

ФІЛОГЕНІЯ ХЛОРОПЛАСТНОЇ ДНК 18 ВИДІВ РОДИНИ *SOLANACEAE*



Посидання полімеразно-ланцюгової реакції з рестриктивним аналізом ампліфікованих ділянок хлоропластної ДНК дозволило проаналізувати філогенетичні зв'язки між 18 видами пасльонових, що належать до дев'яти триб цієї родини. Філогенетичне дерево, збудоване за методом UPGMA, було в основному аналогічним до висновків, зроблених на основі морфологічних досліджень. Кластерний аналіз показав, що *Mandragora* має монофілетичне походження. *Schizantus* і *Capsicum* винесені за межі кластерів.

© С.І. КОМАРНИЦЬКИЙ, І.К. КОМАРНИЦЬКИЙ, 2003

Вступ. Згідно з класичними дослідженнями родина *Solanaceae* містить 2297 видів, розподілених по підродинах *Cestroideae*, *Nolanoideae* і *Solanoideae*. Перша підродина має п'ять триб (34 роди з 529 видами). До другої підродини належать дві триби (2 роди з 22 видами). До третьої підродини відносять вісім триб (60 родів з 1746 видами) [1]. З огляду на їх широке поширення і загальне використання види цієї родини давно стали об'єктом інтенсивного вивчення. Різноманітні дослідження стосувалися морфології, цитогенетики і таксономії [1–3], варіабельності поліпептидного складу великої та малих субодиниць рубіско [4, 5], їх хлоропластних геномів [6–10]. В останні роки ампліфікація окремих ділянок хлДНК з наступним їх рестриктивним аналізом [11–15] виявилася досить ефективною і інформативною. Такий підхід дозволив прослідкувати за рухом цитоплазми природних амфіплоїдів роду *Nicotiana* [14, 15]. Ця обставина спонукала нас проаналізувати окремі ділянки хлДНК різних видів родини *Solanaceae* і використати отримані результати для встановлення взаємовідносин між ними.

Матеріали і методи. Матеріалом служили 18 представників родини *Solanaceae*, що належать до двох підродин (табл. 1). Загальну ДНК виділяли за методом Cheung et al. [16] з 25–50 мг проростків або листків, зібраних на території ботанічного саду К'ю (Англія) у 1995 р. Полімеразно-ланцюгову реакцію проводили, як описано раніше [14], з використанням пари праймерів для ампліфікації ділянки *matK* між першим і другим екзонами гена *trnK*, що кодує ген тРНК лізину [11]. Некодуюча ділянка *atpH-atpI*, ампліфікована іншою парою праймерів [11], містила міжгенний спейсер між 3'-кінцем *atpH* і 5'-кінцем *atpI*, останній ген кодує IV субодиницю АТФази. Ділянку між геном *trnS* (кодує тРНК серину) і *trnM* (кодує тРНК формілметіоніну) ампліфікували третьою парою праймерів [17]. Для ампліфікації ділянки *trnG-atpA* (1929 п.н.) між першим екзоном гена *trnG* (кодує тРНК гліцину) і першим екзоном *atpA* підібрана пара праймерів, яка ампліфікувала послідовність розміром біля 520 п.н. 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 рДНК — 5' *trnA*. Послідовність фор-

Таблиця 1
Види родини *Solanaceae*
(назва і класифікація згідно з [1])

| Підродина, триба | Рід | Вид |
|------------------------|---------------------|---------------------------|
| <i>Cestroideae</i> | | |
| <i>Cestreae</i> | <i>Cestrum</i> | <i>C. parqui</i> |
| <i>Nicotianeae</i> | <i>Nicotiana</i> | <i>N. tabacum</i> |
| | <i>Petunia</i> | <i>P. axillaris</i> |
| <i>Salpiglossideae</i> | <i>Salpiglossis</i> | <i>S. sinuata</i> |
| | <i>Schizanthus</i> | <i>S. hookeryi</i> |
| <i>Solanoideae</i> | | |
| <i>Datureae</i> | <i>Datura</i> | <i>D. stramonium</i> |
| <i>Hyoscyameae</i> | <i>Hyoscyamus</i> | <i>H. album</i> |
| | <i>Physochlaina</i> | <i>P. orientalis</i> |
| | <i>Scopolia</i> | <i>S. corniolicola</i> |
| <i>Jaborasae</i> | <i>Salpichroa</i> | <i>S. rhomboidea</i> |
| <i>Lycieae</i> | <i>Licium</i> | <i>L. barbarum</i> |
| <i>Nicandreae</i> | <i>Nicandra</i> | <i>N. physaloides</i> |
| <i>Solaneae</i> | <i>Atropa</i> | <i>A. belladonna</i> |
| | <i>Capsicum</i> | <i>C. annum</i> |
| | <i>Lycopersicon</i> | <i>L. esculentum</i> |
| | <i>Mandragora</i> | <i>M. species</i> |
| | <i>Physalis</i> | <i>P. phyladelphianum</i> |
| | <i>Solanum</i> | <i>S. tuberosum</i> |

вардного праймера на 16S рДНК взята з роботи Wongkaew et al. [18]. 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 *trnT-trnL* і *atpB-rbcL* ампліфікували праймерами, які запропонували Savolainen et al. [19] і Taberlet et al. [20] 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 DRAWTREE. Всі програми були взяті з пакету програм PHYLIP (версія 3.6) [21].

Результати досліджень та їх обговорення. Ампліфіковано 11 ділянок хлДНК видів родини *Solanaceae*, 8 з яких знаходяться у великій, одна в малій унікальних копіях, а решта — в інвертованому повторі хлДНК. Ампліфіковані ділянки різних видів не відрізнялися істотно за розміром, крім винятків: ділянка *atpA-atpH* *Schizanthus* приблизно на 200 п.н. коротша від решти видів, тоді як послідовність *trnS-trnM* коротша на 100 п.н. у *Mandragora*. Розмір спейсера *trnT-trnL* у кількох видів був ідентичним до *Nicotiana* (773 п.н.). На відміну від них у *Mandragora* він коротший на 100 п.н., а у решти видів його розмір сягав більше 800 п.н. Ділянка розміром 520 п.н. не ампліфікувалася у *Solanum*, *Lycopersicon*, *Physalis*, *Physochlaina*, тоді як в *Licium*, *Schizanthus*, *Salpichroa* і *Datura* не ампліфікувалася послідовність гена *matK*. Спейсер *atpH-atpI* у *Hyoscyamus* і *Mandragora* виявився коротшим на 100 п.н., а ампліфікована ділянка між генами *trnV-rps7* з інвертованого повтору *Schizanthus* містила делецію розміром 200 п.н.

Рестриктний аналіз ампліфікованих ділянок показав, що рестриктаза *DraI* гідролізує спейсер *trnL-ndhD* видів роду *Nicotiana* на два фрагменти (699+837 п.н.). Аналогічні фрагменти має тільки рід *Scrophularia*, який належить до родини Норичникових. Відповідна ділянка в хлДНК родів *Atropa*, *Scopolia*, *Physochlaina* і *Hyoscyamus* містить по два рестриктні сайти для *DraI* (750+349+237 п.н.). Решта рослин мають також по два *DraI* сайти на цій ділянці, але розмір їх фрагментів дещо інший (699+600+237 п.н.). Рестриктаза *SspI* відрізняє ділянку *trnL-ndhD* родів *Scopolia*, *Hyoscyamus* і *Nicandra* (540+490+150+347 п.н.) від решти проаналізованих видів (540+649+347 п.н.). На цій ділянці унікальний *AluI* набір фрагментів мають роди *Nicotiana* (609+65+837+25 п.н.), *Capsicum* (474+200+837+25 п.н.) і *Mandragora* (1115+25 п.н.) у порівнянні з іншими видами (674+837+25 п.н.). Види, що належать до триби *Solaneae*,

Таблиця 2

Характеристика використаних праймерів

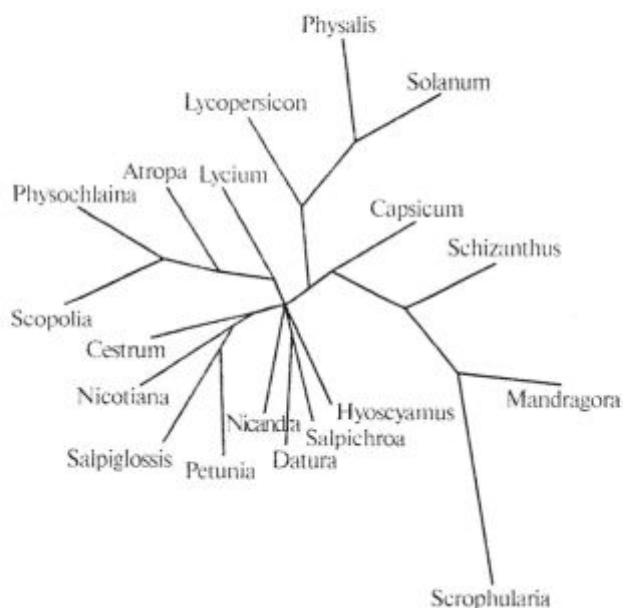
| Ділянка <i>N.tabacum</i> | Послідовність 5' - 3' | Позиції на хлДНК | Розмір ділянки |
|--------------------------|---|--------------------------------|----------------|
| <i>matK</i> | AACCCGGAAGTAGTCGGATG TCAATGGTAGAGTACTCGGC | 1828–1847 4377–4396 | 2569 |
| <i>trnG-atpA</i> | AGCCTTCCAAGCTAACGAGA GTAACCATTCGAGCTGACGA | 10217–10234 12126–12145 | 1929 |
| <i>atpA-atpH</i> | CGTCAGCTCGAATGGTTACCA CTCCGTTATTGCTGCTGGA | 12127–12148 14058–14077 | 1951 |
| <i>atpH-atpI</i> | TTGACCAACTCCAGGTCCAA CCGCAGCTTATATAGGCGAA | 14016–14045 15278–15297 | 1282 |
| <i>trnS-trnfM</i> | GAGAGAGAGGGATTCTGAACC CATAACCTTGAGGTCACGGG | 37142–36161 38376–38395 | 1254 |
| <i>trnT-trnL</i> | CATTACAAATGCGATGCTCT TCTACCGATTTCGCCATATC | 48546–48565 49299–49318 | 773 |
| <i>atpB-rbcL</i> | GAAGTAGTAGGATTGATTCTC TACAGTTGTCCATGTACCAG | 54548–57387 57413–59169 | 1047 |
| <i>16S rDNA-trnA</i> | CAGGTGGTGCATGGCTGTCGTC TAAGCGGACTCGAACTGCTGA | 103753–103774 106149–106169 | 2417 |
| <i>trnL-ndhD</i> | GTAGACACGCTGCTCTTAGG CGCCAGATGTTCTATGGATAC | 116161–116240 117523–119025 | 1536 |
| <i>trnV-rps7</i> | CAGGCTCGAACTGATGACTTC GCAATACGTGGACTAACTCCC | 140104–140126 142811–142831 | 2728 |
| <i>rpl2-matK</i> | AGCACACGCAATGGAACCGT CCAAC TAGTCCGGGTTCTGA | 154426–154445 1825–1844 | 3358 |

мають на ділянці *atpA-atpH* унікальні *EcoRV* фрагменти (600+66+1190+100 п.н.), тоді як у відповідному фрагменті хлДНК роду *Lycium* сайти для цієї рестриктази взагалі відсутні. На ділянці *trnS-trnfM* всі види мають по одному *AluI* сайту (434+820 п.н.), за винятком *Datura*. На цій ділянці хлДНК роду *Cestrum* має два унікальні *BglII* сайти (173+600+481 п.н.), на відміну від решти проаналізованих видів (173+1081 п.н.). Рестриктаза *SspI* на ділянці *trnS-trnfM* відрізняє пластом *Salpiglossis* і *Schizanthus* від інших видів триби *Cestreae*. При гідролізі *atpB-rbcL* рестриктазами *DraI* і *NcoI* можна виявити різницю між родами *Solanum* і *Lycopersicon*. Перший містить два *DraI* сайти (229+700+100 п.н.) і один *NcoI* сайт (680+367 п.н.), тоді як у *Lycopersicon* в обох випадках ці сайти відсутні. Рестриктний аналіз двох ділянок з інвертованого повтору *trnV-rps7* і *16SrDNA-trnA* виявив високу еволюційну консервативність цієї ділянки. Рестриктаза *BamHI* дає унікальні фрагменти у *Capsicum* і *Schizanthus* (984+580+1164

п.н.) по відношенню до решти проаналізованих видів родини (984+426+154+1164 п.н.). У чотирьох видів родини — *Capsicum*, *Lycium*, *Petunia* і *Hyoscyamus* — відсутній *DraI* сайт на ділянці *trnV-rps7*, тоді як у *Capsicum* і *Mandragora* на цій ділянці немає *PvuI* сайту. Гідроліз *trnV-rps7* рестриктазою *HpaII* виявив унікальний набір фрагментів у представників роду *Petunia* (149+650+959+970 п.н.) і *Capsicum* (149+100+550+959+69+901 п.н.) на відміну від решта видів (149+650+959+69+901 п.н.). Ділянка *16SrDNA-trnA* і рестриктаза *BamHI* придатні для розпізнавання пластомів видів родів *Solanum* (653+400+1114+300 п.н.) і *Lycopersicon* (1053+1114+300 п.н.).

Загальний розмір 11 ампліфікованих фрагментів дорівнює 16077 п.н., що складає близько 10 % послідовності хлДНК. Гідроліз цих ділянок дав 795 рестриктних фрагментів, 658 з яких були філогенетично інформативними.

На основі локалізації рестриктних сайтів в ампліфікованих ділянках хлДНК ми згрупували



Дендрограма родинних зв'язків серед 18 видів родини *Solanaceae*. У назвах рослин залишена тільки родова назва

проаналізовані види родини пасльонових у декілька кластерів (рисунок). Для філогенетичного порівняння між видами використано ділянки хлДНК роду *Scrophularia aff. crysanta* — представника філогенетично близької до пасльонових родини норичникових. Найперше треба відзначити факт, що рід *Mandragora* виділяється найближче до роду *Scrophularia*. Аналогічний результат ми отримали раніше, провівши рестриктне картування ядерної рДНК [22]. Ці дані також узгоджуються із загальними висновками морфологів [1,23], які вказують про необхідність перегляду належності роду *Mandragora* до триби *Solaneae*. У верхній частині дерева формується кластер, де *Salpichroa* і *Datura* — сестринські види, від яких іде раннє відгалуження родів *Hyoscyamus* і *Nicandra*. До іншого кластера віднесені представники підродини *Cestroidae*, за виключенням роду *Schizanthus*. *Petunia* і *Salpiglossis* виявилися більш спорідненими між собою, ніж до родів *Cestrum* і *Nicotiana*. Вважають, що останній рід виник за участю родів *Petunia* і *Cestrum* [2]. В нашому випадку пластом роду *Nicotiana* більш подібний до видів роду *Petunia*, ніж до роду *Cestrum*. Одночасно, первинна структура ядерної 5.8S рДНК *Nicotiana* більш подібна до *Cestrum*, ніж до *Petunia* [24]. Якщо *Nicotiana* дійсно виник в результаті гібриди-

зації родів *Cestrum* і *Petunia*, можна зробити висновок, що його пластом походить по материнській лінії від роду *Petunia*, тоді як ядерний матеріал (на прикладі гена 5.8 S рДНК) успадкований від видів роду *Cestrum* в результаті переважної фіксації одного з батьківських варіантів послідовності 5.8S рДНК. До окремого кластера також віднесені представники родів *Scopolia*, *Physochlaina*, *Atropa* і *Lycium*, які систематизуються до окремих триб підродини *Solanoideae*. Останній кластер складається з родів *Physalis*, *Solanum* і *Lycopersicon*, причому *Lycopersicon* менш споріднений до перших двох. Це дещо суперечить висновкам, які отримані на основі аналізу коротких послідовностей хлДНК представників родів *Physalis*, *Solanum*, *Lycopersicon* і *Nicotiana* [25]. В цьому дослідженні роди *Lycopersicon* і *Solanum* були сестринськими по відношенню до родів *Physalis* і *Nicotiana*. Крім представника роду *Mandragora*, поза кластерами опинилися також роди *Capsicum* і *Schizanthus*. Брак морфологічного аналізу не дозволяє пояснити цей виняток.

В доступній нам літературі не так багато робіт, в яких проаналізований широкий спектр видів родини пасльонових. Дослідження еволюційних взаємозв'язків всередині родини на молекулярному рівні здійснені на основі поліпептидного складу великої та малої субодиниць ферменту рубіско представників окремих родів [4, 5, 27]. Було показано, що для великої субодиниці рубіско деяких пасльонових характерні три поліпептиди з різними ізоелектричними точками [5]. На основі хроматограм поліпептидів великої і малої субодиниць рубіско показали, що баклажан виступає найближчим родичем тютюну, перець і томат дещо віддалені від нього, а найдалі стоїть картопля [4]. Щодо галуження родини пасльонових на дві незалежні гілки підродин *Cestroidae* і *Solanoideae*, то Meagher et al. [27] пропонують вважати його рівним з гіпотетичним часом виникнення родини, що, на їхню думку, сталося близько 40 млн років тому. Також були проведені декілька спроб по встановленню еволюційних шляхів розвитку цих видів в межах родини пасльонових і на основі їх хлДНК [28–32]. Аналіз хлоропластного гена роду *Petunia* [28] показав, що він відрізняється від хлДНК роду *Nicotiana* двома де-

леціями по 100 п.н. і двома делеціями по 50 п.н., а також вставкою в 100 п.н. Хлоропластний генотип *Atropa* відрізняється від *Nicotiana* чотирма делеціями, причому одна делеція в 100 п.н. і дві по 50 п.н. були аналогічними, як і у випадку роду петунії. До цієї групи можна також долучити томат [29] і перець [30], чий рестриктні карти хлДНК показали високу подібність з аналогічними картами тютюну та петунії. Більш детально розглянуто еволюцію хлДНК деяких пасльонових у роботі [31]. Автори проаналізували хлДНК восьми видів роду *Lycopersicon* та трьох видів роду *Solanum* за допомогою 25 рестриктаз і отримали 39 різноманітних фрагментів, 14 з яких були філогенетично інформативними. Це дало змогу показати високу консервативність хлДНК цих родів. Більш пізніші дані вказують на те, що томат і картопля ближчі один до одного, ніж кожен з них до тютюну [10, 32].

Взагалі, наведена нами філогенетична побудова переважно узгоджується з запропонованою раніше систематикою видів родини пасльонових на основі морфологічних ознак [1], відмін у групах синтезу тропанових алкалоїдів [26] та з філогенією на основі морфологічної характеристики проростків [3]. Безумовно, що такого роду філогенетичне дерево не єдино можливе. Майбутнє залучення решти ділянок послідовності хлДНК значно підсилить вірогідність отриманих даних і, можливо, допоможе вирішити спірні питання систематики окремих родів за різними філогенетичними схемами.

SUMMARY. Chloroplast DNA of 18 *Solanaceae* species classified into 9 different tribes was analyzed using combined amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis. UPGMA phylogenetic tree was constructed based on the observed data set. In general, the conclusions of this study confirmed the morphology-based classification of these species. Cluster analysis has placed *Mandragora* into a monophyletic branch and grouped *Schizantus* and *Capsicum* into the independent clusters.

РЕЗЮМЕ. Совмещение полимеразно-цепной реакции с рестриктным анализом амплифицированных участков хлоропластной ДНК позволило проанализировать филогенетические связи среди 18 видов пасленовых, принадлежащих к девяти трибам семейства. Филогенетическое дерево, построенное методом UPGMA, в основном аналогично выводам, сделанным на основании морфологических исследований. Кластерный анализ показал, что *Mandragora* имеет монофилетическое происхождение. *Schizantus* и *Capsicum* вынесены за границы кластеров.

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. Goodspeed T.H. The genus *Nicotiana*. — Massachusetts: Waltham, 1954. — 536 p.
3. Bessis J., Guyot M. An attempt to use stomatal characters in systematic and phylogenetic studies of the *Solanaceae* // *Biology and taxonomy of the Solanaceae*. — London, 1979. — P. 321–326.
4. Chen K., Kung S.D., Gray G.C., Wildman S.G. Subunit polypeptide composition of Fraction I protein from various plant species // *Plant. Sci. Let.* — 1976. — 7. — P. 429–434.
5. Kawashima N., Tanabe Y. Comparison of the primary structure of the large and small subunits of the Fraction I protein from *Solanaceae* plants and other families // *Biochem. Syst. Ecol.* — 1975. — 2. — P. 193–199.
6. Kung S.D., Zhu Y.S., Shen G.F. *Nicotiana* chloroplast genome. 3. Chloroplast DNA evolution // *Theor. and Appl. Genet.* — 1982. — 61. — P. 73–79.
7. Salts Y., Herrmann R.G., Peleg N., Lavi U., Frankel R., Beckmann J.S. Physical mapping of plastid DNA variation among eleven *Nicotiana* species // *Theor. and Appl. Genet.* — 1984. — 69. — P. 1–14.
8. Комарницький І.К., Самойлов А.М., Глеба Ю.Ю. Рестриктное картирование хлоропластной ДНК пяти видов *Nicotiana* // *Биополимеры и клетка.* — 1989. — 5. — С. 66–72.
9. Hasaka K., de Zoeten G.A., Nanneman Jr. Cultivated potato chloroplast DNA differs from the wild type by one deletion—Evidence and implications // *Theor. and Appl. Genet.* — 1988. — 75. — P. 741–745.
10. Kawagoe Y., Kikuta Y. Chloroplast evolution in potato // *Theor. and Appl. Genet.* — 1991. — 81. — P. 13–20.
11. Tsumura Y., Kawahara T., Wickneswari R., Yshimura K. Molecular phylogeny of *Dipterocarpaceae* in Southeast Asia using RFLP of PCR-amplified chloroplast genes // *Theor. and Appl. Genet.* — 1996. — 93. — P. 22–29.
12. Parducci L., Schmidt A.E. PCR-RFLP analysis of cpDNA in the genus *Abies* // *Theor. and Appl. Genet.* — 1999. — 98. — P. 802–808.
13. Parani M., Lakshmi M., Ziegenhagen B., Fladung M., Senthilkumar P., Parida A. Molecular phylogeny of mangroves 7. PCR-RFLP of *trnS-trnC* and *rbcL* gene region in 24 mangrove and mangrove-associate species // *Theor. and Appl. Genet.* — 2000. — 100. — P. 454–460.
14. Комарницький С.І., Комарницький І.К. Рестриктний поліморфізм ампліфікованих послідовностей хлоропластної ДНК роду *Nicotiana* // *Биополимеры и клетка.* — 2002. — 18. — С. 485–488.
15. Комарницький С.І., Комарницький І.К. Рестриктні варіації ампліфікованих послідовностей хлоропластної ДНК роду *Nicotiana* // *Цитология и генетика.* — 2003. — 37, № 1 — P. 18–23.
16. 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 analyses // *PCR Meths. Appl.* — 1993. — 3. — P. 69–70.

17. Demesure B., Sodzi 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.
18. Wongkaew P., Hanboonsong Y., Sirithorn P., Chaasai C., Boonkrong S., Tinnangwattana T., Kitchareeoprayua 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. and Appl. Genet.* — 1997. — **95**. — P. 660–663.
19. Savolainen V., Corbar R., Moncousin C., Spichiger R., Manen J.-F. Chloroplast DNA variation and parentage analysis in 55 apples // *Theor. and Appl. Genet.* — 1995. — **90**. — P. 1138–1141.
20. 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.
21. Filkenstein J. PHYLIP — Phylogeny Inference Package. Version 3.6–2000.
22. Комарницький С.І. Рестриктне картування рибосомальних повторів 18 видів родини пасльонових // *Биополимеры и клетка.* — 2000. — **16**. — С. 213–218.
23. Jackson B.P., Berry M.I. *Mandragora*-taxonomy and chemistry of the European species // *The biology and taxonomy of the Solanaceae.* — London, 1979. — P. 505–512.
24. Комарницький С.І., Комарницький І.К., Кокс А., Пароконний А.С. Варіабельність 5.8S рДНК у деяких видів родини *Solanaceae* // *Цитология и генетика.* — 1997. — **31**, № 5 — P. 16–22.
25. Bryan G.J., McNicoll J., Ramsay G., Meyer R.C., De Jong W.S. Polymorphic simple sequence repeat markers in chloroplast genomes of Solanaceous plant // *Theor. Appl. and Genet.* — 1999. — **99**. — P. 859–867.
26. Evans W.C. *Tropane alkaloids of the Solanaceae* // *The biology and taxonomy of the Solanaceae.* — London, 1979. — P. 241–254.
27. Meagher R.B., Berry-Lowe S., Rice K. Molecular evolution of the small subunit of ribulose biphosphate carboxylase: nucleotide substitution and gene conversion // *Genetics.* — 1989. — **123**. — P. 845–863.
28. Fluhr R., Edelman M. Conservation of sequence arrangement among higher plant chloroplast DNAs: molecular cross hybridization among the *Solanaceae* and between *Nicotiana* and *Spinacia* // *Nucl. Acids Res.* — 1981. — **9**. — P. 6841–6853.
29. Phillips A.L. Restriction map and clone bank of tomato plastid DNA // *Curr. Genet.* — 1985. — **10**, № 2. — P. 147–152.
30. Gounaris I., Michalowski C.B., Bohnert H.J., Price C.A. Restriction and gene mapping of plastid DNA from *Capsicum annum*. Comparison chloroplast and chromoplast DNA // *Curr. Genet.* — 1986. — **11**. — P. 7–16.
31. Palmer J.D., Zamir D. Chloroplast DNA evolution and phylogenetic relationships in *Lycopersicon* // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* — 1982. — **79**. — P. 5006–5010.
32. Olmstead R., Palmer J.D. Chloroplast DNA and systematics of the *Solanaceae* // *Solanaceae III: Taxonomy, Chemistry, Evolution.* — London : Royal Botanic Gardens, Kew and Linnean Society of London, 1991. — P. 161–168.

Надійшла 10.06.03