining, K.J., Filichkin, S., Edger, P.P., Rowley, E.R., Priest, H.D., Michael, T.P., Dossett, M., Finn, C.E., Bassil, N.V., Mockler, T.C. (2018). Sequence and analysis of the black raspberry (*Rubus occidentalis*) genome. *The Genomes of Rosaceous Berries and Their Wild Relatives.* Springer. pp. 185–197.
49. Varshney, R.K., Graner, A., Sorrells, M.E. (2005). Genic microsatellite markers in plants: features and applications. *TRENDS in Biotechnology.* Vol. 23, pp. 48–55.
50. Ward, J.A., Bhargoo, J., Fernandez-Fernandez, F., Moore, P., Swanson, J.D., Viola, R., Velasco, R., Bassil, N., Weber, C.A., Sargent, D.J. (2013). Saturated linkage map construction in *Rubus idaeus* using genotyping by sequencing and genome-independent imputation. *BMC genomics.* Vol. 14 (2). DOI: 10.1186/1471-2164-14-2
51. Weber, C.A., Pattison, J., Samuelian, S. (2008). Marker assisted selection for resistance to root rot in red raspberry caused by *Phytophthora fragariae* var. *rubi*. *Acta Hort.* Vol. 777, pp. 311–316. DOI: 10.17660/ActaHortic.2008.777.46.
52. Wight, H., Zhou, J., Li, M., Hannehalli, S., Mount, S., Liu, Z. (2019). Draft genome assembly and annotation of red raspberry *Rubus idaeus*. *BioRxiv.* DOI: 10.1101/546135.
53. Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., Tingey, S.V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research.* Vol. 18 (22), pp. 6531–6535.
54. Zane, L., Bargelloni, L., Patarnello, T. (2002). Strategies for microsatellite isolation: a review. *Mol. Ecol.* Vol. 11, pp. 1–16.
55. Zietkiewicz, E., Rafalski, A., Labuda, D. (1994). Genome fingerprinting by sequence repeat (SSR) -anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics.* Vol. 20, pp. 176–183.

The use of DNA markers in raspberry (*Rubus* L.) research: a review

Dyman N., Karpuk L.

Raspberry (*Rubus* L.) is one of the most common berry crops in horticulture. It is a valuable food product for humans and a raw material for food processing companies. The assortment of raspberries in Ukraine includes more than 30 varieties. Modern breeding and genetic programs are aimed at expanding genetic diversity and creating new raspberries varieties. Molecular genetic methods are increasingly being used in both fundamental and applied research of *Rubus* species. This article presents an overview of the main types of molecular markers used to study genetic polymorphism of *Rubus* species.

Out of the whole variety of available DNA markers, such molecular methods of analysis as RAPD, RFLP, AFLP, ISSR, SSR and SNPs have proved to be the most effective in solving problems related to genotypes, population polymorphism, genetic mapping, and phylogenetic studies of raspberries. Their high efficiency is associated with increased resolution, reproducibility, high informativeness, the possibility of analysis automatization, speed, simplicity and availability. These markers are a convenient tool for genomic selection and research of genetic diversity of not only the genus *Rubus* representatives, but also of all living organisms. As of retrotransposon mar-

kers, which make up the main part of the eukaryotes genome, there are few scientific papers on their use for the study of representatives of the genus *Rubus*, unlike other crops. Significant progress in raspberry breeding is associated with the development of modern sequencing technologies.

Whole-genome sequencing (WGS) allows simultaneous generation of a large number of SNP markers that are used to create genetic maps, identify pathogen resistance genes, map economically useful traits etc.

Key words: *Rubus*, raspberry, DNA markers, polymorphism, selection.



Copyright: Димань Н.О., Карпук Л.М. © This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



ORCID iD:

Димань Н.О.

Карпук Л.М.

<https://orcid.org/0000-0003-4087-2957>

<https://orcid.org/0000-0002-2303-7899>