DOI: 10.30901/2658-6266-2020-2-o4

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЦИТОГЕНЕТИКИ В ИССЛЕДОВАНИЯХ ОТДАЛЕННЫХ ГИБРИДОВ КАРТОФЕЛЯ

Макарова Т.О.

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44;
tamaramakarova333@gmail.com

Данный обзор посвящен рассмотрению результатов изучения межвидовой гибридизации, полиплоидии и филогенетических отношений видов рода *Solanum* и представителей близких к нему таксонов, с использованием методов молекулярной цитогенетики, таких как гибридизация ДНК-ДНК *in situ*: геномная – GISH и флуоресцентная – FISH. Метод GISH был использован для определения геномного состава и происхождения ряда диких видов секции *Petota*. Метод FISH используют для выявления коллинеарности геномов разных видов. Такого рода исследования позволяют проводить сравнительный анализ кариотипов и геномов, а также способствуют лучшему пониманию взаимодействия хромосом в мейозе у гибридов. В данном обзоре сделан акцент на изучении диких аллополиплоидных видов картофеля с помощью методов молекулярной цитогенетики, рассмотрены результаты анализа искусственно созданных межродовых и межвидовых гибридов рода *Solanum* и их потомства.

Ключевые слова: *Solanum tuberosum*, межвидовые гибриды, соматическая гибридизация, GISH, FISH.

THE USE OF MOLECULAR CYTOGENETIC METHODS IN THE INVESTIGATION OF DISTANT POTATO HYBRIDS

Makarova T.O.

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia;
tamaramakarova333@gmail.com

This paper reviews the results of studies of interspecies hybridization, polyploidization, as well as phylogenetic relationships of *Solanum* species and members of closely related taxa by such molecular cytogenetic techniques as genomic (GISH) and fluorescent (FISH) DNA-DNA *in situ* hybridization. The latter was used to determine the genomic composition and origin of wild species of the *Petota* section, while the FISH technique was used for detecting intergenomic collinearity. The combination of these two types of research made possible a comparative analysis of karyotypes and genomes, thus allowing a better understanding of the meiotic interchromosomal interactions in hybrids. This review primarily focuses on the studies of wild allopolyploid potato species and artificially created intergeneric and interspecific hybrids of the genus *Solanum* and their offspring.

Key words: *Solanum tuberosum*, interspecific hybrids, somatic hybridization, GISH, FISH.

Прозрачность финансовой деятельности / Financial transparency
Автор не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. / The authors have no financial interest in the presented materials or methods.
Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы / The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work
Дополнительная информация / Additional information
Полные данные этой статьи доступны / Extended data is available for this paper at https://doi.org/10.30901/2658-6266-2020-2-o4
Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы / The journal's opinion is neutral to the presented materials, the author, and his or her employer
Все авторы одобрили рукопись / All authors approved the manuscript
Конфликт интересов отсутствует / No conflict of interest

Для цитирования: Макарова Т.О. Использование методов молекулярной цитогенетики в исследованиях отдаленных гибридов картофеля. *Биотехнология и селекция растений*. 2020;3(2):30-38. DOI: 10.30901/2658-6266-2020-2-o4

For citation: Makarova T.O. The use of molecular cytogenetic methods in the investigation of distant potato hybrids. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2020;3(2)30-38. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2020-2-o4

ORCID:
Makarova T.O. https://orcid.org/0000-0002-0104-9418

УДК 633.491:575.222.73:575.113:57.085.1:57.086.164
Поступила в редакцию: 31.07.2020
Принята к публикации: 06.10.2020

Введение

Картофель относится к роду *Solanum* L. секции *Petota* Dumort., включающей, согласно разным классификациям, от 107 до 235 видов. Так, согласно классификации Дж. Хокса к этой секции относят 235 видов, 228 из которых – дикие, 7 – культурные (Hawkes, 1990). Согласно системе Д. Спунера, в секции выделяют всего 107 видов картофеля: 103 из них относятся к диким видам, а 4 – к культивируемым (Spooner et al., 2014). Разнообразие видов картофеля в системе Дж. Хокса (1990) было разделено на 19 серий на основании схожести видов по морфологии, скрещиваемости, фертильности гибридов и геномному составу (Hawkes, 1990; 1994).

Дикие виды картофеля широко распространены: от юго-западных штатов США до южных границ Чили и Аргентины; от побережья Тихого океана до высот 4500 метров над уровнем моря; от болотистых лесов Венесуэлы до пустыни Атакама – с центром максимального видового разнообразия в Мексике (Hijmans et al., 2007; Spooner et al., 2014). Находясь в столь различных климатических условиях, дикие представители секции *Petota* демонстрируют широкий спектр генетических, физиологических, морфологических, биохимических и фитопатологических различий (Hawkes, 1990).

Виды секции *Petota* имеют базовое число хромосом x=12. Больше трети видов (36%) являются полиплоидами, а остальные (64%) – диплоидами (Hijmans et al., 2007; Gavrilenko et al., 2007; 2011). Дикие виды картофеля образуют полный полиплоидный ряд от 2x до 6x, а культурные виды - от 2x до 5x (Rybin, 1929; 1933; Matsubayashi, 1991; Hawkes, 1994). Культурные виды картофеля и экономически самый важный из них – *Solanum tuberosum* L., как и большинство диких южно-американских видов картофеля, являются носителями базового генома A. Дикие диплоидные мексиканские виды серий Bulbocastana и Pinnatisecta являются носителями генома – B. Ряд аллополиплоидных видов картофеля наряду с субгеномом A, несут субгеномы: B, C, D и P (Irikura, 1976, Matsubayashi, 1991, Gavrilenko, 2007; 2011).

Детальный анализ результатов цитогенетических исследований видов секции *Petota* рода *Solanum* и межвидовых гибридов картофеля, проведенных с использованием традиционных методов кариологического анализа, изучения характера спаривания хромосом в мейозе у полиплоидных видов и межвидовых гибридов, использования метода дифференциального С-окрашивания по Гимза хромосом картофеля, приведены в обзорах Y. Irikura, 1976 и M. Matsubayashi, 1991. В более поздних обзорах (Gavrilenko, 2007; 2011) проанализированы результаты первых работ по использованию FISH и GISH для изучения геномного состава полиплоидных видов секции *Petota* и анализа отдаленных гибридов картофеля. В нашем обзоре мы постараемся осветить результаты исследований, полученные в последние десятилетия с использованием методов молекулярной цитогенетики.

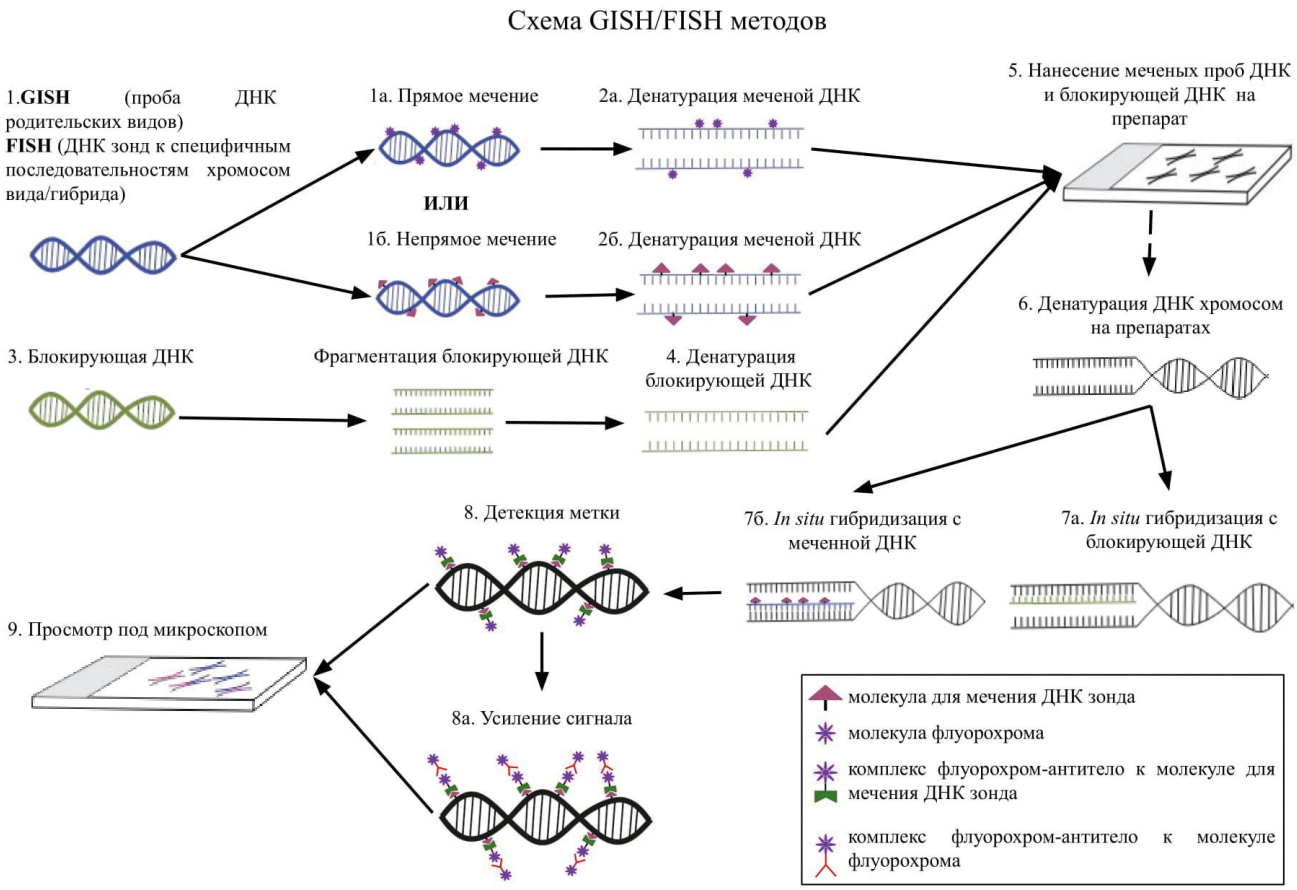
Современные методы молекулярной цитогенетики – GISH и FISH в исследованиях видов картофеля

В начале 70-х годов прошлого века была разработана методика *in situ* гибридизации молекул ДНК, позволяющая локализовать гибридные молекулы на хромосомах при изучении цитологических препаратов. Метод *in situ* гибридизации заключается в использовании ДНК-зондов специфичных к определенным последовательностям ДНК. Изначально для мечения ДНК использовали различные изотопы (^{3}H, ^{125}I, ^{35}S, ^{32}P). В настоящее время используют нерадиоактивные метки, детектируемые с помощью методов микроскопического анализа по наличию флуоресцентного сигнала (Schwarzacher et al., 1989; Leitch et al., 1994). Этот метод получил название флуоресцентной *in situ* гибридизации (fluorescence *in situ* hybridization – FISH) и положил начало развитию методов молекулярной цитогенетики. Стало возможным различать и локализовывать специфические последовательности ДНК на хромосомах, например, рибосомальных генов 5S, 18S, 5.8S и 45S рРНК, повторяющиеся последовательности, свойственные теломерным районам (interstitial telomeric repeats – ITR), транспозоны, прицентромерные участки (Silva, Souza, 2013; Badaeva, Salina, 2013).

Существуют вариации метода *in situ* гибридизации, которые отличаются по характеру мечения ДНК-зонда. При прямом мечении ДНК используют флуорохромы, ковалентно связанные непосредственно с нуклеотидами ДНК-зонда. Суть непрямого мечения заключается в том, что связь флуорохрома с нуклеотидами ДНК-зонда образуется через молекулу-посредник или метку. Наиболее часто используемыми метками являются дигоксигенин и биотин, которые выявляют на цитологическом препарате с помощью антител к ним. Антитело, в свою очередь, помечено флуорохромом. Сигнал может быть усилен путем последующего использования антител к первичным флуорохромам, связанных с соответствующей флуоресцентной меткой. В качестве зондов для гибридизации могут быть использованы фрагменты ДНК, локализация которых на хромосомах и является задачей исследования (Leitch et al., 1994). Схема *in situ* гибридизации приведена в многочисленных обзорах, здесь мы приводим обобщенную схему (Рисунок).

Рисунок. “Схема *in situ* (GISH/FISH) гибридизации на препарате хромосом” (согласно Ramzan et al., 2017 с модификациями)

Fig. Diagram of GISH/FISH *in situ* hybridization using a chromosome preparation (according to Ramzan et al., 2017, modified)



Метод *in situ* гибридизации эффективен при изучении полиплоидных видов, межвидовых гибридов и их полового потомства. Для решения этих задач широко используется гибридизация с меченой геномной ДНК. Этот вариант FISH получил название геномной гибридизации *in situ* (genomic *in situ* hybridization – GISH).

В экспериментах GISH используют геномную ДНК родительских видов, участвовавших в гибридизации. Обычно геномы, которые имеют 80-85% идентичности, можно дифференцировать с использованием стандартного протокола GISH (без использования блокирующей ДНК) (Schwarzacher et al., 1989). Использование блокирующей ДНК обычно необходимо для гибридов, полученных при гибридизации близких видов с высокой степенью сходства геномов. Хромосомы близкородственных геномов со сходством последовательностей до 90–95% можно различать, используя меченую ДНК одного из родительских геномов и немеченую блокирующую ДНК другого родительского генома в гибридизационной смеси (Parokonny et al., 1997). Метод GISH успешно используют для идентификации геномов полиплоидных видов и экспериментальных гибридов разных видов растений например: декоративных – хризантем *Chrysanthemum* sp. (Hussein, Katsuhiko, 2006; 2012) и лилий *Asiatic* sp. (Rodrigo et al., 2006); сельскохозяйственных – представителей семейств злаковые – пшениц *Triticum* sp. (Molnár-Láng et al., 2000), ячменя *Hordeum* sp. (Schwarzacher et al., 1989), овсяницы *Festuca* sp. (Zwierzykowski et al., 2008); семейства крестоцветные – капустных *Brassica* sp. (Lim et al., 2012; Yao et al., 2010); семейства банановых – бананов *Musa* sp. (Jeridi et al., 2011; Silva, Souza, 2013) и других.

Для представителей семейства пасленовых известно не так много работ, например, для отдаленных гибри-

дов томата *Solanum lycopersicum* L. (Garriga-Calderé et al., 1997; 1998; 1999; Gavrilenko et al., 2001), табака *Nicotiana* L. (Parokonny et al., 1997; Chase et al., 2003), паслена *Solanum villosum* Mill. (Tarwacka et al., 2013), картофеля *S. tuberosum* (Gavrilenko, 2007; 2011; Gaiero et al., 2017) (Приложение табл. 1/Supplementary table 1[1]).

Используя метод GISH для анализа спаривания хромосом в профазе I – метафазе I мейоза, можно выявить ассоциации хромосом, как гомологичных, относящихся к одному геному, так и гомеологичных, относящихся к разным геномам. Результаты GISH позволяют сделать вывод об особенностях взаимодействия двух разных геномов и прогнозировать возможность спаривания и рекомбинации хромосом родительских видов, а также выявлять межгеномные перестройки у исследуемых гибридов и форм с интрогрессией генетического материала (Garriga-Calderé et al., 1997; 1998; 1999; Zwierzykowski et al., 2008; Yao et al., 2010; Jeridi et al., 2011; Silva, Souza, 2013; Gavrilenko et al., 2014).

Развитие методов флуоресцентной *in situ* гибридизации значительно расширило возможности цитогенетических исследований видов картофеля – представителей секции *Petota* рода *Solanum*. Культурный картофель *S. tuberosum* – сложный объект для цитогенетических исследований, поскольку длина метафазных хромосом находится в диапазоне от 1 до 35 мкм (Dong et al., 2000). До разработки методов молекулярной цитогенетики у видов картофеля было возможно идентифицировать индивидуальные хромосомы только на стадии пахитены в профазе I мейоза. Осложняло работу и то, что у *S. tuberosum* отсутствовали коллекции моносомных и нулисомных линий, а также коллекции мутантов со структурными изменениями хромосом (транслокациями, делециями и инверсиями).

В работе J. Song с коллегами (Song et al., 2000) была создана библиотека BAC клонов (bacterial artificial chromosomes), включающая 23808 клонов со средним размером вставки 155 кб дикого мексиканского вида *Solanum bulbocastanum* (Bitter) Hawkes (Song et al., 2000). С помощью хромосом-специфических маркеров RFLP (Restriction fragment length polymorphism) из этой библиотеки были отобраны BAC-клоны для каждой из 12 хромосом картофеля. Маркеры RFLP были физически картированы методом BAC-FISH на разных плечах каждой из 12 хромосом картофеля (Dong et al., 2000), то есть хромосом-специфические цитогенетические маркеры ДНК (chromosome-specific cytogenetic DNA markers – CSCDM) были использованы для идентификации индивидуальных метафазных хромосом картофеля. Среди главных преимуществ этого метода следует указать следующие: возможность идентификации всех 12 хромосом картофеля на любой стадии мейоза; возможность использования для анализа неполных клеток; возможность анализировать как диплоидные, так и полиплоидные кариотипы и сопоставлять генетические и цитологические карты хромосом картофеля (Dong et al., 2001). Таким образом, для кариотипирования видов картофеля и анализа гибридов был создан новый инструмент – набор CSCDM (Dong et al., 2001, Song et al., 2000) (Приложение, табл. 2/Supplementary table 2).

В работе X. Tang с коллегами (Tang et al., 2009) были отобраны 60 BAC-клонов, ассоциированных с AFLP (amplified fragment length polymorphism - AFLP) маркерами, для которых было ранее установлено, что они представлены во всех 12 группах сцепления. На основе отобранных BAC-клонов с использованием метода BAC-FISH были созданы молекулярно-цитогенетические карты хромосом картофеля. Отобранные BAC-маркеры, вследствие гибридизации фрагмента ДНК вставки с хромосомной ДНК, были локализованы на разных плечах пахитенных хромосом, за исключением хромосомы 2, для которой был отобран BAC только для длинного плеча (Tang et al., 2009).

В дальнейшем, M. Iovene (Iovene et al., 2008) с соавторами отобрали 30 BAC-клонов и провели FISH-картирование этих маркеров на пахитенной хромосоме 6 картофеля и определили генетическое положение центромеры и перицентромерного гетерохроматина. Кроме того, в этой работе проведен сравнительный анализ хромосом 6 картофеля и томата, с помощью метода BAC-FISH, для установления их коллинеарности (Iovene et al., 2008). Авторы установили, что шестые хромосомы картофеля (*S. tuberosum*) и томата (*S. lycopersicum* L.) имеют сходную структуру на стадии пахитены, однако между этими хромосомами наблюдались четкие различия в распределении гетерохроматиновых участков. Сравнение физических карт 6-ых хромосом томата и картофеля с помощью BAC-FISH также выявило общую коллинеарность расположения маркеров, однако в эухроматиновом районе короткого плеча 6-ой хромосомы томата была обнаружена инверсия (Iovene et al., 2008) (Приложение, табл. 3/Supplementary table 3).

Позже Q. Lou с соавторами провели сравнительный анализ распределения 13 BAC-маркеров на хромосоме 6 у пяти видов рода *Solanum*: *S. tuberosum*, *S. bulbocastanum*, *S. chromatophilum* Bitt., *S. caripense* Dunal и *Solanum etuberosum* Lindl. Анализ, с помощью метода BAC-FISH, показал полную коллинеарность физических карт хромосом 6 у всех исследованных видов за исключением неклубнеобразующего *S. etuberosum*, у которого была обнаружена перицентрическая инверсия (Lou et al., 2010). Следует отметить, что из изученных в работе Lou видов первые три относятся к секции *Petota*, как и культурный картофель *S. tuberosum,* тогда как два последних вида (включая *S. etuberosum*) являются неклубненосными и относятся к другим секциям рода *Solanum*.

C. Achenbach с соавторами провели сравнительное картирование хромосомы 5 картофеля (*S. tuberosum*) и томата (*S. lycopersicum*) с помощью пяти BAC-клонов.

1 **Supplementary tables 1-4 are available in the online version of the paper: https://doi.org/10.30901/2658-6266-2020-2-o4**

Было показано, что у томата в длинном плече хромосомы 5 находится инверсия по сравнению с хромосомой 5 картофеля (Achenbach et al., 2010).

В дальнейшем с использованием метода BAC-FISH голландские исследователи продолжили работы по изучению коллинеарности геномов привлекая большее число видов рода *Solanum*: *S. bulbocastanum, S. chilense* Dunal., *S. etuberosum, S. habrochaites* S.Knapp&D.M.Spooner*, S. lycopersicum*, *S. lycopersicoides* Dunal., *S. megistracrolobum* Bitter*, S. melongena* L., *S. ochranthum* Dunal*., S. pennellii* Correll*., S. peruvianum* L*., S. pimpinellifolium* L., *S. pinnatisectum* Dunal., *S. tarijense* Hawkes. (Szinay et al., 2012). Авторы выявили многочисленные хромосомные перестройки, нарушающие коллинеарность геномов разных представителей рода *Solanum* (среди которых – культурный картофель *S. tuberosum*). Последние исследования с использованием BAC-клонов картофеля и томатов при проведении многоцветной FISH позволили выделить три синтетические группы, внутри которых наблюдалась коллинеарность расположения сайтов гибридизации BAC-маркеров на хромосомах. Группа А включала в себя культурный картофель и его диких сородичей (*S. bulbocastanum, S. tarijense, S. megistracrolobum, S. pinnatisectum*). Группа Б включала в себя культурный томат и его диких сородичей (*S. peruvianum, S. habrochaites, S. pimpinellifolium*). У *S. chilense* на коротком плече хромосомы 12 была выявленная проксимальная инверсия. Было показано, что короткое плечо хромосомы 6 полностью инвертировано у *S. ochranthum* по сравнению с видами, относящимися к группе Б и *S. chilense*. Две дистальные инверсии на коротких плечах хромосом 6 и 7 были обнаружены у двух видов *S. lycopersicoides* и *S. pennellii*. Также было показано, что порядок расположения BAC-маркеров на хромосомах *S. etuberosum* очень похож на таковой порядок у синтетической группы А, но были обнаружены небольшие инверсии на коротких плечах хромосом 6 и 7 и на длинном плече 10-ой хромосомы (Szinay et al., 2012).

С помощью метода BAC-FISH также было проведено сравнительное картирование хромосом картофеля (*S. tuberosum*), томата (*S. lycopersicum*) и перца (*Capsicum annuum* L.) Было показано, что длинное плечо 2-ых хромосом у перца и картофеля полностью коллинеарны, а у томата в данном плече есть инверсия. В этой работе были подтверждены данные о дистальной инверсии у томата в коротком плече хромосомы 6 по сравнению с картофелем и перцем (Peters et al., 2012; Iovene et al., 2008) (см. Приложение, табл. 3/Supplementary table 3).

В свою очередь с использованием метода GISH были проведены исследования полиплоидной природы и геномного состава нескольких диких полиплоидных мексиканских видов картофеля серии Longipedicellata. Анализ тетраплоидных видов *S. stoloniferum* и *S. hjertingii* Hawkes с помощью GISH позволил подтвердить их аллополиплоидную природу и охарактеризовать геномный состав этих видов – AABB (Pendinen et al., 2008). Позднее этой же группой авторов с использованием GISH были установлены полиплоидная природа и геномный состав диких мексиканских гексаплоидных видов серии *Demissa*: *S. demissum* Lindl. (AAAAAA) и *S. hougasii* Correll. (AABBPP) (Pendinen et al., 2012). Геномную гибридизацию *in situ* использовали и для анализа экспериментально созданных межродовых и межвидовых соматических гибридов картофеля (Приложение, табл. 4/Supplementary table 4).

Современные методы молекулярной цитогенетики – GISH, FISH в исследованиях по межвидовой гибридизации картофеля

Первые успешные результаты по применению GISH для анализа хромосом картофеля были получены при исследовании отдаленных гибридов, полученных методом слияния протопластов видов, принадлежащих к различным секциям рода *Solanum*. Первые работы по исследованию соматических гибридов картофеля с помощью FISH провели на межродовых соматических гибридах *S. tuberosum* (+) *Lycopersicon esculentum* L. (=*Solanum esculentum*) (Jacobsen et al., 1996; Garriga-Calderé et al., 1997; 1998; 1999). В этих работах были идентифицированы геномы A и L родительских видов у соматических гибридов, а также в их половом потомстве BC_1-BC_2 (Jacobsen et al., 1994; 1996). Хромосомы томата и картофеля были легко отличимы у гибридов от возвратных скрещиваний, причем у гибридов BC_1 были утрачены 6 из 12 хромосом томата (Jacobsen et al. 1996).

Позже F. Garriga-Calderé с коллегами в серии работ с использованием прямого мечения и блокирующей ДНК томата идентифицировали родительские геномы у гексаплоидных и тетраплоидных соматических гибридов и их потомства, а также создали серию дополненных моносомных линий AAAA + L' (Garriga-Calderé et al., 1997; 1998; 1999). Первым шагом в данной работе было создание соматических гибридов *L. esculentum* (+) *S. tuberosum* и их исследование с помощью RFLP хромосом-специфичных маркеров и GISH. В результате были отобраны соматические гибриды с сохранившимся полным набором хромосом томата. Затем тетраплоидные и гексаплоидные соматические гибриды были вовлечены в возвратные скрещивания, получено поколение BC_1. Последнее проанализировали с использованием комбинации молекулярных и цитогенетических методов и отобрали формы, несущие полный набор хромосом томата (Garriga-Calderé et al., 1997). Соматические гибриды использовали для возвратных скрещиваний. Затем гибриды BC_1-BC_2 были также проанализированы с помощью хромосом-специфичных RFLP маркеров томата и комбинацией методов GISH/FISH. С использованием цитогенетических методов был изучен геномный состав и характер образующихся ассоциаций хромосом в мейозе, что позволи-

ло отобрать семь форм BC_2, несущих полный набор хромосом картофеля и одну хромосому томата (1, 2, 4, 6, 8, 10 или 12) (Garriga-Calderé et al., 1998). Позже в 1999 году этой же группой авторов были отобраны формы BC_2, содержащие по одной хромосоме томата, и создана серия дополненных моносомных линий AAAA + 1L' (Garriga-Calderé et al., 1999). Впоследствии эта работа была продолжена H. Ali. Результатом этих исследований стала полная коллекция моносомных линий, в каждой из которых содержалась только одна из хромосом полного набора хромосом томата (Ali et al., 2001) (см. Приложение, табл. 1/Supplementary table 1).

Другой группой исследователей было показано, что с помощью метода GISH с блокирующей ДНК возможно различить геномы родительских видов у межвидовых соматических гибридов томата и *S. lycopersicoides* (Escalante et al., 1998).

Для комбинации неклубненосного вида *S. etuberosum* (геном EE) и культурного томата *S. esculentum* (геном LL) с использованием метода FISH показана четкая дифференциация родительских геномов у межродовых соматических гибридов (EELL, LLEEEE), а также у андрогенных регенерантов (EL) (полученных в культуре пыльников соматических гибридов). При исследовании мейоза у данных растений не выявлено спаривания между геномами родительских видов (Gavrilenko et al., 2001). Анализ мейоза показал, что наблюдалось спаривание только между гомологичными хромосомами двух геномов, гомеологичное спаривание хромосом наблюдалось редко.

Методы GISH были также успешно использованы для анализа экспериментально созданных межвидовых соматических гибридов картофеля и их потомства.

С использованием комбинации методов GISH и FISH с маркерами CSCDM удалось идентифицировать каждую из трех хромосом *Solanum brevidens* Phil., сохранившихся в поколениях BC_3, полученных на основе соматических гибридов между *S. tuberosum* (геном AAAA) и *S. brevidens* (геном EE) (Dong et al., 2001). Для этой же комбинации родительских видов использовали метод GISH для изучения тетраплоидных и гексаплоидных соматических гибридов (AAAAEE, AAEE и AAEEEE), а также "второго поколения" соматических гибридов (AAAAE, AAAE и AAAEE), полученных через повторное слияние протопластов, поскольку отдаленные соматические гибриды были стерильны. Показано, что хромосомы родительских видов можно идентифицировать, используя данный метод (Gavrilenko et al., 2002). Позже, используя FISH со специфичными маркерами RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) (McGrath et al., 1994; 1996) идентифицировали хромосомы дикого вида у BC_3 и выявили рекомбинантные хромосомы. Были созданы моносомные линии, несущие 1, 3, 4, 5, 8, 9 и 10 хромосому *S. brevidens* (Dong et al., 2005) (см. Приложение, табл. 2/Supplementary table 2).

С помощью метода GISH изучали наборы хромосом тетраплоидных соматических гибридов диплоидного *S. tuberosum* (геном AA, 2n=2x=24) и неклубнеобразующего вида *S. etuberosum* (геномная формула 2n=2x=24, EE), а также их полового потомства BC_1-BC_2. Как и в случае комбинации *S. tuberosum* с *S. berthaultii* Hawk. хромосомы родительских видов удалось дифференцировать (Dong et al., 1999). Позже также дифференцировали хромосомы родительских геномов в случае тетраплоидных и гексаплоидных межвидовых соматических гибридов той же комбинации (AAEE, AAEEEE, AAAAEE) и их полового потомства от возвратных скрещиваний BC_1-BC_3 (Gavrilenko et al., 2003).

Используя комбинацию методов FISH/GISH или GISH/FISH на одних и тех же препаратах хромосом отдаленных гибридов, можно выяснить какому из геномов принадлежит интересующая последовательность ДНК. С помощью комбинации методов GISH и FISH изучали характер образующихся ассоциаций хромосом в мейозе у аллогаплоидов, полученных на основе соматических гибридов между диплоидным культурным картофелем и неклубнеобразующим видом *S. etuberosum* (EE) (Gavrilenko et al., 2014). Было показано, что полученные аллогаплоиды (2n=2x=24, AE) имеют по 12 хромосом исходных родительских форм и все биваленты, наблюдаемые в метафазе I мейоза, представлены гомеологичными ассоциациями хромосом. В этой же работе был проведен репробинг BAC-FISH/GISH для идентификации спаривания хромосом в мейозе у межродовых гибридов *S. etuberosum* с *S. lycopersicum* (2n=2x=24, LL). С помощью последовательного применения FISH с хромосомспецифичными BAC-пробами и GISH с дифференциально мечеными ДНК родительских видов удалось идентифицировать хромосомы каждого из геномов у аллогаплоидных гибридов (2n=2x=24, EL), а также регистрировать случаи спаривания хромосом в мейозе. На основании полученных данных был сделан вывод о различиях в частоте образования гомеологичных ассоциаций хромосом A-, E- и L-геномов (Gavrilenko et al., 2014) (см. Приложение, табл. 2/Supplementary table 2).

Метод GISH был успешно применен для анализа экспериментально созданных межвидовых соматических гибридов между видами секции *Petota* (см. Приложение, табл. 2/Supplementary table 2).

Так, М. Иовене с соавторами (Iovene et al., 2007) с использованием данного метода провели анализ полученных ими соматических гибридов культурного картофеля *S. tuberosum* (геномная формула 2n=4x=48, AAAA) и дикого мексиканского диплоидного вида *S. bulbocastanum* (геномная формула 2n=2x=24, BB), что позволило им доказать гибридную природу полученных форм. Поскольку родительские виды являются носителями разных геномов, A и B, то можно четко ассоциировать хромосомы с родительским видом. Было проанализировано 7 соматических гибридов с 48 хромосомами, которые имели по 24 хромосомы каждого из родителей. Также был обнаружен гибрид с 49-ю

хромосомами, содержащий почти равное количество хромосом родительских форм. Отличный от ожидаемого хромосомный состав был выявлен у трех гексаплоидных гибридов (у двух – AAAABB, у одного – AABBBB) (Iovene et al., 2007).

Используя комбинацию методов GISH и BAC-FISH с хромосом специфичными маркерами и маркерами рибосомальных генов (5S и 45S) были исследованы соматические гибриды и их половое потомство BC_1-BC_2 комбинации *S. tuberosum* (+) *S. commersonii* Dunal.(Gaiero et al., 2017). Методом GISH не удалось различить хромосомы близкородственных родительских видов, поэтому был сделан вывод о том, что S. *tuberosum* и S. *commersonii* являются носителями генома типа A. При помощи BAC-FISH показано, что идентифицированные при помощи маркеров хромосомы вовлечены в образования тривалентных ассоциаций в мейозе (Gaiero et al., 2017).

Позже с помощью метода GISH были исследованы соматические гибриды между *S. tuberosum* и *S. bulbocastanum*, а также их половое потомство первого и второго поколений. С помощью данного метода было показано, что в поколениях беккроссов сохраняется от 4 до 10 хромосом дикого вида (Rakosy-Tican et. al., 2020).

Именно благодаря методам *in situ* гибридизации стало возможным создавать моносомные линии. Фрагменты ДНК в составе BAC-клонов, используемые при проведении FISH в качестве маркеров, были картированы и было определено их взаимное расположение друг относительно друга на хромосомах у изучаемого вида и у родственных видов. Этот результат позволил судить о событиях, связанных с перестройкой кариотипов и дал возможность изучать эволюционные перестройки хромосом. С помощью метода GISH стало возможным определить геномный состав аллополиплоидных диких видов, отдаленных гибридов и их потомства.

Благодарности/Acknowledgements

Обзор подготовлен при поддержке РФФИ (проект № 20-54-00043 Бел_а)

Хочу выразить благодарность в подготовке обзора д.б.н. Татьяне Андреевне Гавриленко – моему научному руководителю и к.б.н. Галине Ивановне Пендинен, которая оказала мне помощь в освоении методов in situ гибридизации.

The review was prepared with the support of the Russian Foundation for Basic Research (Project No. 20-54-00043Bel_a)

I would like to express my gratitude for the preparation of the review to my scientific advisor Dr. (Biol.Sci.) Tatiana A. Gavrilenko and to Ph.D. Galina I. Pendinen, who assisted me in mastering in situ hybridization methods.

References/Литература

Achenbach U.C., Tang X., Ballvora A., de Jong H., Gebhardt C. Comparison of the chromosome maps around a resistance hot spot on chromosome 5 of potato and tomato using BAC-FISH painting. *Genome*. 2010;53:103-110. DOI: 10.1139/G09-086

Ali S.N.H., Ramanna M.S., Jacobsen E., Visser R.G.F. Establishment of a complete series of a monosomic tomato chromosome addition lines in the cultivated potato using RFLP and GISH analyses. *Theoretical and Applied Genetics*. 2001;103:687-695. DOI: 10.1007/s001220100652

Badaeva E.D., Salina E.A. Genome structure and chromosome analysis in plants. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2013;17(4/2):1017-1043 [in Russian] (Бадаева Е.Д., Салина Е.А. Структура генома и хромосомный анализ растений. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2013;17(4/2):1017-1043).

Chase M.W., Knapp S., Cox A.V., Clarkson J.J., Butsko Y., Joseph J., Savolainen V., Parokonny A.S. Molecular systematics, GISH and the origin of hybrid taxa in *Nicotiana* (*Solanaceae*). *Annals of Botany*. 2003; 92(1):107-27. DOI: 10.1093/aob/mcg087

Collonnier C., Fock I., Mariska I., Servaes A., Vedel F., Siljak-Yakovlev S., Souvannavong V., Sihachakr D. GISH confirmation of somatic hybrids between *Solanum melongena* and *S. torvum*: assessment of resistance to both fungal and bacterial wilts. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2003;41:459-470. DOI: 10.1016/S0981-9428(03)00054-8

Dong F., Novy R.G., Helgeson J.P., Jiang J. Cytological characterization of potato – *Solanum etuberosum* somatic hybrids and their backcross progenies by genomic *in situ* hybridization. *Genome*. 1999;42(5):987-992. DOI: 10.1139/g99-037

Dong F., Song J., Naess S.K., Helgeson J.P., Gebhardt C., Jiang J. Development and applications of a set of chromosome-specific cytogenetic DNA markers in potato. *Theoretical and Applied Genetics*. 2000;101(7):1001-1007. DOI: 10.1007/s001220051573

Dong F., McGrath J.M., Helgeson J.P., Jiang J. The genetic identity of alien chromosomes in potato breeding lines revealed by sequential GISH and FISH analyses using chromosome-specific cytogenetic DNA markers. *Genome*. 2001;44(4):729-734. DOI: 10.1139/gen-44-4-729

Dong F., Tek A.L., Frasca A.B.L., McGrath J.M., Wielgus S.M., Helgeson J.P., Jiang J. Development and characterization of potato-*Solanum brevidens* chromosomal addition/substitution lines. *Cytogenetic and Genome Research*. 2005;109(5):368-372. DOI: 10.1159/000082421

Escalante A., Imanishi S., Hossain M., Ohmido N., Fukui K. RFLP analysis and genomic *in situ* hybridization (GISH) in somatic hybrids and their progeny between *Lycopersicon esculentum* and *Solanum lycopersicoides*. *Theoretical and Applied Genetics*. 1998;96(6):719-726. DOI: 10.1007/s001220050794

Gaiero P., Mazzella C., Vilaró F., Speranza P., de Jong H. Pairing analysis and *in situ* hybridisation reveal autopolyploid-like behaviour in *Solanum commersonii* × *S. tuberosum* (potato) interspecific hybrids. *Euphytica*. 2017;213(7):137-144. DOI: 10.1007/s10681-017-1922-4

Garriga-Calderé F., Huigen D.J, Filotico F., Jacobsen E., Ramanna M.S. Identification of alien chromosomes through GISH and RFLP analysis and the potential for establishing potato lines with monosomic additions of tomato chromosomes. *Genome.* 1997;40(5):666-673. DOI: 10.1139/g97-088

Garriga-Calderé F., Huigen D.J., Angrisano A., Jacobsen E., Ramanna M.S. Transmission of alien tomato chromosomes from BC_1 to BC_2 progenies derived from backcrossing potato (+) tomato fusion hybrids to potato: the selection of single additions for seven different tomato chromosomes. *Theoretical and Applied Genetics*. 1998;96(2):155-163. DOI: 10.1007/s001220050722

Garriga-Calderé F., Huigen D.J., Jacobsen E., Ramanna M.S. Prospects for introgressing tomato chromosomes into the potato genome: An assessment through GISH analysis. *Genome*. 1999;42(2):282-288. DOI: 10.1139/gen-42-2-282

Gavrilenko T., Thieme R., Rokka V.-M. Cytogenetic analysis of *Lycopersicon esculentum* (+) *Solanum etuberosum* somatic hybrids and their androgenetic regenerants. *Theoretical and Applied Genetics*. 2001;103(2): 231-239. DOI: 10.1007/s001220100626

Gavrilenko T., Larkka J., Pehu E, Rokka V.-M. Identification of mitotic chromosomes of tuberous and non-tuberous *Solanum* species (*Solanum tuberosum* and *Solanum brevidens*) by GISH in their interspecific hybrids. *Genome*. 2002;45(8):442-449. DOI: 10.1139/g01-136

Gavrilenko T., Thieme R., Heimbach U., Thieme Th. Fertile somatic hybrids of *Solanum etuberosum* (+) dihaploid *Solanum tuberosum* and their backcrossing progenies: relationships of genome dosage with tuber development and resistance to potato virus Y. *Euphytica*. 2003;131(3):323-332. DOI: 10.1023/A:1024041104170

Gavrilenko T. Potato cytogenetics. In: D. Vreugdenhil, J. Bradshaw, C. Gebhardt, F. Govers, D.K.L. MacKerron, M.A. Taylor, H. Ross (eds). *Potato Biology and Biotechnology: Advances and Perspectives*. Oxford; Amsterdam: Elsevier ; 2007. p.203-216.

Gavrilenko T. Application of molecular cytogenetics in fundamental and applied research of potato. In: J.M. Bradeen, C. Kole (eds). *Genetics, Genomics and Breeding of Potato*. Enfield, NH, USA: Science Publishers; 2011. p.184-206. DOI: 10.1201/b10881-10

Gavrilenko T.A., Pendinen G.I., Rokka V.-M., Antonova O.Y., Thieme R. Intrgenomic chromosome pairing in allohaploid hybrids of genus *Solanum*. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2014;18(4/1):660-671. [in Russian] (Гавриленко Т.А., Пендинен Г.И., Рокка В.-М., Антонова О.Ю. и Тиме Р. Спаривание гомеологичных хромосом у отдаленных гибридов рода *Solanum*. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2014;18(4/1):660-671).

Hawkes J.G. The Potato: Evolution, Biodiversity and Genetic Resources. Washington, D.C.: Smithsonian Institution Press; 1990. Available from: oclc:record:1150961186 [accessed October 14, 2020].

Hawkes J.G. Origins of cultivated potatoes and species relationships. In: *Potato Genetics*. Wallingford: CAB International; 1994. p.3-42.

He L., Liu J., Torres G.A., Zhang H., Jiming J., Xie C. Interstitial telomeric repeats are enriched in the centromeres of chromosomes in *Solanum* species. *Chromosome Research*. 2012;21(1):5-13. DOI: 10.1007/s10577-012-9332-x

Hijmans R.J., Gavrilenko T., Stephenson S., Bamberg J., Salas A., Spooner D.M. Geographical and environmental range expansion through polyploidy in wild potatoes (*Solanum* section *Petota*). *Global Ecology and Biogeography*. 2007;16(4):485-495. DOI: 10.1111/j.1466-8238.2007.00308.x

Horsman K., Gavrilenko T., Bergervoet M., Huigen D.J., Joe A.T.W., Jacobsen E. Alteration of the genomic composition of *Solanum nigrum* (+) potato backcross derivatives by somatic hybridization: selection of fusion hybrids by DNA measurements and GISH. *Plant Breeding*. 2001;120:201-207. DOI: 10.1046/j.1439-0523.2001.00591.x

Hussein A., Katsuhiko K. Fluorescence *in situ* hybridization and genomic *in situ* hybridization to identify the parental genomes in the intergenic hybrid between *Chrysanthemum japonicum* and *Nipponanthemum nipponicum*. *Chromosome Botany.* 2006;1(1):7-11. DOI: 10.3199/iscb.1.7

Hussein A., Katsuhiko K. Genome Mutation Revealed by Artificial Hybridization between *Chrysanthemum yoshinaganthum* and *Chrysanthemum vestitum* Assessed by FISH and GISH. *Journal of Botany.* 2012;ID 480310(8). DOI: 10.1155/2012/480310

Iovene M., Savarese S., Cardi T., Frusciante L., Scotti N., Simon P.W., Carputo D. Nuclear and cytoplasmic genome composition of *Solanum bulbocastanum* (+) *S. tuberosum* somatic hybrids. *Genome*. 2007;50(5):443-450. DOI: 10.1139/g07-024

Iovene M., Welgus S.M., Simon P.W., Buell R., Jiang J. Chromatin structure and physical mapping of chromosome 6 of potato and comparative analyses with tomato. *Genetics*. 2008;180(3):1307-1317. DOI: 10.1534/genetics.108.093179

Irikura Y. Cytogenetic studies on the haploid plants of tuber-bearing *Solanum* species. II. Cytogenetic investigations on haploid plants and interspecific hybrids by utilizing haploidy. *Research Bulletin of the Hokkaido National Agricultural Experiment Station*. 1976;115:1-80.

Jacobsen E., Daniel M.K., Bergervoet J.E.M., Huigen D.J., Ramanna M.S. The first and second backcross progeny of the intergeneric fusion hybrids of potato and tomato after crossing with potato. *Theoretical and Applied Genetics*. 1994;88:181-1 86. DOI: 10.1007/BF00225895

Jacobsen E., de Jong J.H., Kamstra S.A., van den Berg P.M.M.M., Ramanna M.S. Genomic *in situ* hybridization (GISH) and RFLP analysis for the identification of alien chromosomes in the backcross progeny of potato (+) tomato fusion hybrids. *Heredity*. 1996;74(3):250-257. DOI: 10.1038/hdy.1995.38

Jeridi M., Bakry F., Escoute J., Fondi E., Carreel F., Ferchichi A., D'Hont A., Rodier-Goud M. Homoeologous chromosome pairing between the A and B genomes of *Musa* spp. revealed by genomic *in situ* hybridization. *Annals of Botany*. 2011;108(5):975-981. DOI: 10.1093/aob/mcr207

Ji Y., Pertuzé R., Chetelat R.T. Genome differentiation by GISH in interspecific and intergeneric hybrids of tomato and related nightshades. *Chromosome Research*. 2004;12:107-116. DOI: 10.1023/B:CHRO.0000013162.33200.61

Ji Y., Chetelat R.T. GISH analysis of meiotic chromosome pairing in *Solanum lycopersicoides* introgression lines of cultivated tomato. *Genome*. 2007;50(9):825-33. DOI: 10.1139/g07-069

Kulawiec M., Tagashira N., Bartoszewski G., Kuc D., Sniezko R., Malepszy S. Chromosome number variation in somatic hybrids between transgenic tomato (*Lycopersicon esculentum*) and *Solanum lycopersicoides*. *Journal of applied genetics*. 2003;44(4):431-447.

Leitch A.R., Schwarzacher T., Jacson D., Leitch I.J. *In situ* hybridization: a practical guide. Oxford: Bios Scientic Publishers Ltd.; 1994.

Lim S.J., Lee S.S., Bang J.W. Karyotype and genomic *in situ* hybridization pattern in xBrassicoraphanus, an intergeneric hybrid between *Brassica campestris* ssp. pekinensis and *Raphanus sativus*. *Plant Biotechnology Reports*. 2012;6:107-112. DOI: 10.1007/s11816-011-0202-3

Lou Q., Iovene M., Spooner D.M., Buell C.R., Jiming J. Evolution of chromosome 6 of *Solanum* species revealed by comparative fluorescence *in situ* hybridization mapping. *Chromosoma*. 2010;119:435-442. DOI: 10.1007/s00412-010-0269-6

M de Boer J., Datema E., Tang X., Borm T.J.A., Bakker E.H., van Eck H.J., van Ham R.C.H.J., de Jong H., Visser R.G.F., Bachem C.W.B. Homologues of potato chromosome 5 show variable collinearity in the euchromatin, but dramatic absence of sequence similarity in the pericentromeric heterochromatin. *BMC Genomics*. 2015;16(1):374. DOI: 10.1186/s12864-015-1578-1.

Matsubayashi M. Phylogenetic relationships in the potato and its related species. In: Tsuchiya T. and Gupta PK (eds.). Chromosome engineering in plants: genetics, breeding and evolution, part B. Elsevier, Amsterdam. 1991;2:93-118. DOI: 10.1016/B978-0-444-88260-8.50011-2

McGrath J.M., Wielgus S.M., Uchytil T.F., Kim-Lee H., Haberlach G.T., Williams C.E., Helgeson J.P. Recombination of *Solanum brevidens* chromosomes in the second backcross generation from a somatic hybrid with *S. tuberosum*. *Theoretical and Applied Genetics*. 1994;88(8):917-924. DOI: 10.1007/BF00220797

McGrath J.M., Wielgus S.M., Helgeson J.P. Segregation and recombination of *Solanum brevidens* synteny groups in progeny of somatic hybrids with *S. tuberosum*: intragenomic equals or exceeds intergenomic recombination. *Genetics*. 1996;142(4):1335-1348.

Molnár-Láng M., Linc G., Logojan A., Sutka J. Production and meiotic pairing behaviour of new hybrids of winter wheat (*Triticum aestivum*) x winter barley (*Hordeum vulgare*). *Genome*. 2000;43(6):1045-54. DOI: 10.1139/gen-43-6-1045

Parokonny A.S., Marshall J.A., Bennett M.D., Cocking E.C., Davey M.R., Power J.B. Homoeologous pairing and recombination in backcross derivatives of tomato somatic hybrids [*Lycopersicon esculentum* (+) *L. peruvianum*]. *Theoretical and Applied Genetics*. 1997;94(10):713-723. DOI: 10.1007/s001220050470

Pendinen G., Gavrilenko T., Jiang J., Spooner D.M. Allopolyploid speciation of the Mexican tetraploid potato species *Solanum stoloniferum* and *S. hjertingii* revealed by genomic *in situ* hybridization. *Genome*. 2008;51(9):714-220. DOI: 10.1139/G08-052

Pendinen G., Spooner D.M., Jiang J., Gavrilenko T. Genomic *in situ* hybridization reveals both auto- and allopolyploid origins of different North and Central American hexaploid potato (*Solanum* sect. *Petota*) species. *Genome*. 2012;55(6):407–415. DOI: 10.1139/g2012-027

Peters S.A., Bargsten J.W., Szinay D., van de Belt J., Visser R.G.F., Bai Y., de Jong H. Structural homology in the *Solanaceae*: anal-

ysis of genomic regions in support of synteny studies in tomato, potato and pepper. *The Plant Journal*. 2012;71(6):602-614. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2012.05012.x

Rakosy-Tican E., Thieme R., Konig J., Nachtigall M., Hammann T., Denes T.-E., Kruppa K., Molnar-Lang M. Introgression of two broad-spectrum late blight resistance genes, *Rpi-blb1* and *Rpi-blb3*, from *Solanum bulbocastanum* dun plus Rase-specific *R* genes into potato pre-breeding lines. *Frontiers in Plant Science*. 2020;11:699. DOI: 10.3389/fpls.2020.00699

Ramzan F., Younis A., Lim K.-B. Application of genomic *in situ* hybridization in horticultural science. *International Journal of Genomics*. 2017:ID 7561909. DOI: 10.1155/2017/7561909

Rodrigo B.-G., Van Silfhout A.A., Visser R.G.F., Munikote S. Ramanna, Van Tuyl J.M. Progenies of allotriploids of Oriental×Asiatic lilies (*Lilium*) examined by GISH analysis. *Euphytica*. 2006;151:243-250. DOI: 10.1007/s10681-006-9148-x

Rokka V.-M., Lapitan N.L.V., Knudson D.L., Pehu E. Fluorescence *in situ* hybridization of potato somatohaploids and their somatic hybrid donors using two *Solanum brevidens* specific sequences. *Agricultural and Food Science*. 1998;7(1):31-38. DOI: 10.23986/afsci.72853

Rybin V.A. Karyological investigation on some wild growing and indigenous cultivated potatoes of America. *Bulletin of applied botany, of genetics and plant breeding*. 1929;20:655-720. [in Russian] (Рыбин В.А. Кариологическое исследование некоторых видов дикорастущего и выращиваемого в сельском хозяйстве картофеля Америка. *Труды по прикладной ботанике генетике и селекции*. 1929;20:655-720).

Rybin V.A. Cytological investigation of the South American cultivated and wild potatoes, and its significance for plant breeding. *Bulletin of applied botany, of genetics and plant breeding. Ser. 2.* 1933;2:3-100. [in Russian] (Рыбин В.А. Цитологическое исследование южноамериканского культивируемого и дикого картофеля и его значение для селекции растений. *Труды по прикладной ботанике генетике и селекции. Сер. 2.* 1933;2:3-100).

Schwarzacher T., Leitch A.R., Bennett M.D., Heslop-Harrison J.S. *In situ* localization of parental genomes in a wide hybrid. *Annals of Botany*. 1989;64(3):315-324. DOI: 10.1093/oxfordjournals.aob.a087847

Silva G.S., Souza M.M. Genomic *in situ* hybridization in plants. *Genetics and molecular research*. 2013;12(3):2953-2965. DOI: 10.4238/2013.August.12.11

Song J., Dong F., Jiang J. Construction of a bacterial artificial chromosome (BAC) library for potato molecular cytogenetics research. *Genome*. 2000;43(1):199–204. DOI: 10.1139/gen-43-1-199

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. *Systematic Botany*. 1992;17(3):432-448.

Spooner D.M., Van Den Berg R.G., Miller J.T. Species and series boundaries of *Solanum* series *Longipedicellata* (*Solanaceae*) and phonetically similar species in ser. *Demissa* and ser. *Tuberosa*: implications for a practical taxonomy of section *Petota*. *American Journal of Botany*. 2000;88(1):113-130.

Spooner D.M., Rodríguez F., Polgár Z., Ballard H.E., Jansky S.H. Genomic origins of potato polyploids: GBSSI gene sequencing data. *Crop Science*. 2008;48:27-36. DOI: 10.2135/cropsci2007.09.0504tpg

Spooner D.M., Ghislain M., Simon R., Jansky S.H., Gavrilenko T. Systematics, diversity, genetics, and evolution of wild and cultivated potatoes. *The Botanical Review*. 2014;80(4):283-383. DOI: 10.1007/s12229-014-9146-y

Stupar R.M., Song J., Tek A.L., Cheng Z., Dong F., Jiming J. Highly condensed potato pericentromeric heterochromatin contains rDNA-related tandem repeats. *Genetics*. 2002;162(3):1435-1444.

Szinay D., Wijnker E., van den Berg R., Visser R.G.F., de Jong H., Bai Y. Chromosome evolution in *Solanum* traced by cross-species BAC-FISH. *New Phytologist*. 2012;195:688-698. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2012.04195.x

Tang X., de Boer J.M., van Eck H.J., Bachem C., Visser R.G., de Jong H. Assignment of genetic linkage maps to diploid *Solanum tuberosum* pachytene chromosomes by BAC-FISH technology. *Chromosome Research*. 2009;17(7):899-915. DOI: 10.1007/s10577-009-9077-3

Tarwacka J., Polkowska-Kowalczyk L., Kolano B., Śliwka J., Wielgat B. Interspecific somatic hybrids *Solanum villosum* (+) *S. tuberosum*, resistant to *Phytophthora infestans*. *Journal of plant physiology*. 2013;170(17):1541-8. DOI: 10.1016/j.jplph.2013.06.013

Yao X., Ge X., Chen J., Li Z. Intra- and intergenomic relationships in interspecific hybrids between *Brassica* (*B. rapa*, *B. napus*) and a wild species *B. maurorum* as revealed by genomic *in situ* hybridization (GISH). *Euphytica*. 2010;173:113-120. DOI: 10.1007/s10681-010-0131-1

Zwierzykowski Z., Zwierzykowska E., Taciak M., Jones N., Kosmala A., Krajewski P. Chromosome pairing in allotetraploid hybrids of *Festuca pratensis* × *Lolium perenne* revealed by genomic *in situ* hybridization (GISH). *Chromosome Research*. 2008;16(10):575-585. DOI: 10.1007/s10577-008-1198-6