

УДК 577.113

Р.А. ВОЛКОВ<sup>1,2</sup>, І.І. ПАНЧУК<sup>1,2</sup>, Л.Г. БОРИСЮК<sup>3</sup>,  
М.В. БОРИСЮК<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> Чернівецький державний університет, Чернівці,

<sup>2</sup> Biological Institute, University of Tuebingen, Germany,

<sup>3</sup> Biotech Center, Rutgers University, New Brunswick, USA,

<sup>4</sup> Інститут клітинної біології та генетичної інженерії  
НАН України, Київ

## рДНК РОСЛИН: ОРГАНІЗАЦІЯ, ЕВОЛЮЦІЯ, ЗАСТОСУВАННЯ



Рибосомальна ДНК складає значну частину рослинного геному і організована в тандемні повтори, які складаються із консервативних послідовностей кодуючих рРНК та швидко еволюціонуючих спейсерних ділянок. Нами розшифровані нуклеотидні послідовності міжгенного спейсера (МГС) для п'яти видів із родини пасльонових: картоплі (*Solanum tuberosum*), красавки (*Atropa belladonna*) і трьох видів тютюну (*Nicotiana tabacum*, *N. tomentosiformis*, *N. sylvestris*). Докладний порівняльний аналіз цих та інших секвенованих послідовностей рДНК дозволив визначити загальні закономірності еволюції та функціональної організації регуляторних послідовностей спейсера рДНК, а також прояснити філогенетичні взаємовідносини між видами *Solanacea*. Обговорюються численні експериментальні дані про використання рДНК в селекції, таксономії та біотехнології рослин.

© Р.А. ВОЛКОВ, І.І. ПАНЧУК, Л.Г. БОРИСЮК,  
М.В. БОРИСЮК, 2003

Загальні уявлення про рДНК. Родина генів, що кодують рибосомальну РНК (рРНК), добре описана для еукаріотичних організмів і позначається в літературі як рДНК. В геномі рослин рДНК входить у клас повторюваних послідовностей і представлена великою кількістю копій — від 500 до 30 000. Повтори рДНК організовані тандемно і локалізуються у 1–3 місцях на різних хромосомах. Місця локалізації рДНК можна визначити цитологічно, в мейозі рДНК формує так звані вторинні перетяги, а в інтерфазному ядрі — ядерце, яке є місцем формування рибосом [1, 2].

Кожна повторювана одиниця рДНК включає в себе послідовності, які кодують 18S; 5,8S та 25S рРНК, і кілька суміжних спейсерових послідовностей, частина яких транскрибується, а інша — ні (рис. 1). Синтез рРНК здійснюється РНК-полімеразою І. Транскрипція починається в точці ініціації транскрипції (ТІТ) в зоні міжгенного спейсера (МГС) і припиняється в точці термінації транскрипції (ТТТ), яка також знаходиться в МГС. Внаслідок транскрипції рДНК утворюється молекула пре-рРНК, яка в результаті процесінгу перетворюється в зрілі 18S; 5,8S та 25S рРНК [3].

**Структурно-функціональна організація рДНК на прикладі родини *Solanaceae*.** Різні зони одного повтору рДНК істотно відрізняються за швидкістю молекулярної еволюції. Ділянки, що кодують рРНК, є одними з найбільш консервативних серед еукаріотів [4]. Така висока подібність зумовлена стабілізуючим добром, направленим на збереження функціональної структури рибосом: накопичення мутацій могло б спричинити порушення взаємодії рРНК із рибосомними протеїнами і тому не допускається [5, 6].

Аналогічно, збереження певних послідовностей у спейсерних ділянках рДНК свідчить про їх важливе функціональне значення. Вважається, наприклад, що консервативні послідовності ДНК внутрішніх транскрибованих спейсерів І і ІІ (ВТС І, ВТС ІІ) (рис. 1) можуть взаємодіяти з білками, які приймають участь в процесінгу рибосомної РНК [7].

З метою виявлення функціонально важливих елементів в повторах рДНК та вивчення закономірностей еволюції структури МГС ми визначили нуклеотидні послідовності та провели порівняльний аналіз спейсерів рДНК у п'ятих представників родини пасльонових: картоплі (*Solanum tuberosum*) [8], красавки (*Atropa belladonna*) [9] і трьох споріднених видів тютюну (*Nicotiana tabacum*, *N. tomentosiformis*, *N. sylvestris*) [10–12]. Отримані результати свідчать, що

незважаючи на порівняно високу швидкість накопичення мутацій, загальна будова МГС у пасльонових досить подібна (рис. 2).

В центральній частині МГС у більшості досліджених рослин знаходиться А+Т-збагачена зона, на 3'-кінці якої розташована послідовність TATATAAGGGGGG, що співпадає із сайтом ініціації транскрипції, TIT [13]. Послідовність TATATA(A/G)GGG є сайтом ініціації транскрипції рибосомальної РНК у всіх досліджених дводольних рослин, аналогічний сайт для однодольних має послідовність TATAGTΔGGG(A/G) (позиція +1 підкреслена) [14, 15].

Було показано, що А+Т-багатий спейсерний елемент не тільки впливає на транскрипцію рДНК [16], що логічно узгоджується із його положенням безпосередньо перед сайтом ініціації транскрипції, а й приймає участь в ініціації реплікації [17] та регуляції кількості копій (ампліфікації) послідовностей рДНК [18, 19]. Порівняльний аналіз послідовностей МГС тютюну і картоплі виявив значну схожість їх А+Т-багатої області із елементом рДНК миші (muNTS1) [20], який був клонований за його здатністю збільшувати кількість копій приєднаних до нього послідовностей ДНК при трансформації тваринних клітин [18]. З метою

перевірити, чи А+Т-багатий елемент рДНК тютюну функціонує подібно до гомологічного йому елемента миші, дві генетичні конструкції, які експресують флюоресцентний протеїн медузи [21] та мутантний ген ацетолактат синтази [22] арабідопсису, що спричиняє стійкість до гербіцидів класу сульфоніл-сечовини, були приєднані до цього А+Т-багатого елемента і трансформовані в рослини тютюну. Аналіз трансформантів показав, що А+Т-багатий елемент рДНК тютюну дійсно здатний підвищувати як експресію обох гетерологічних генів, так і кількість їх копій в геномі трансгенного тютюну [19]. Цікаво зауважити, що багато генетичних елементів, які стимулюють ампліфікацію, включаючи А+Т-багаті елементи рДНК тютюну і картоплі, muNTS1, та деякі інші, мають в своєму складі по кілька послідовностей, подібних до висококонсервативного елемента довжиною 11 нк (A/T)TTTAT(A/G)TTT(A/T) із послідовності автономної реплікації (ПАР) дріжджів [17, 23]. Важлива роль ПАР для ініціації реплікації встановлена для кількох еукаріотичних організмів, включаючи рослини [24, 25]. Можна припустити, що ампліфікаційна активність описаних А+Т-багатих елементів є наслідком ініціації багатьох циклів реплікації.

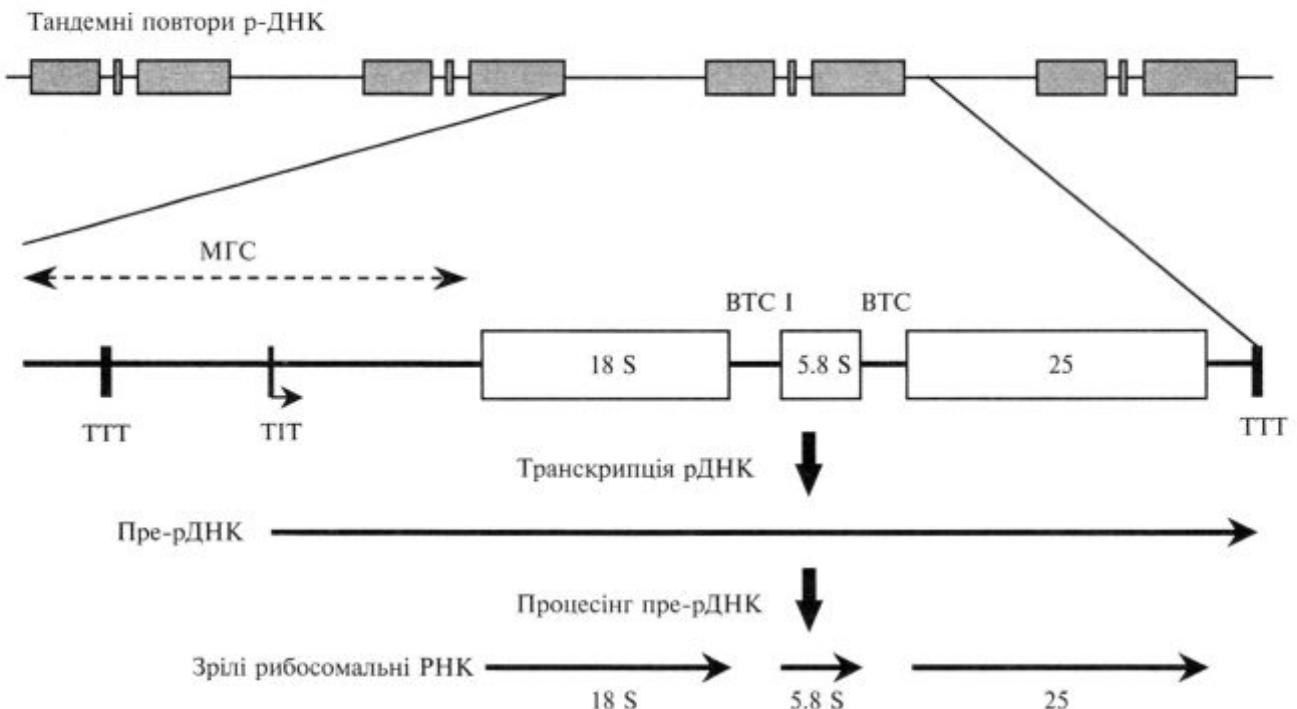
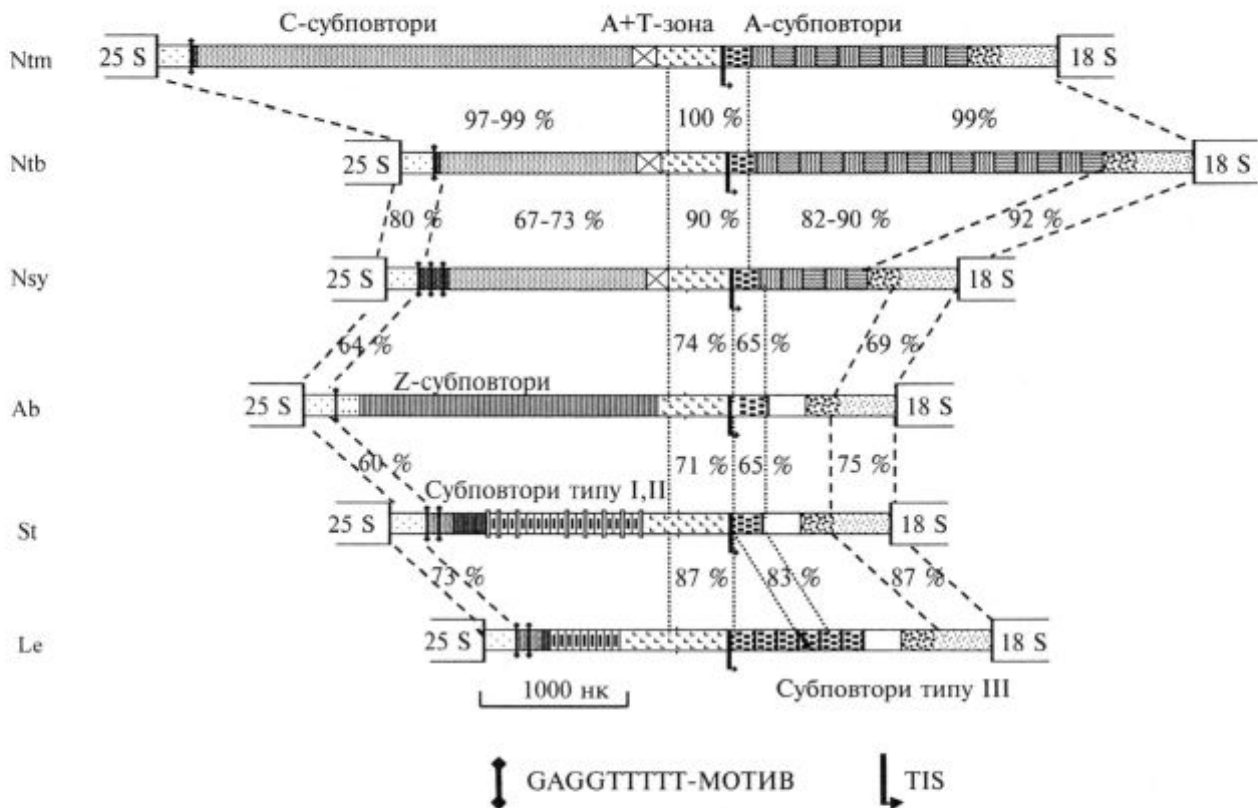


Рис. 1. Схематичне зображення загальної організації та експресії рДНК



**Рис. 2.** Схематичне зображення організації нуклеотидних послідовностей спейсерів рДНК для шести видів родини пасльонових. Ntm — *Nicotiana tomentosiformis*, Ntb — *N. tabacum*, Nsy — *N. sylvestris*, Ab — *Atropa belladonna*, St — *Solanum tuberosum*, Le — *Lycopersicum esculentum* [13]. Довжини послідовностей подані у реальному співвідношенні, 1000 нк — відповідає довжині в тисячу нуклеотидів

Ще однією функцією A+T-багатої області спейсера рДНК може бути взаємодія з елементами ядерного скелета. Так, у тютюнів [12] в A+T-багатій зоні присутні численні мотиви АТТА і АТТТА, які є типовими для ділянок ДНК, що зв'язуються з ядерним матриксом.

Послідовності, які оточують ТІТ (−95 +20 нк), також демонструють високу консервативність в межах родини *Solanaceae*. Це наводить на думку про їх важливе функціональне значення, зокрема, для взаємодії з факторами, що входять до складу комплексу ініціації транскрипції рДНК. Так, нами знайдені й охарактеризовані ядерні протеїни, які специфічно взаємодіють із промоторною зоною спейсера рДНК [26].

Інша порівняно консервативна зона МГС — ділянка, що межує з 5'-кінцем гена 18S рРНК (рис. 2), де знаходяться елементи, які є спільними навіть для рослин із різних родин дводольних [12]. Скоріше всього ці елементи приймають участь у сплайсингу пре-рРНК.

Зона термінації транскрипції, яка межує з 3'-кінцем гена 26S рРНК, еволюціонує з відносно більшою швидкістю. Єдиний елемент, який залишається незмінним, є послідовність GAGGTTTTT. Ця послідовність повторюється чотири рази у *N. sylvestris*, два — у *L. esculentum* та *S. tuberosum* і один раз в МГС інших досліджених пасльонових (рис. 2). Можна припустити, що ця послідовність є сигналом термінації транскрипції пре-рРНК, хоча цей процес у рослин ще практично не досліджений.

Структурним елементом МГС, що еволюціонує з найбільшою швидкістю, є субповтори. У пасльонових знайдено як передпромоторні (upstream), так і післяпромоторні (downstream) субповтори. Субповтори окремих видів до певної міри гомологічні між собою, що свідчить про їх спільне походження. В той же час субповтори представників різних родів істотно відрізняються, незмінними залишаються лише короткі мотиви, зокрема GACGTC/G, який співпадає із

так званим C/G-боксом. Останній є сайтом зв'язування відповідних факторів транскрипції, про які відомо, що вони приймають участь в регуляції активності багатьох рослинних генів [27]. Можна припустити, що ці білки також приймають участь в регуляції транскрипції рДНК. На користь такого припущення свідчить те, що передпромоторні повтори тютюну і картоплі дійсно взаємодіють із специфічними протеїнами, хоча їх належність до C/G-білків ще не доведена [26]. Близькоспоріднені види рослин (різні тютюни або картопля/томати, рис. 2) мають майже ідентичні передпромоторні субповтори, але кількість їх у межах МГС істотно відрізняється, що може приводити до відчутної варіації довжини всього спейсера [11, 28]. Вважається, що передпромоторні субповтори можуть посилювати транскрипцію рДНК [3, 29], і інтенсивність такого посилювання залежить від кількості субповторів. Нещодавно ця теза була доведена експериментально в роботі, де показано, що передпромоторні субповтори рДНК арабідопису можуть в чотири рази посилювати генну експресію в трансгених рослинах [30].

Функціональна роль післяпромоторних субповторів, які виявлені не у всіх пасльонових, залишається не з'ясованою. Слід відзначити, що у тютюну і томата були ампліфіковані і утворили субповтори майже однакової довжини (140–145 нк) зовсім різні за послідовністю нуклеотидів післяпромоторні елементи [8, 10, 11].

В цілому будова МГС у пасльонових порівняно проста, що робить їхню рДНК зручною моделлю для подальшого вивчення.

**Молекулярна еволюція та застосування рДНК в таксономії.** Особливістю молекулярної еволюції повторюваних послідовностей ДНК є її узгоджений (концертний) характер. Явище концертної еволюції [31] полягає в тому, що окремі копії повторів одного генома еволюціонують не незалежно, а узгоджено. Мутація, яка з'являється в одній із копій, розповсюджується на інші копії, або швидко елімінується з генома. Завдяки цьому підтримується висока ідентичність нуклеотидних послідовностей повторів.

рДНК також еволюціонує за механізмами концертної еволюції [32]. Висока подібність виявлена між трьома видами тютюнів як при порівнянні цілих повторів рДНК, так і окремих субповторів в межах одного повтору [10, 12]. Ви-

соку ідентичність МГС продемонстровано також для красавки та кількох видів *Solanum* [33].

Ідентичність повторів рДНК в межах генома, універсальність побудови та присутність ділянок, що еволюціонують з різною швидкістю, роблять рибосомальну ДНК надзвичайно привабливим інструментом молекулярної систематики. Зокрема, кодуєчі ділянки з низькою швидкістю еволюції є зручними для дослідження філогенетичних відносин таксонів високого рангу: типи — класи [4]. Разом з тим висока швидкість еволюції ВТС дозволяє використовувати їх для дослідження таксонів нижчого рівня: роди — види [34, 35]. Зіставлення послідовностей МГС для вирішення проблем таксономії тільки починається, але плідність такого підходу не викликає сумнівів. Наприклад, вдалось підтвердити гіпотезу про необхідність виділення роду *Atropa* в окрему трибу або навіть підродину в межах *Solanaceae* [9].

Порівняння послідовностей МГС, зокрема, секвенованих ділянок між ТІТ та геном 18S рРНК для 20 видів диких родичів картоплі, дозволило прояснити заплутане питання про філогенетичні зв'язки у секції *Petota*, рід *Solanum* [33]. Отримані результати в цілому узгоджуються з існуючою таксономічною схемою [36], але певні серії слід переглянути і скоротити. Доведено, що, незважаючи на морфологічні відмінності, дикі родичі картоплі дуже близькі між собою, що також добре узгоджується із подібністю загальної організації їх рДНК [28].

**Алополіплоїдне видоутворення: ядерцеве домінування та реорганізація рДНК.** Специфічною особливістю рДНК є пов'язане з нею явище ядерцевого домінування, описане досить давно за допомогою цитологічних методів [37]. Суть цього явища полягає в тому, що у міжвидових гібридів функціонально активним є ядерце тільки одного із батьків. З сучасної точки зору це означає, що відбувається диференційна транскрипція рДНК.

Вивчення молекулярних механізмів ядерцевого домінування дозволило з'ясувати, що принаймні у злаків [38–40] рДНК з довшим спейсером домінує над рДНК, яка має коротший МГС. Вважається, що це викликано з'ясуванням факторів транскрипції, які присутні в обмеженій кількості, переважно з довгими МГС, що містять більше субповторів-енхансерів. Нестача факторів транскрипції призводить до інактивації ядерця одного із батьків внаслідок конденсації хроматину, яка в свою чергу зумовлена диференціальним

метилуванням цитозину та ацетилюванням гістонів, як це було показано для гібридів *Triticum-Secale* [39] та *Brassica* [41].

Майже половина покритонасінних рослин являють собою алоплоїдні гібриди [42]. Постає питання, що відбувається з рДНК батьківських видів під час довготривалого співіснування в межах алоплоїдного генома? В більшості випадків у алоплоїдів зберігається рДНК обох або тільки одного із батьків [43–45]. В той же час у алотетраплоїдного *Nicotiana tabacum* нами було знайдено повтори рДНК, що істотно відрізняються від рДНК його диплоїдних предків *N. sylvestris* і *N. tomentosiformis* [46, 47]. Визначення та детальне порівняння нуклеотидних послідовностей МГС алотетраплоїдного *Nicotiana tabacum* та його диплоїдних батьків — *N. sylvestris* і *N. tomentosiformis* — дозволило виявити істотні молекулярні механізми еволюції спадкованих послідовностей рибосомальної ДНК [12]. Так, завдяки неймовірно високій схожості нуклеотидних послідовностей МГС, ми показали, що основна частка 18–25S повторів рДНК *N. tabacum*, так само як генів 5S рДНК [48], безсумнівно походить від *N. tomentosiformis*. Перебудови МГС в процесі еволюції тютюну мали скоріше кількісний характер і відбувались за рахунок зміни кількості коротких субповторів, розташованих попереду і позаду А+Т-багатого елемента, майже не торкаючись власне послідовності нуклеотидів в МГС (рис. 2). Лише 8 % повторів рДНК *N. tabacum* походять від *N. sylvestris*, причому вони знаходяться у гіперметильованому неактивному локусі хромосоми S12 [49]. Виявлені факти дозволили запропонувати схему, що відображає поступову перебудову рДНК в гібридному геномі [12]: 1) ядерцеве домінування — після схрещування батьківських видів рДНК *N. tomentosiformis* з довшим МГС домінувала над рДНК *N. sylvestris* з коротким МГС; 2) диференційна елімінація/заміна — функціональна інактивація рДНК *N. sylvestris* супроводжувалась її структурною інактивацією шляхом поступової елімінації з генома; 3) реорганізація рДНК — рДНК, успадкована від *N. tomentosiformis*, зазнала структурних перебудов — зона передпромоторних С-субповторів стала коротшою внаслідок часткової делеції, в той час як зона післяпромоторних А-субповторів збільшилась завдяки ампліфікації (рис. 2). Таким чином, рДНК гібридів може зазнавати

істотних перебудов, що демонструє динамічний характер алоплоїдних геномів.

**Заключні зауваження.** Висока видова специфічність послідовностей спейсера рДНК та велика кількість копій в геномі роблять рДНК досить зручним молекулярним маркером для застосування в біотехнології і селекційних програмах. Застосування кодуєчих послідовностей рДНК як зондів для виявлення поліморфізму рестриктних фрагментів є універсальним завдяки їх консервативності. Саме такий підхід було використано для підтвердження присутності ядерних геномів обох батьків у гібридах, які були отримані шляхом злиття протопластів *Nicotiana tabacum* + *Atropa belladonna* [50, 51], *N. plumbaginifolia* + *Atropa belladonna* [52], *Arabidopsis thaliana* + *Brassica campestris* [53, 54] та ін.

Порівняльний аналіз послідовностей МГС дозволяє створювати більш специфічні зонди, які гібридизуються лише з рДНК однієї із схрещуваних форм. Наприклад, короткі синтетичні нуклеотиди (28 нк), гомологічні специфічним ділянкам МГС, були застосовані для доведення гібридної природи рослин, отриманих злиттям протопластів порівняно близьких видів *Solanum tuberosum* та *S. bulbocastanum* [55]. Альтернативою дослідження поліморфізму рестриктних фрагментів, що є відносно трудомістким процесом, може бути застосування полімеразної ланцюгової реакції для ампліфікації певних ділянок рДНК з наступним розщепленням отриманих продуктів специфічними рестриктазами. Такий підхід був успішно застосований як для 18S–25S, так і для 5S рДНК, що дозволило за короткий час провести тест-оцінку великої кількості рослин та прослідкувати за наслідуванням хромосом 1 та 2 у кількох поколінь гібридів картоплі [55].

Ще одним напрямком застосування рДНК може стати використання регулюючих ділянок МГС при створенні більш ефективних векторів для трансформації рослин. Так, нами показано, що А+Т-багата послідовність МГС у 2–10 разів підвищує експресію рекомбінантних протеїнів у трансгенного тютюну [19] завдяки ампліфікації і посиленню транскрипції внесених генів.

**SUMMARY.** Ribosomal DNA comprises a considerable part of a plant genome and is organized in tandemly arranged repeats composed of conservative coding sequences for ribosomal RNA and rapidly evolving spacer elements. We determined the nucleotide sequences of intergenic spacer regions (IGS) for five species from Solanaceae family: *Solanum*

tuberosum, *Atropa belladonna*, *Nicotiana tabacum*, *N. tomentosiformis*, and *N. sylvestris*. The detailed comparative analysis of these and some other rDNA sequences allowed us to reveal the general regularities of evolution and functional organization of the rDNA spacer region and to clarify better phylogenetic relationships between the species within *Solanaceae* family. A large body of experimental data on the application of rDNA in plant breeding, taxonomical studies and biotechnology are provided and discussed.

**РЕЗЮМЕ.** Рибосомальна ДНК складає значительную часть растительного генома и организована в тандемные повторы, которые состоят из консервативных последовательностей кодирующих рРНК и быстро эволюционирующих спейсерных участков. Нами расшифрованы нуклеотидные последовательности межгенного спейсера (МГС) для пяти видов из семейства пасленовых: картофеля (*Solanum tuberosum*), красавки (*Atropa belladonna*) и трех видов табака (*Nicotiana tabacum*, *N. tomentosiformis*, *N. sylvestris*). Подробный сравнительный анализ этих и других секвенированных последовательностей спейсера рДНК позволил определить общие закономерности эволюции и функциональной организации регуляторных последовательностей спейсера рДНК, а также прояснить филогенетические взаимоотношения между видами *Solanaceae*. Обсуждаются многочисленные экспериментальные данные об использовании рДНК в селекции, таксономии и биотехнологии растений.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Hemleben V., Ganai M., Gerstner J., Schiebel K., Torres R. A. Organization and length heterogeneity of plant ribosomal RNA genes // The architecture of eukaryotic gene / Ed. G. Kahl. — Weinheim, 1988. — P. 371–384.
- Takeda S., Ando H., Takeda K.; von Bothmer R. Physical locations of 5S and 18S–25S rDNA in Asian and American diploid *Hordeum* species with the I genome // Heredity. — 2001. — **86**. — P. 522–530.
- Zentgraf U., Velasco R., Hemleben V. Different transcriptional activities in the nucleus // Progr. — 1998. — **59**. — P. 131–168.
- Lipscomb D.L., Farris J.S., Kaellersjoe M. Tehler A. Support, ribosomal sequences and the phylogeny of the eukaryotes // Cladistics. — 1998. — **14**. — P. 303–338.
- Caetano-Anolles G. Tracing the evolution of RNA structure in ribosomes // Nucl. Acids Res. — 2002. — **30**. — P. 2575–2587.
- Moore P.B., Steitz T.A. The involvement of RNA in ribosome function // Nature. — 2002. — **418**. — P. 229–235.
- Mai J.C., Coleman A.W. The internal transcribed spacer 2 exhibits a common secondary structure in green algae and flower plants // J. Mol. Evol. — 1997. — **44**. — P. 258–257.
- Borisjuk N., Hemleben V. Nucleotide sequence of potato rDNA intergenic spacer // Plant Mol. Biol. — 1993. — **21**. — P. 381–384.
- Volkov R., Borisjuk N., Panchuk I., Komarova N., Hemleben V. rDNA intergenic spacer region structure and taxonomic status of *Atropa belladonna* (Solanaceae) // Biol. Chem. — 1997. — 378 (Supp.). — P. 115.
- Volkov R., Kostishin S., Ehrendorfer F., Schweizer D. Organization and molecular evolution of rDNA external transcribed spacer region in two diploid relatives of *Nicotiana tabacum* // Plant Syst. Evol. — 1996. — **201**. — P. 117–129.
- Borisjuk N.V., Davidjuk Y.M., Kostishin S.S., Miroshnichenko G.P., Velasco R., Hemleben V., Volkov R.A. Structural analysis of rDNA in the genus *Nicotiana* // Plant Mol. Biol. — 1997. — **35**. — P. 655–660.
- Volkov R.A., Borisjuk N.V., Panchuk I.I., Schweizer D., Hemleben V. Elimination and rearrangement of parental rDNA in allotetraploid *Nicotiana tabacum* // Mol. Biol. Evol. — 1999. — **16**. — P. 311–320.
- Perry K.L., Palukaitis P. Transcription of tomato ribosomal DNA and the organization of the intergenic spacer // Mol. Gen. Genet. — 1990. — **221**. — P. 102–112.
- Doelling J.H., Pikaard C.S. The minimal ribosomal RNA gene promoter of *Arabidopsis thaliana* includes a critical element at the transcription initiation site // Plant J. — 1995. — **8**. — P. 683–692.
- Akhunov E.D., Chemeris A.V., Kulikov A.M., Vakhitov V.A. Functional analysis of diploid wheat rRNA promoter by transient expression // Biochem. Biophys. Acta. — 2001. — **1522**. — P. 226–229.
- Kneidl C., Dinkl E., Grummt F. An intrinsically bent region upstream of the transcription start site of the rRNA genes of *Arabidopsis thaliana* interacts with an HMG-related protein // Plant Mol. Biol. — 1995. — **27**. — P. 705.
- Hernandez P., Martin-Parras L., Martinez-Robles M.L., Schwartzman J.B. Conserved features in the mode of replication of eukaryotic ribosomal RNA genes // EMBO J. — 1993. — **12**, № 4. — P. 1475–1485.
- Hemann C., Gartner E., Weidle U.K., Grummt F. High-copy expression vector based on amplification-promoting sequences // DNA and Cell Biol. — 1994. — **13**. — P. 437–445.
- Borisjuk N., Borisjuk L., Komarnytsky S., Timeva S., Hemleben V., Gleba Yu., Raskin I. Tobacco ribosomal DNA spacer element stimulates amplification and expression of heterologous genes // Nature Biotechnol. — 2000. — **18**. — P. 1303–1306.
- Wegner M., Zastrow G., Klavinus A., Achwender S., Muller F., Luksza H., Hoppe J., Wienberg J., Grummt F. Cis-acting sequences from mouse rDNA promote plasmid amplification and persistence in mouse cells: implication of HMG-1 in their function // Nucl. Acids Res. — 1989. — **17**. — P. 9909–9932.
- Borisjuk N., Borisjuk L., Logendra S. et al Production of recombinant proteins in plant root exudates // Nature Biotechnol. — 1999. — **17**. — P. 466–469.
- Haughn G.W., Smith J., Mazur B., Somerville C. Transformation with a mutant *Arabidopsis* acetolactate synthase gene renders tobacco to sulfonylurea herbicides // Mol. Gen. Genet. — 1988. — **211**. — P. 266–271.
- Linskens M.H., Huberman J.A. Organization of replication of ribosomal DNA in *Saccharomyces cerevisiae* // Mol. Cell Biol. — 1988. — **8**. — P. 4927–4935.
- Hernandez P., Bjerknes C.A., Lamm S.S., van't Hof J. Proximity of an ARS consensus sequence to a replication origin of pea (*Pisum sativum*) // Plant Mol. Biol. — 1988. — **10**. — P. 413–422.
- Van't Hof J., Lamm S. S. Site of initiation of replication of the ribosomal genes of pea (*Pisum sativum*) detected by

- two-dimensional gel electrophoresis // *Plant Mol. Biol.* — 1992. — **20**. — P. 377–382.
26. Volkov R.A., Velasco R., Hemleben V. Cis-acting sequence motifs and trans-acting factors involved in rRNA expression in *Solanaceae* // Abstr. 25th FEBS Congress. — Copenhagen, 1998. — P. 117.
  27. Menkens A.E., Schindler U., Cashmore A.R. The G-box: a ubiquitous regulatory DNA element in plants bound by the GBF family of bZIP proteins // *Trend Biochem. Sci.* — 1995. — **20**. — P. 506–510.
  28. Borisjuk N., Borisjuk L., Petjuch G., Hemleben V. Comparison of nuclear ribosomal RNA genes among *Solanum* species and other *Solanaceae* // *Genome*. — 1994. — **37**. — C. 271–279.
  29. Mougey E.B., Pape L.K., Sollner-Webb B. Virtually the entire *Xenopus laevis* rDNA multikilobase intergenic spacer serves to stimulate polymerase I transcription // *J. Biol. Chem.* — 1996. — **271**, № 43. — P. 27138–27145.
  30. Schlogelhofer P., Nizhynska V., Feik N., Chambon C., Potuschak T., Wanzenböck EM, Schweizer D., Bachmair A. The upstream Sal repeat-containing segment of *Arabidopsis thaliana* ribosomal DNA intergenic region (IGR) enhances the activity of adjacent protein-coding genes // *Plant Mol. Biol.* — 2002. — **49**. — P. 655–667.
  31. Dover G.A., Tautz D. Conservation and divergence in multigene families: alternatives to selection and drift // *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* — 1986. — **312**. — P. 275–289.
  32. Ganley A.R., Scott B. Concerted evolution in the ribosomal RNA genes of an *Epichloe* endophyte hybrid comparison between tandemly arranged rDNA and dispersed 5S rRNA genes // *Fungal Genet. Biol.* — 2002. — **35**, № 1. — P. 39–51.
  33. Komarova N.J., Panchuk I.I., Zanke C., Volkov R.A., Hemleben V. Organisation of external transcribed spacer region of rDNA and molecular taxonomy of sect. *Petota* (genus *Solanum*, *Solanaceae*) // *Biodiversität und Evolutionsbiologie*. — Jena, 1999. — P. 100.
  34. Комарницький С.І., Комарницький І.К., Кокс А., Пароконний А.С. Еволюція послідовностей внутрішнього спейсера ядерної рибосомальної ДНК американських видів роду *Nicotiana* // *Цитологія і генетика*. — 1998. — **32**. — С. 69–76.
  35. Goel S., Raina S.N., Ogiwara Y. Molecular evolution and phylogenetic implications of internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA in the *Phaseolus-Vigna* complex // *Mol. Phylog. Evol.* — 2002. — **22**. — P. 1–19.
  36. Hawkes J.G. The potato — evolution, biodiversity and genetic resources. — Washington, 1990.
  37. Navashin M. Chromosomal alterations caused by hybridization and their bearing upon certain general genetic problems // *Cytologia*. — 1934. — **5**. — P. 169–203.
  38. Вахитов В.А., Чемериз А.В., Ахметьянов А.А. Нуклеотидная последовательность межгенного и внешнего транскрибируемого спейсера рРНК диплоидной пшеницы *Triticum urartu* // *Молекуляр. биология*. — 1989. — **23**. — С. 441–450.
  39. Houchins K., O'Dell M., Flavell R.B., Gustafson J.P. Cytosine methylation and nucleolar dominance in cereal hybrids // *Mol. Gen. Genet.* — 1997. — **255**. — P. 294–301.
  40. Reeder R.H. Mechanisms of nucleolar dominance in animals and plants // *J. Cell Biol.* — 1985. — **101**. — P. 2013–2016.
  41. Chen Z.J., Pikaard C.S. Epigenetic silencing of RNA polymerase I transcription: A role for DNA methylation and histone modification in nucleolar dominance // *Genes Dev.* — 1997. — **11**. — C. 2124–2136.
  42. Грант В. Видообразование у растений. — М.: Мир, 1984.
  43. Борисюк Н.В., Мирошніченко Г.П. Організація генів рибосомних РНК *Brassica oleracea*, *Brassica campestris* і їх аллотетраплоїдного гібрида *Brassica napus* // *Генетика*. — 1989. — **25**, № 3. С. 417–423.
  44. Волков Р.А., Костышин С.С., Панчук И.И. Строение рДНК у представителей подсемейства сливовых (*Prunoideae*) // *Молекуляр. биология*. — 1993. — **27**. — С. 1356–1367.
  45. Delseny M., McGrath J.M., This P. et al. Ribosomal RNA genes in diploid and amphidiploid *Brassica* and related species: organisation, polymorphism and evolution // *Genome*. — 1990. — **33**. — C. 733–744.
  46. Борисюк Н.В., Костышин С.С., Волков Р.А., Мирошніченко Г.П. Строение генів рибосомних РНК у вищих рослин роду *Nicotiana* // *Молекуляр. биология*. — 1989. — **23**. — С. 1067–1074.
  47. Волков Р.А., Борисюк Н.В., Костышин С.С., Панчук И.И. Изменчивость генів рРНК при перестройках хромосомного аппарата у табаков // *Молекуляр. биология*. — 1991. — **25**. — С. 442–449.
  48. Matyacek R., Fulnecek J., Lim K.Y. et al. Evolution of 5S rDNA unit arrays in the plant genus *Nicotiana* (*Solanaceae*) // *Genome*. — 2002. — **45**, № 3. — P. 556–562.
  49. Lim K.Y., Kovarik A., Matyasek R., Bezdek M., Lichtenstein C.P., Leitch A.R. Gene conversion of ribosomal DNA in *Nicotiana tabacum* is associated with undermethylated, decondensed and probably active gene units // *Chromosoma*. — 2000. — **109**. — P. 161–172.
  50. Борисюк М.В., Каневський І.Ф., Глеба Ю.Ю. Успадкування і організація рДНК у соматичних гібридах *Nicotiana tabacum* + *Atropa belladonna* // *Доп. АН УРСР. Сер. Б*. — 1987. — № 10. — С. 59–62.
  51. Borisjuk N.V., Momot V.P., Gleba Y.Y. Novel class of rDNA repeat units in somatic hybrids between *Nicotiana* and *Atropa* // *Theor. Appl. Genet.* — 1988. — **76**. — C. 108–112.
  52. Gleba Y.Y., Hinnisdaels S., Sidorov V.A., Parokonny A.S., Borisjuk N.V., Cherep N., Negrutiu I., Jacobs M. Intergeneric asymmetric hybrids between *Nicotiana plumbaginifolia* and *Atropa belladonna* obtained by «gamma-fusion» // *Theor. Appl. Genet.* — 1988. — **76**. — C. 760–766.
  53. Борисюк Н.В. Генетическая конституция ядерных геномов соматических гибридов. — М.: ВИНТИ, 1988. — С. 73–113. (Итоги науки и техники; т. 9).
  54. Miroshnichenko G.P., Borissjuk N.V., Volkov R.A., Gleba Y.Y. Les sequences repetitives des AND chez *Arabidopsis thaliana*, *Brassica campestris* et leur hybride somatique, *Arabidobrassica* // *Arabidopsis Inform. Serv.* — 1988. — **26**. — P. 15–28.
  55. Hemleben V., Zanke C., Panchuk I.I., Volkov R.A. Repetitive elements as molecular markers in potato breeding // *Beiträge Züchtungsforsch.* — 1998. — **4**. — P. 61–66.

Надійшла 10.06.02