

С.І. КОМАРНИЦЬКИЙ, І.К. КОМАРНИЦЬКИЙ

Інститут клітинної біології
та генетичної інженерії НАН України, Київ

ГЕНЕТИЧНА ВАРІАБЕЛЬНІСТЬ СЕРЕД ВИДІВ *SOLANUM* І *LYCOPERSICON*, ВСТАНОВЛЕНА РЕСТРИКТНИМ АНАЛІЗОМ АМПЛІФІКОВАНИХ ФРАГМЕНТІВ ХЛОРОПЛАСТНОЇ ДНК



Для побудови кладограми серед 23 видів родів *Lycopersicon* і *Solanum* використали рестриктний аналіз 10 ампліфікованих ділянок хлоропластної ДНК (хлДНК). В результаті отримано дерево з трьома кластерами. До першого кластера віднесені всі види *Lycopersicon* і *S. lycopersicoïdes*, до другого — *S. verrucosum*, поліплоїди серії *Longipedicellata*, диплоїди і поліплоїди Південної Америки, до третього кластера включені диплоїди серії *Pinnatisecta* і *Bulbocastana*. Філогенетична побудова в основному узгоджується з висновками на основі морфологічних і молекулярних маркерів. Поєднання ампліфікації окремих ділянок хлДНК родів *Lycopersicon* і *Solanum* з їх наступним рестриктним аналізом є альтернативою ПДРФ.

© С.І. КОМАРНИЦЬКИЙ, І.К. КОМАРНИЦЬКИЙ, 2004

Вступ. Згідно з класичними дослідженнями родина *Solanaceae* містить біля 2300 видів, розподілених по підродинах *Cestroideae*, *Nolanoideae* і *Solanoideae* [1]. До останньої належать роди *Solanum* і *Lycopersicon*. З огляду на їх широке поширення і загальне використання види цих родів давно стали об'єктом інтенсивного вивчення. Різноманітні дослідження стосувалися морфології і таксономії [1–5], варіабельності поліпептидного складу великої та малої субодиниць рубіско [6, 7], їх хлоропластних геномів [8, 9]. За здатністю гібридизуватись між собою види роду *Lycopersicon* поділені на дві групи. До перуанської групи належать *L. chilense* і *L. peruvianum*, решта видів (*L. esculentum*, *N. chmielewskii*, *L. hirsutum*, *L. parviflorum*, *L. cheesmanii*, *L. pimpinellifolium* і *S. pennellii*) — до групи культурного томата [3].

До бульбоносних представників роду *Solanum* входить відносно мала група рослин (228 видів) в порівнянні з загальною кількістю видів, які належать до родини. Вони об'єднані в секцію *Petota* і віднесені до 19-ї таксономічної серії [2]. Рестриктним аналізом класифікована хлДНК картоплі на п'ять типів [10]. Опубліковано ще кілька робіт, в яких аналогічним методом спробували встановити взаємовідносини між видами картоплі [11–17]. Незважаючи на це в літературі продовжується дискусія про походження окремих поліплоїдів і залишається також відкритим питання про взаємовідносини між диплоїдними видами, які належать до різних серій. Виходячи з цього, ми поєднали ампліфікацію окремих ділянок хлДНК з наступним їх рестриктним аналізом [18–22], а результати порівняли з такими, що отримані на основі ПДРФ хлДНК родів *Lycopersicon* і *Solanum*.

Матеріали і методи. Матеріалом служили представники роду *Solanum* і *Lycopersicon* (табл. 1). Загальну ДНК виділяли згідно з [23]. Ампліфікацію хлоропластних ділянок проводили, як описано раніше [21], з використанням пари праймерів для ампліфікації ділянки *matK* між першим і другим екзоном гена *trnK*, що кодує ген тРНК лізину [18]. Некодуюча ділянка *atpH-atpI*, ампліфікована іншою парою праймерів [18], містила міжгенний спейсер між 3'-кінцем *atpH* і 5'-кінцем *atpI*, останній ген кодує IV субодиницю АТФази. Ділянку між генами *trnS* (кодує тРНК серину) і *trnfM* (кодує тРНК формілметіоніну) ампліфікували третьою

парою праймерів згідно з рекомендацією [24]. Для ампліфікації ділянки *trnV-rps7* і *trnL-ndhD* ми використали пару праймерів, запропоновану проф. Коопом з Мюнхенського університету. Інша пара праймерів ампліфікувала ділянку між 3' *16S rDNA* — 5' *trnA*. Послідовність форвардного праймера для ампліфікації 16S рДНК взята з роботи Wongkaew et al. [25]. Реверсний праймер на 5' *trnA* підібраний нами на основі первинної структури хлДНК *N. tabacum*. Ділянку *atpA-atpH* ампліфікували праймерами, наведеними в табл. 2. Ампліфікований фрагмент в цьому випадку містить спейсер між другим екзоном гена *atpA* (кодує альфа-субодиницю АТФази) і 5'-кінцем гена *atpH*, що кодує III субодиницю АТФази. Некодуючі послідовності *atpB-rbcL* і *trnT-trnL* ампліфікували праймерами, які запропонували Savolainen et al.

[26] і Taberlet et al. [27] відповідно. Після завершення реакції 1,5–2 мкл ампліфікованого продукту гідролізували рестриктазами *AluI*, *BglI*, *BglII*, *BamHI*, *ClaI*, *Ecl136*, *EcoRI*, *EcoRV*, *Eco47I*, *DraI*, *HaeII*, *HaeIII*, *HincII*, *HindIII*, *HhaI*, *HpaI*, *HpaII*, *MnlI*, *MvaI*, *NdeI*, *NcoI*, *PaeI*, *PvuII*, *RsaI*, *SspI*, *StyI*, *TagI*, *XbaI*, *XhoI* в загальному об'ємі 15 мкл. Рестриктні фрагменти фракціонували в агарозному гелі в трис-боратній буферній системі. Електрофоретичні профілі кожного виду оцінювали візуально і кодували бінарно: наявність або відсутність фрагмента позначали відповідним записом «1» чи «0». Матрицю відмінностей формували за допомогою програми RESTDIST з подальшим її використанням у програмі побудови філогенетичного дерева UPGMA. Філогенетичне дерево підготували до друку за допомогою програми

Класифікація диких і культурних видів картоплі [2] та томату [3]

Таблиця 1

Рід, секція, суперсерія	Серія	Вид	Хромосоми x = 12
<i>Lycopersicon</i>			
<i>Eriopersicon</i>		<i>L. cheesmanii</i>	2x
		<i>L. pimpinellifolium</i>	2x
		<i>L. esculentum</i>	2x
		<i>L. hirsutum</i>	2x
<i>Eriopersicon</i>		<i>L. chilense</i>	2x
		<i>L. peruvianum sv.typicus</i>	2x
		<i>L. peruvianum sv.dentatum</i>	2x
		<i>L. peruvianum sv.grandulosum</i>	2x
<i>Neolycopersicon</i>		<i>S. pennellii</i>	2x
<i>Solanum</i>	<i>Juglandifolia</i>	<i>S. rickii</i>	2x
<i>Petota</i>			
<i>Stellata</i> (primitive)	<i>Bulbocastana</i>	<i>S. lycopersicoides</i>	2x
	<i>Pinnatisecta</i>	<i>S. bulbocastanum</i>	2x
		<i>S. jamesii</i>	2x
		<i>S. pinnatisectum</i>	2x
		<i>S. cardiophyllum</i>	2x
<i>Stellata</i> (advanced)	<i>Yungasensa</i>	<i>S. chacoense</i>	2x
<i>Rotata</i> (primitive)	<i>Acaulia</i>	<i>S. acaule</i>	4x
	<i>Tuberosa</i> (дикі)	<i>S. oplocense</i>	6x
		<i>S. microdontum</i>	2x
		<i>S. verrucosum</i>	2x
		<i>S. simplicifolium</i>	2x
<i>Rotata</i> (advanced)	<i>Longipedicellata</i>	<i>S. vallis-mexici</i>	3x
	<i>Tuberosa</i> (культурні)	<i>S. stoloniferum</i>	4x
		<i>S. papita</i>	4x
		<i>S. tuberosum ssp.tuberosum</i>	4x

DRAWGRAM. Всі програми були взяті з пакету програм PHYLIP (версія 3.6) [28].

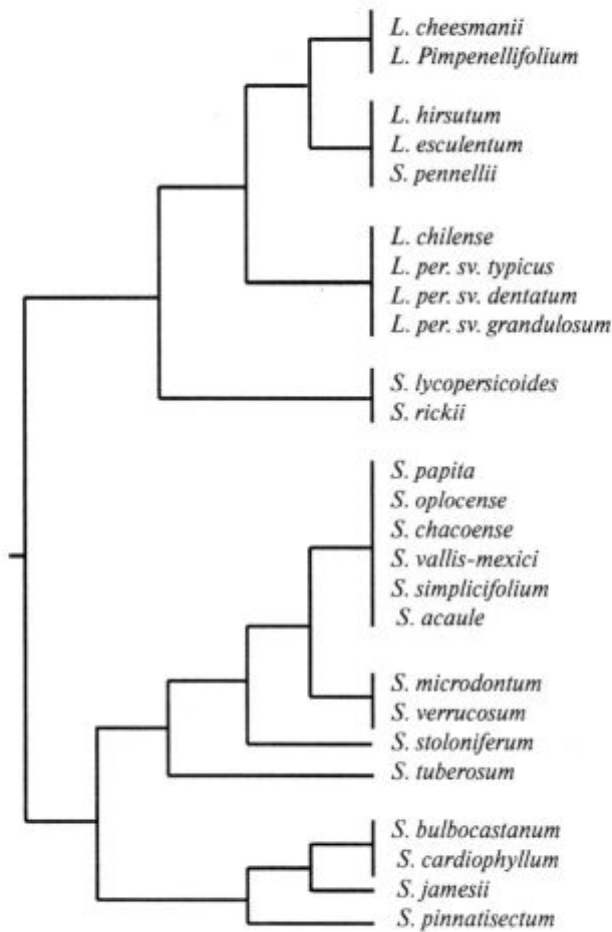
Результати досліджень та їх обговорення. Всього ідентифіковано 25 мутацій в сайтах рестрикції ампліфікованих фрагментів хлДНК. Для побудови дерева використали мутації, які були спільними для двох або більше видів. Даній вимозі відповідало 12 виявлених мутацій. Сформовану програмою RESTDIST матрицю відмінностей використали для побудови філогенетичного дерева UPGMA з метою аналізу родинних зв'язків в межах *Solanum* і *Lycopersicon*. На основі локалізації рестриктних сайтів в ампліфікованих ділянках хлДНК ми згрупували проаналізовані види *Solanum* і *Lycopersicon* у три кластери (рисунок). У верхній частині дерева формується кластер, в якому знаходяться культурний і дикі види томатів, а також один представник роду *Solanum*, *S. lycopersicoides*. До одного підклстера віднесені перуанські види, а до іншого — решта видів роду. Поділ томатів на два кластери зумовила унікальна мутація на ділянці *trnV-rps3* перуансь-

ких видів, яка призвела до втрати одного з двох *BglII* сайтів рестрикції. Що стосується *S. pennellii*, то спочатку вид був віднесений до секції *Petota*, серія *Juglandifolia* [4], а згодом був рекласифікований в нову секцію *Neolycopersicon* роду *Lycopersicon* [29]. І цілком слушно, бо згідно з нашим аналізом хлДНК *S. pennellii* набагато більше подібна до *Lycopersicon*, ніж до *Solanum*. *S. pennellii* добре гібридується з *S. esculentum*, *S. cheesmanii*, *S. pimpinellifolium*, *S. hirsutum* і *S. lycopersicoides* і не гібридується з іншими видами *Solanum* [3]. З кладограми видно, що два з трьох видів *Solanum*, небульбоносні *S. rickii* і *S. lycopersicoides*, мають монофілетичне походження відносно томатів. Згідно з літературними даними, *S. lycopersicoides* гібридується з *S. esculentum*, *S. pimpinellifolium* і *S. cheesmanii* і не дає гібридів з рештою видів *Solanum*. *S. rickii* також не гібридується з видами картоплі, але гібридується з *S. lycopersicoides* [3]. Отримані нами результати однозначно вказують на те, що *S. lycopersicoides* відносно ближчий до *Lycopersicon*, ніж до *Solanum*. Розподіл томатів на гру-

Таблиця 2

Характеристика використаних праймерів

Ділянка <i>N. tabacum</i>	Послідовність 5'–3'	Позиції на хлДНК	Розмір ділянки
matK	AACCCGGAAGTAGTCGGATGTCA ATGGTAGAGTACTCGGC	1828–1847 4377–4396	2569
atpA-atpH	CGTCAGCTCGAATGGTTACCACT TCCGTTATTGCTGCTGGA	12127–2148 14058–4077	1951
atpH-atpI	TTGACCAACTCCAGGTCCAACCG CAGCTTATATAGGCGAA	14016–4045 15278–5297	1282
trnS-trnfM	GAGAGAGAGGGATTTCGAACCCA TAACCTTGAGGTCACGGG	37142–6161 38376–8395	1254
trnT-trnL	CATTACAAATGCGATGCTCTTCTA CCGATTTCCGCATATC	48546–8565 49299–9318	773
atpB-rbcL	GAAGTAGTAGGATTGATTCTCTA CAGTTGTCCATGTACCAG	54548–7387 57413–9169	1047
16S rDNA-trnA	CAGGTGGTGCATGGCTGTCGTC TAAGCGGACTCGAACTGCTGA	103753–103774 106149–106169	2417
trnL-ndhD	GTAGACACGCTGCTCTTAGGCGC CAGATGTTCTATGGATAC	116161–116240 117523–119025	1536
trnV-rps7	CAGGCTCGAACTGATGACTTCGC AATACGTGGACTAACTCCC	140104–140126 142811–142831	2728
rpl2-matK	AGCACACGCAATGGAACCGTCCA ACTAGTTCCGGGTTCTGA	154426–154445 1825–1844	3358



Кладограма, збудована на основі рестриктного аналізу ампліфікованих фрагментів хлДНК та методу UPGMA

пи, отримані на основі даної роботи, загалом підтримує схему, яку запропонували морфологи [3]. Наша схема частково не співпадає з такою, що сформована за результатами рестриктного аналізу хлДНК роду *Lycopersicon* і двох видів *Solanum*, *S. lycopersicoides* і *S. juglandifolium* [30]. Різниця полягає в тому, що *L. hirsutum* і *S. pennellii* групуються з перуанськими видами, тоді як в нашому випадку — з групою культурного томата.

На противагу *Lycopersicon* важливу роль у виникненні культурної картоплі і її диких родичів відіграла гібридизація [31–34]. Секція *Petota* відносно молода за віком і поділена на суперсерії *Stellata* і *Rotata* [2], серед яких визнають як примітивні, так і прогресивні групи рослин [35]. Розподіл на групи базується на плоідності, кольорі віночка, його формі і гео-

графічному поширенні. Згідно з ними [35] секція *Petota* виникла в Мексиці і Центральній Америці («primitive *Stellata*»). Деякі з них на початку еоцену мігрували у Південну Америку. Там вони еволюціонували до «advanced *Stellata*» (серія *Yungasensa*) і далі через «primitive *Rotata*» (наприклад, південні форми серій *Tuberosa* і *Connicibaccata*), до «advanced *Rotata*» (наприклад, центральні і північні форми серій *Tuberosa* і *Connicibaccata*, серія *Acaulia*). Диплоїди «advanced *Rotata*» могли реемігрувати в північ через Центральну Америку до Мексики (*S. verrucosum*) і, гібридизуючись з тутешніми видами (серія *Longipedicellata*), дали гексаплоїди серії *Demissa*. Крім експериментальної гібридизації [36], для переоцінки гіпотези гібридного видоутворення у картоплі найчастіше використовують ознаки хлДНК [10–12, 14, 17]. Застосування даного методу дозволило встановити родинні зв'язки серед багатьох видів картоплі [14, 37, 38]. Слід відзначити, що не завжди вдається встановити походження окремих видів за допомогою молекулярних методів. Саме молекулярна переоцінка показала, що *S. raphanifolium* не має гібридних властивостей його можливих попередників *S. canasense* і *S. megistacrolobum* [15].

Незважаючи на те, що хлДНК *L. esculentum* і *S. tuberosum* досить консервативна [16, 39], поєднання ампліфікації окремих ділянок хлДНК з їх рестриктним аналізом дозволило нам розділити види *Solanum* на два кластери. Відокремлення видів *Solanum* від *Lycopersicon* на кладограмі зумовлено сьомома мутаціями, які локалізовані в семи ампліфікованих ділянках: *trnS-trnfM*, *16SrDNA-trnA*, *atpA-atpH*, *trnL-ndhD*, *atpB-rbcL*, *trnT-trnL* і *matK*. Гідроліз даних ділянок *MnII*, *BamHI*, *StyI*, *DraI*, *DraI*, *TagI* і *HpaII* відповідно чітко відрізняє рід *Lycopersicon* від *Solanum*. *S. lycopersicoides* має одну спільну мутацію з картоплею, а *S. rickii* — дві, тоді як у *S. pennellii* вони відсутні. Це ще раз свідчить про те, що хлДНК цих видів ближча до *Lycopersicon*, ніж до *Solanum*. Ми вважаємо, що на основі даних результатів слід віднести *S. lycopersicoides* до секції *Neolycopersicon* роду *Lycopersicon*.

До найбільшого за чисельністю видів кластера належать представники різних серій, серед яких зустрічаємо як північно-американські (*S. verrucosum*, *S. papita*, *S. stoloniferum*, *S. vallis-mexici*), так і південно-американські види (*S. oplo-*

cense, *S. simplicifolium*, *S. acaule*, *S. microdontum* і *S. chacoense*). Одними з перших, хто використав ПДРФ хлДНК для побудови філогенетичного дерева між бульбоносними видами картоплі, були Nasaka et al. [14], які показали, що до одного з кластерів віднесені як південно-американські види, так і мексиканські поліплоїди, до іншого кластера — лише мексиканські диплоїдні види. Отримані родинні зв'язки відповідали групам видів, які були раніше окреслені на основі їх здатності до схрещування [2]. Дещо пізніше був проведений аналогічний аналіз серед південно-американських і мексиканських видів, які належать до 17 серій. В результаті останнього отримане дерево з чотирма головними кластерами. До першого віднесені центрально-американські і мексиканські диплоїди, крім *S. bulbocastanum*, *S. cardiophyllum* і *S. verrucosum*, до другого кластера — види *S. bulbocastanum* і *S. cardiophyllum*; третій кластер містить південно-американські диплоїди, які належать до різних серій, а до четвертого кластера були віднесені всі центрально-американські і мексиканські поліплоїди, південно-американські диплоїди і поліплоїди з різних серій, а також *S. verrucosum* [37]. На основі рестриктного аналізу хлДНК проаналізували також родинні зв'язки між мексиканськими і центрально-американськими видами дикої картоплі. Показано, що мексиканський диплоїд *S. verrucosum* згрупований в один кластер з мексиканськими поліплоїдами та видами Південної Америки [38]. В нашому випадку даний вид також локалізований на кладограмі з мексиканськими і південно-американськими видами. До цього кластера входить культурна картопля, що має монофілетичне походження до решти видів. Це зумовлено відсутністю *MnII* сайту в *trnS-trfM*. Серед філогенетів існують принаймні дві точки зору на походження *S. tuberosum ssp. tuberosum*. Одні висловили ідею, що вид походить від дикої *S. maglia* [34], інші вважають, що *S. tuberosum ssp. tuberosum* подібний до *S. tuberosum ssp. andigena* і виник від нього [10]. ХлДНК *S. tuberosum ssp. tuberosum* належить до Т-типу, і даний тип притаманний тільки північно-американським і європейським сортам культурної картоплі [12], який виник з W-типу в результаті делеції [12,16]. В свою чергу потомками *S. tuberosum ssp. andigena* по материнській лінії вва-

жають культивуєчі диплоїди *S. goniocalyx* і *S. phureja*. Для їхньої хлДНК і хлДНК *S. tuberosum ssp. andigena* характерна висока варіабельність. В зв'язку з цим було висунуте припущення про багаторазове виникнення *S. tuberosum ssp. andigena* від культивованих диплоїдних популяцій [11], а тому внутрішньовидова варіабельність хлДНК *S. tuberosum ssp. andigena* зумовлена варіабельністю одного з батьківських видів. Аналогічний висновок був зроблений раніше в результаті експериментальної гібридизації між гіпотетичними батьками [36]. В свою чергу хлДНК культивованих диплоїдів походять від *S. stenotomum* або його примітивної форми, а він від *S. canasense* [11, 17]. Отже цілком закономірно, що в нашому випадку культурна картопля на кладограмі займає монофілетичне походження відносно решти аналізованих видів через відсутність в нашому аналізі перелічених попередників картоплі.

Окремий кластер складають мексиканські диплоїди *S. pinnatisectum*, *S. jamesii*, *S. bulbocastanum* і *S. cardiophyllum*. Один з них, *S. bulbocastanum*, належить до серії *Bulbocastana*, тоді як решта видів — до *Pennatisecta*. Незважаючи на те, що *S. cardiophyllum* і *S. bulbocastanum* належать до різних серій, вони відносно ближчі між собою, ніж до інших видів кластера. На перший погляд виглядає нелогічно, що види, які належать до різних серій, сильніше споріднені між собою. Але подібний результат описаний раніше [40]. В обох опублікованих роботах показано, що *S. bulbocastanum* і *S. cardiophyllum* на кладограмі групуються між собою, в той час як *S. pinnatisectum*, *S. jamesii* і *S. cardiophyllum subsp. ehrenbergii* знаходились в кластері з іншими представниками серії *Pinnatisecta*. Виходячи з цього, ми вважаємо, що в нашому випадку маємо справу з *S. cardiophyllum subsp. cardiophyllum*.

Висновки. Наведена нами філогенетична побудова переважно узгоджується з запропонованою раніше систематикою видів родів *Solanum* і *Lycopersicon* на основі морфологічних і молекулярно-біологічних ознак. Безумовно, такого роду філогенетичне дерево не єдиноможливе. Майбутнє залучення більшої кількості ділянок послідовності хлДНК значно підсилить вірогідність отриманих даних. І, врешті, використання полімеразно-ланцюго-

вої реакції для ампліфікації ділянок хлДНК з наступним їх рестриктним аналізом є альтернативною ПДРФ хлДНК для родів *Solanum* і *Lycopersicon*.

SAMMARY. A phylogenetic cladogram for 23 species of genera *Solanum* and *Lycopersicon* was constructed based on restriction analysis of 10 amplified regions of chloroplast DNA. Three major clusters were detected. All *Lycopersicon* species and *S. lycopersicoides* formed the first group. Second cluster was occupied by *S. verrucosum*, polyploid species of series *Longipedicellata*, and all diploid and polyploid species native to South America. Two diploid series *Pinnatisecta* and *Bulbocastana* were grouped together in the last cluster. Previous morphological and molecular markers strongly support this type of phylogenetic analysis. Based on presented results it is evident that combination of chloroplast DNA region amplification and restriction could be a valuable alternative to a standard — RFLP analysis.

РЕЗЮМЕ. Для построения кладограммы среди 23 видов родов *Lycopersicon* и *Solanum* использовали рестриктный анализ амплифицированных участков хлоропластной ДНК. В результате получено дерево с тремя кластерами. К первому кластеру отнесены все виды *Lycopersicon* и *S. lycopersicoides*, ко второму — *S. verrucosum*, полиплоиды серии *Longipedicellata*, диплоиды и полиплоиды Южной Америки, третий класс составляют диплоиды серий *Bulbocastana* и *Pennatisecta*. Филогенетическое дерево в основном согласуется с выводами на основе морфологических и молекулярных маркеров. Совмещение амплификации отдельных участков хлоропластной ДНК рода *Lycopersicon* и *Solanum* с последующим рестриктным анализом является альтернативой ПДРФ.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. D'Arcy W.G. The Solanaceae since 1976, with a review of its biogeography // *Solanaceae III: Taxonomy, Chemistry, Evolution*. — London, 1991. — P. 75–137.
2. Hawkes J.D. The potato: evolution, biodiversity and genetic resources. — London: Belhamen Press, 1990. — 250 p.
3. Rick C.M. Biosystematic studies in *Lycopersicon* and closely related species // *The biology and taxonomy of the Solanaceae*. — London: Acad. press, 1979. — P. 667–677.
4. Correll D.S. A new species and some nomenclatural changes in *Solanum*, section *Tuberarium* // *Madrano*. — 1958. — **14**. — P. 232–236.
5. Hawkes J.D. Evolution and polyploidy in potato species // *The biology and taxonomy of the Solanaceae*. — London: Acad. press, 1979. — P. 637–645.
6. Gatenby A.A., Cocking E.C. Fraction I protein and the origin of the European potato // *Plant Sci. Lett.* — 1978. — **12**. — P. 177–181.
7. Gatenby A.A., Cocking E.C. The polypeptide composition of the subunit of fraction I protein in the genus *Lycopersicon* // *Plant Sci. Lett.* — 1978. — **13**. — P. 171–176.
8. Phillips A.L. Restriction map and clone bank of tomato plastid DNA // *Curr. Genet.* — 1985. — **10**. — P. 147–152.
9. Heinhorst S., Gannon G.C., Galun E., Kenschaff L., Weissbach A. Clone bank and physical and genetic map of potato chloroplast DNA // *Theor. Appl. Genet.* — 1988. — **75**. — P. 244–251.
10. Hosaka K., Hanneman R.E. The origin of the cultivated tetraploid potato based on chloroplast DNA analysis // *Theor. Appl. Genet.* — 1988. — **76**. — P. 172–176.
11. Hosaka K., Hanneman R.E. Origin of chloroplast DNA diversity in the Andean potatoes // *Theor. Appl. Genet.* — 1988. — **76**. — P. 333–340.
12. Hasaka K., de Zoeten G.A., Nanneman R.E. Jr. Cultivated potato chloroplast DNA differs from the wild type by one deletion—Evidence and implications // *Theor. Appl. Genet.* — 1988. — **75**. — P. 741–745.
13. Buckner B., Hyge B.B. Chloroplast DNA variation between the common cultivated potato (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum*) and several South American relatives // *Theor. Appl. Genet.* — 1985. — **71**. — P. 527–536.
14. Hasaka K., Ogihara Y., Matsubayashi M., Tsunewaki K. Phylogenetic relationship between the *Solanum* species as related by restriction endonuclease analysis of chloroplast DNA // *Jap. J. Genet.* — 1984. — **59**. — P. 349–369.
15. Spooner D.M., Sytsma K.J., Smith J.F. A molecular reexamination of diploid hybrid speciation of *Solanum raphanifolium* // *Evolution*. — 1991. — **45**. — P. 757–764.
16. Kawagoe Y., Kikuta Y. Chloroplast evolution in potato // *Theor. Appl. Genet.* — 1991. — **81**. — P. 13–20.
17. Hosaka K. Who is the mother of the potato? Restriction endonuclease analysis of chloroplast DNA of cultivated potato // *Theor. Appl. Genet.* — 1986. — **72**. — P. 606–618.
18. Tmusura Y., Kawahara T., Wickneswari R., Yishimura K. Molecular phylogeny of Dipterocarpaceae in Southeast Asia using RFLP of PCR-amplified chloroplast genes // *Theor. Appl. Genet.* — 1996. — **93**. — P. 22–29.
19. Parducci L., Szmidt A.E. PCR-RFLP analysis of cpDNA in the genus *Abies* // *Theor. Appl. Genet.* — 1999. — **98**. — P. 802–808.
20. Parani M., Lakshmi M., Ziegenhagen B., Fladung M., Senthilkumar P., Parida A. Molecular phylogeny of mangroves VII. PCR-RFLP of *trnS-trnC* and *rbcL* gene region in 24 mangrove and mangrove-associate species // *Theor. Appl. Genet.* — 2000. — **100**. — P. 454–460.
21. Комарницький С.І., Комарницький І.К. Рестриктний поліморфізм ампліфікованих послідовностей хлоропластної ДНК роду *Nicotiana* // *Біополімери і клітина*. — 2002. — **18**. — С. 485–488.
22. Комарницький С.І., Комарницький І.К. Рестриктні варіації ампліфікованих послідовностей хлоропластної ДНК роду *Nicotiana* // *Цитологія і генетика*. — 2003. — **37**, № 1. — P. 18–23.

23. Cheung W.Y., Hubert N., Landry B.S. A simple and rapid DNA microextraction method for plant, animal and insect suitable for RAPD and other PCR analysis // PCR Meths. Appl. — 1993. — 3. — P. 69–70.
24. Demesure B., Sodji N., Petit R.J. A set universal primers for amplification of polymorphic non-coding region of mitochondrial and chloroplast DNA in plant // Mol. Ecol. — 1995. — 4. — P. 129–131.
25. Wongkaew P., Hanboonsong Y., Sirithorn P., Chaasai C., Boonkrong S., Tinnangwattana T., Kitchareonpanya R., Damak S. Differentiation of phytoplasmas associated with sugarcane and gramineous weed wheti leaf disease and sugarcane grassy shoot disease by RFLP and sequencing // Theor. Appl. Genet. — 1997. — 95. — P. 660–663.
26. Savolainen V., Corbar R., Moncousin C., Spichiger R., Manen J-F. Chloroplast DNA variation and parentage analysis in 55 apples // Theor. Appl. Genet. — 1995. — 90. — P. 1138–1141.
27. Taberlet P., Gielly L., Pautou G., Bouvet J. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA // Plant Mol. Biol. — 1991. — 17. — P. 1105–1109.
28. Felsenstein J. PHYLIP — Phylogeny Inference Package. Version 3.6–2000.
29. Correll D.S. The potato and its wild relatives // Renner, Texas Research Foundation. — 1962.
30. Palmer J.D., Zamir D. Chloroplast DNA evolution and phylogenetic relationships in *Lycopersicon* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1982. — 79. — P. 5006–5010.
31. Hawkes J.G. Introgression in certain wild potato species // Euphytica. — 1962. — 11. — P. 26–35.
32. Ugent D. The potato, what is origin of this important crop plant, and how did it first became domesticated? // Science. — 1970. — 170. — P. 1217–1237.
33. Ugent D. *Solanum raphanifolium*, a Peruvian wild potato species of hybrid origin // Bot. Gaz. (Grawfordrdsville). — 1970. — 131. — P. 225–233.
34. Ugent D., Dikkechay T., Ramirez C. Potato remains from late Pleistocene settlement in south-central Chile // Econ. Bot. — 1987. — 41. — P. 17–27.
35. Hawkes J.G., Jackson M.T. Taxonomic and evolutionary implications of the endosperm balnce number hypothesis in potatoes // Theor. Appl. Genet. — 1992. — 24. — P. 180–185.
36. Cribb P.J., Hawkes J.G. Experimental evidence for the origin of *Solanum tuberosum* subspecies *andigena* // Solanaceae, biology and systematics. — New York : Columbia Univ. Press, 1986. — P. 383–404.
37. Spooner D.M., Castillo T.R. Reexamination of series relationships of South American wild potatoes (*Solanaceae: Solanum* sect. *Petota*): evidence from chloroplast restriction site variation // Amer. J. Bot. — 1997. — 84. — P. 671–685.
38. Spooner D.M., Sytsma K.J. Reexamination of series relationships of mexican and central american wild potatoes (*Solanum* sect. *Petota*): evidence from chloroplast DNA restriction site variation // Syst. Bot. — 1992. — 17. — P. 432–448.
39. Комарницький С.І., Комарницький І.К. Філогенія хлоропластної ДНК 18 видів родини *Solanaceae* // Цитологія и генетика. — 2003. — 37, № 6. — С. 17–22.
40. Rodriguez A., Spooner D.M. Chloroplast DNA analysis of *Solanum bulbocastanum* and *S. cardiophyllum*, and evidence for the distinctiveness of *S. cardiophyllum* subsp. *ehrenbergii* (sect. *Petota*) // Syst. Bot. — 1997. — 22. — P. 31–43.

Надійшла 11.06.04