

С.С. КИР'ЯЧЕНКО¹, І.А. КОЗЕРЕЦЬКА¹,
С. РАКУСА-СУЩЕВСЬКИ²

¹ Київський національний університет ім. Тараса Шевченка,
вул. Володимирська, 60, Київ, 01003

E-mail:kozer@univ.kiev.ua

² Відділ біології Антарктики, Польська Академія наук,
вул. Устрицька, 10/12, Варшава, Польща 02-141.

**DESCHAMPSIA ANTARCTICA:
ГЕНЕТИЧНІ
ТА МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНІ
АСПЕКТИ ПОШИРЕННЯ
В АНТАРКТИЦІ**



Обговорюються генетичні та молекулярно-біологічні особливості *Deschampsia antarctica*, які могли б забезпечити їй успіх в колонізації Антарктики. Дослідження в цьому напрямку досить обмежені і не дають однозначної відповіді на запитання, які саме унікальні або спеціальні пристосування є причиною такого поширення. Крім того, залишається незрозумілим, чому саме *Deschampsia antarctica*, а не якийсь інший вид судинних рослин успішно поширюється в Антарктиді. Подальші генетичні та молекулярно-біологічні дослідження цього виду та інших потенціальних мігрантів дозволять краще зрозуміти загадку його розповсюдження в Антарктиді.

© КИР'ЯЧЕНКО С.С., КОЗЕРЕЦЬКА І.А.,
РАКУСА-СУЩЕВСЬКИ С., 2005

Вступ. Антарктида є унікальним континентом з особливо суворими умовами існування біологічних об'єктів. Таким чином, її можна розглядати як унікальний полігон в дослідженнях адаптаційних потенціалів різноманітних представників рослин та тварин, а також мікроорганізмів.

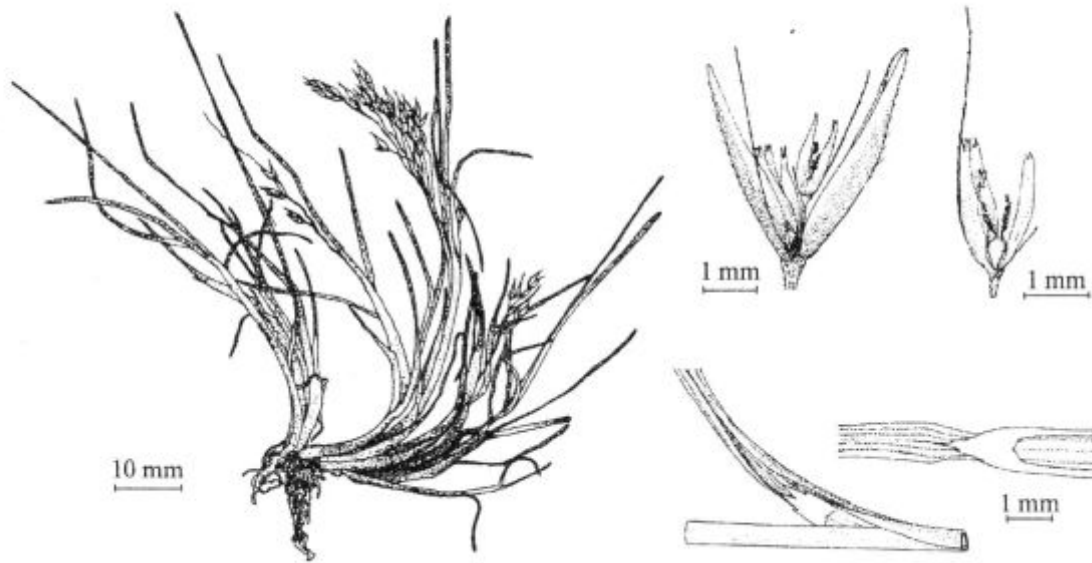
Флора Антарктиди в основному представлена водоростями, мохоподібними та лишайниками і лише два види судинних рослин, *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. (*Caryophyllaceae*) і *Deschampsia antarctica* Desv. (*Poaceae*), трапляються на шостому континенті [1, 2]. Таку обмеженість різноманітності видів судинних рослин порівняно з високоширотними районами Арктики (де зустрічається близько 100 видів покритонасінних) [3–5] пояснюють географічною ізоляцією континенту та постійною дією несприятливих факторів зовнішнього середовища. Так, влітку температура повітря в прибережних регіонах Антарктики лише зрідка піднімається вище 5 °C [2, 6].

Існування цих видів за таких суворих умов робить їх надзвичайно цікавими об'єктами для біологів різних спеціальностей. Вкрай цікаво було б дослідити генетичну та біохімічну обумовленість таких ознак, як морозостійкість, стійкість до світлового стресу, високий рівень фотосинтезу за низьких температур та можливість існування в умовах підвищеної ультрафіолетової радіації.

Серед відомих нам наукових досліджень, об'єктом яких є *D. antarctica*, частка генетичних та молекулярно-біологічних дуже незначна. Унікальність цього виду привернула увагу генетиків та молекулярних біологів лише в останні декілька років. Але, зважаючи на бурхливий розвиток сучасних методів досліджень, варто очікувати найближчим часом отримання якісно нових даних з приводу спадково обумовлених адаптаційних характеристик *D. antarctica*.

Даний огляд присвячено *D. antarctica* — представникові злакових, який може розглядатися як важливий об'єкт фундаментальних і прикладних генетичних досліджень.

Умови існування. Одними з найважливіших умов існування рослин є кількісний та якісний склад води та ґрунту. Гуано пінгвінів є одним із основних джерел азоту в збудованих екосистемах Антарктики, саме ним



Загальний вигляд *D. antarctica* (автор Halina Galera)

формуються збагачені азотом орнітогенні ґрунти, вік яких сягає сотні і навіть тисячі років. В той же час і вода відіграє важливу роль у перерозподілі азоту. Фосфати є іншим домінуючим елементом у реліктових орнітогенних ґрунтах антарктичної тундри. Відзначено високий вміст катіонів, в основному K^+ , що свідчить про органічне походження цих ґрунтів. Продемонстровано, що рН таких ґрунтів, як правило, нижче 4. В той же час рН води характеризується більш високими показниками [4, 5].

Хімічні характеристики води та ґрунтів впливають на біохімічні та фізіологічні особливості рослин, тому ці показники повинні обов'язково враховуватись при дослідженні адаптивного потенціалу *D. antarctica*.

Характеристика виду. Вид є багаторічною рослиною, великі особини досягають майже 35–40-річного віку. Стебло — трав'янисте до 25 см заввишки, молоді пагони розташовуються в піхві листка, листки сидячі, лінійні, квітки двостатеві (рисунок). *D. antarctica* формує низькі дернисті угруповання. Часто рослини утворюють одну суцільну, неперервну дернину, яка може займати площу від одного до декількох сотень квадратних метрів. Зрідка рослини розвиваються відособлено, формуючи куртину до 1 м ши-

риною і 25 см заввишки, на рельєфному, каменистому морському березі [9, 10].

Часто спостерігається відмирання рослин із середини клону, а повторний цикл розвитку починається, коли рослина розвивається на новому місці. У цілому особини мають типову форму для рослин, які зростають у посухостійких місцях і не мають особливих помітних морфологічних адаптацій до кліматичних умов Антарктики [10].

Листки мають продихи і містять щільний восковий шар тільки на верхній стороні, що є однією з ознак посухостійких рослин [11]. У *D. antarctica* відзначено широкий діапазон індивідуальних форм, які відрізняються кількістю мезофільних хлоропластів. Кількість хлоропластів негативно корелює з такими параметрами середовища, як бідний світловий день та середні річні температури [12].

Однак на даний час не виявлено жодних спеціальних анатомічних адаптацій у *D. antarctica*, які б підвищували її виживання в такому екстремальному навколишньому середовищі.

Генетика стресу. Одними з білків, інтенсивність синтезу яких змінюється при дії холодового стресу, є дегідрини. Ця група білків характеризується високою гідрофільністю білкової молекули. Під час зневоднення клітини під дією водного стресу ці білки за ра-

хунок своєї високої гідрофільності запобігають втраті клітиною води й стабілізують інші клітинні білки. Оскільки холодострес тісно пов'язаний зі зневодненням клітин, під час холодової акліматизації рослин спостерігається посилений синтез дегідринів. Ймовірно, дегідрини запобігають утворенню льоду в клітинах [13].

Методом Саузерн-блот аналізу геномної ДНК *D. antarctica* виявлено декілька генів дегідринів. Частина транскриптів накопичувалась при екзогенному впливі абсцизової кислоти (АБК), а частина — під дією осмотичного і сольового стресу, що показує наявність АБК-залежного і АБК-незалежного шляхів регуляції експресії дегідринів. Вестерн-блот аналіз показав наявність семи білків дегідринів (58, 57, 55, 53, 48, 30 і 27 кДа), синтез яких індукувався при дії різних стресових факторів. У відповідь на холодострес ці білки накопичуються у васкулярній та епідермальній тканинах, де зазвичай розташовуються первинні зони утворення льоду [14].

Відомо, що білки, які синтезуються у відповідь на гіпотермію та холодову адаптацію у рослин, характеризуються шапероновою активністю. Шаперони з молекулярними масами 60, 70 та 90 кДа є стресовими білками, які синтезуються під дією високотемпературного стресу і відповідно називаються білками теплового шоку (БТШ) [15]. Продемонстровано, що у *D. antarctica* за холодостресу та теплового стресу відбувається накопичення БТШ 70. У зв'язку з цим можливо, що саме цей білок у *D. antarctica* забезпечує низькотемпературний оптимум фотосинтезу (+13 °C) [2, 16].

Скринінг на наявність антифризних білків у *D. antarctica* показав їх високий вміст серед загального пулу білків. Ці антифризні білки інгібують вторинну кристалізацію льоду (збільшення кристалів льоду в клітинах тканин) і, можливо, вони необхідні для виживання протягом тривалого періоду дії мінусових, близьких до нуля температур. Хоча в цілому антифризні білки і можуть бути одним з факторів, що дозволяє рослинам переносити низькі температури навколишнього середовища, кореляція між рівнем їх

активності і ареалом рослин не встановлена [17].

У геномі *D. antarctica* локалізовано послідовність, гомологічну до послідовностей генів, що кодують убіквітин-подібні білки, які беруть участь в убіквітин-, АТФ-залежному протеолізі [18]. Такий результат є очікуваним в силу еволюційної консервативності убіквітинів та їх важливої ролі у процесах життєдіяльності рослин.

Постійні низькі температури та епізодичні періоди високої освітленості є типовими в період вегетаційного сезону *D. antarctica*. Ці фактори сприяють утворенню активних форм кисню і можуть бути причиною фотоінгібування, тому ефективний механізм розсіювання енергії і/або утилізація хімічно активних форм кисню сприяють виживанню в таких жорстких умовах. При дослідженні дії низьких температур на неакліматизовані і холодо-акліматизовані особини *D. antarctica* встановлено, що нефотохімічна диссіпація істотно залежить від енергії світла. При цьому в ході розвитку стійкості до вимушеної, але регульованої фотоінгібіції флуоресценції фотосистеми II активувалися детоксикуючі ферменти. Загальний вміст розчинних антиоксидантів, пігментів залежав від вибіркової активності таких ферментів, як супероксиддисмутаза, аскорбатпероксидаза і глутатіонредуктаза [19]. Необхідно відзначити, що в роботі не досліджувались механізми підвищення активності цих ферментів. Гіпотетично такий ефект може бути викликаний підвищенням експресії відповідних генів, посиленням трансляції або збільшенням активності ферментів не за рахунок збільшення кількості білка.

Відомо, що одним із елементів захисту рослин від мінусових температур є нагромадження в тканинах розчинних цукрів. Так, вже при температурі -3,6 °C *D. antarctica* накопичує сахарозу і низькомолекулярні полімери фруктози у кількості, що на 17 % (від сухої ваги) більше, ніж при температурах вище +22 °C. Крім того, максимум акумуляції сахарози, фруктози й глюкози в листках спостерігається перед початком антарктичної зими [20]. У *D. antarctica* дос-

ліджено ген, який кодує фермент сахарозо-фосфат синтетазу. Продемонстровано, що у відповідь на низькі температури зростає активність ферменту, але його кількість та експресія гена залишаються незмінними [21].

Ліпідний склад біомембран також відіграє важливу роль в захисті рослин від низьких температур, регулюючи можливість току води. Порівняння ліпідного складу *D. antarctica* з іншими видами рослин не виявило ніяких особливих ліпідів. Проте вміст фосфатидилгліцеролу є зниженим, що зазвичай пов'язують з підвищеною чутливістю рослин до стресу [22].

Загалом застосування найсучасніших молекулярних методів при дослідженнях *D. antarctica* не встановило наявності особливих або раніше не описаних у рослин генів, які експресувалися б у відповідь на абіотичний стрес.

Генетика популяцій. Популяції *D. antarctica* з двох віддалених регіонів, а саме островів Сігні та Леоні (Signy and Leonie), продемонстрували низьке генетичне різноманіття: тільки 15,95 % загальної генетичної мінливості всередині популяції. Генетична відстань між популяціями становить 37,1 %. Аналіз проведено методом поліморфізму довжини ампліфікованих фрагментів (AFLP) [23]. Це свідчить про те, що нові популяції виникають з одного або декількох засновників в основному шляхом самозапилення або вегетативного розмноження.

Подібні дослідження з оцінки молекулярної варіабельності із застосуванням AFLP виконано для двох різних популяцій *D. antarctica* з острова Короля Георга (King George). Чотири пари праймерів в різних комбінаціях дали 339 фрагментів, 132 з яких виявилися поліморфними. Тільки 12 відрізнялися у рослин з різних частин ареалу. Крім того, продемонстровано, що рослини з місцезростань з багатим ґрунтом більш поліморфні, ніж особини з місць зі збідненим ґрунтом. Автори вважають, що виявлений поліморфізм є скоріше наслідком адаптації до зовнішніх умов, а не генетичної дивергенції [24]. Виконано цікаве популяційно-генетичне дослідження на рослинах іншого виду цього роду, а саме *D. caespitosa*. Застосував-

ши метод поліморфізму випадкових ампліфікованих фрагментів (RAPD), автори продемонстрували у рослин з північної частини провінції Онтаріо (Канада) понад 90 % поліморфних смуг. В той же час загальна молекулярна мінливість знаходиться на рівні популяції *D. antarctica* і становить 14–15 % [25].

Отже, для з'ясування основних закономірностей поширення виду на шостому континенті необхідно застосування більш масштабних досліджень.

Цитогенетика. Вважається, що види з низьким вмістом ДНК є краще адаптованими до холодних умов, тобто вміст ДНК може розглядатись як один із факторів географічного поширення [10]. *D. antarctica* характеризується низьким вмістом ДНК (10 pg), що відповідно характеризує її як преадаптовану до розвитку в холодних умовах [26]. Основне хромосомне число роду складає $n = 7$ та 13, поліплоїдний ряд роду — $2n = 14, 24, 26, 28, 32, 42, 52$ та 56; відповідно в роді наявні ди-, тетра-, гекса- та октаплоїди [23]. Цитогенетичний аналіз *D. caespitosa* з популяцій півночі озера Онтаріо показав високий вміст анеуплоїдів та варіювання диплоїдного числа хромосом від 18 до 26. Крім того, у особин з $2n = 26$ зустрічаються додаткові В-хромосоми [26].

Загалом інформація по цитогенетиці *D. antarctica* вкрай бідна, каріотип остаточно не охарактеризований, роль геномних мутацій в адаптаційних процесах не досліджувалась.

* * *

Чому саме *D. antarctica* є одним із двох видів судинних рослин, які успішно колонізують Антарктиду? Може існувати дві гіпотези. Перша — *D. antarctica* притаманні унікальні біологічні особливості, які дозволяють їй успішно колонізувати Антарктиду. Але аналіз виконаних експериментальних досліджень свідчить про те, що виявити такі специфічні ознаки біологам різних спеціальностей поки що не вдалося. Друга — *D. antarctica* є одним із багатьох видів, що існують в подібних умовах (наприклад в Арктиці), який випадково потрапив до Антарктиди і зберігся внаслідок географічної

ізоляції континенту. Можливо діяли одночасно обидва механізми: наявність специфічних пристосувань у виду та обмеженість міграцій до Антарктики. Остаточне вирішення цієї дилеми потребує подальших, більш масштабних та комплексних біологічних досліджень у різних напрямках.

Автори вдячні Катаржині Чведоржевській (Відділ біології Антарктики, Польська академія наук) за допомогу в зборі матеріалу та Андрію Сиволюбу (біологічний факультет Київського національного університету ім. Тараса Шевченка) за участь у обговоренні при підготовці статті до друку.

SUMMARY. The genetical and molecular biological attributes of *Deschampsia antarctica* are considered in relation to its remarkable success in the colonization of the maritime Antarctic. However, none of the data from several published research studies provide convincing evidence that this species possess any obvious unique or specialised adaptations which might account for this success. While its occurrence appears to have spanned much of the Holocene, there is no evidence that there have ever been any other native vascular plant species in the maritime Antarctic. It is still unclear why no other taxa have succeeded in colonising this region. Further intensive studies of genetics and molecular biology of this species, and of other potential immigrants, may provide a better understanding of their enigmatic success in the maritime Antarctic.

РЕЗЮМЕ. Обсуждаются генетические и молекулярно-биологические особенности *Deschampsia antarctica*, которые могли бы обеспечить ей успех в освоении Антарктики. Исследования в этом направлении довольно ограниченные и не дают однозначного ответа на вопрос, какие именно уникальные или специальные приспособления являются причиной такого успеха. Кроме того, остается непонятным, почему именно *Deschampsia antarctica*, а не какой-нибудь другой вид сосудистых растений успешно распространяется в Антарктиде. Дальнейшие генетические и молекулярно-биологические исследования этого вида и других потенциальных мигрантов позволят лучше понять загадку его широкого распространения в Антарктиде.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. http://www.antarctica.ac.uk/About_Antarctica/Wildlife/Plants/index.html
2. Alberdi M., Bravo L.A., Gutierrez A., Gidekel M., Corcuera L.J. Ecophysiology of Antarctic vascular plants // *Physiol. Plant.* — 2002. — **115**. — P. 479—486.
3. Holmen H. The vascular plants of Peary Land // *Meddr Grinland.* — 1957. — **124**. — P. 1—149.
4. Callaghan T.V., Björn L.O., Chernov Y. et al. Biodiversity, Distributions and Adaptations of Arctic Species in the Context of Environmental Change // *Ambio.* — 2004. — **33**, № 7. — P. 404—417.
5. Лебедева Н.В., Криворуцкий Д.А., Пузаченко Ю.Г. и др. География и мониторинг биоразнообразия. — М.: Изд-во Науч. и учеб.-метод. центра, 2002. — 432 с.
6. Rakusa-Suszczewski S. Functioning of the Geoecosystem for the West Side of Admiralty Bay (King George Island, Antarctica): Outline of Research at Arctowski Station // *Ocean and Polar Res.* — 2003. — **25**, № 4. — P. 653—662.
7. Juchnowicz-Bierbasz M., Rakusa-Suszczewski S. Nutrients and cations content in soil solutions from the present and abandoned penguin rookeries (Antarctica, King Georg Island) // *Pol. J. Ecol.* — 2002. — **50**, № 1. — P. 79—91.
8. Nedzarek A., Chwedorzewska K.J. Nutrients content in water flash chosen sites of *Deschampsia antarctica* (King George Island, Antarctica) // in press.
9. Moore D.M. Studies in *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl and *Deschampsia antarctica* Desv.: II Taxonomy, distribution and relationships // *Bull. Brit. Antarct. Surv.* — 1970. — **23**. — P. 63—80.
10. Smith R.I.L. The enigma of *Colobanthus quitensis* and *Deschampsia antarctica* in Antarctica // *Antarctic Biology in a Global Context.* — 2003. — P. 234—239.
11. Romero M., Casanova A., Iturra G., Reyes A., Montenegro G., Alberdi M. Leaf anatomy of *Deschampsia antarctica* (Poaceae) from the Maritime Antarctic and its plastic response to changes in the growth conditions // *Rev. Chilena de Historia Natur.* — 1999. — **72**. — P. 411—425.
12. Jellings A.J., Usher M.B., Leech R.M. Variation in the chloroplast to cell area index in *Deschampsia antarctica* along a 160 latitudinal gradient // *Bull. Brit. Antarct. Surv.* — 1983. — **61**. — P. 13—20.
13. Колесничко А.В., Войников В.К. Белки низкотемпературного стресса у растений. — Иркутск : Арт-Пресс, 2003. — 196 с.
14. Olave-Concha N., Ruiz-Lara S., Munoz X., Bravo L.A., Corcuera L.J. Accumulation of dehydrin transcripts and protein in response to abiotic stresses in

- Deschampsia antarctica* // *Antarct. Sci.* — 2004. — **16**, № 2. — P. 175–184.
15. Войников В.К., Иванова Т.Г., Рудиковский А.В. Белки теплового шока растений // Физиология растений. — 1994. — **31**. — С. 970–979.
 16. Reyes M.A., Corcuera L.J., Cardemil L. Accumulation of HSP70 in *Deschampsia antarctica* Desv. leaves under thermal stress // *Antarct. Sci.* — 2003. — **15**, № 3. — P. 345–352.
 17. Doucet C.J., Byass L., Elias L., Worrall D., Smallwood M., Bowles D.J. Distribution and characterization of recrystallization inhibitor activity in plant and lichen species from the UK and maritime Antarctic // *Cryobiology*. — 2000. — **40**. — P. 218–227.
 18. Gidekel M., Destefano-Beltrán L., Garcia P., Mujica L., Leal P., Cuba M., Fuentes L., Bravo L.A., Corcuera L.J., Alberdi M., Concha I., Gutiérrez A. Identification and characterization of three novel cold acclimation-responsive genes from the extremophile hair grass *Deschampsia antarctica* Desv // *Extremophiles*. — 2003. — **7**, № 6. — P. 459–469.
 19. Pérez-Torres E., Garcia A., Dinamarca J., Alberdi M., Gutiérrez A., Gidekel M., Ivanov A.G., Hüner N.P.A., Corcuera L.J., Bravo L.A. The role of photochemical quenching and antioxidants in photoprotection of *Deschampsia antarctica* // *Func. Plant Biol.* — 2004. — **31**, № 7. — P. 731–741.
 20. Montiel P.O. Soluble carbohydrates (trehalose in particular) and cryoprotection in polar biota // *Cryoletters*. — 2000. — **21**. — P. 83–90.
 21. Zuniga-Feest A., Ort D.R., Gutierrez A., Gidekel M., Bravo L.A., Corcuera L.J. Light regulation of sucrose-phosphate synthase activity in the grass *Deschampsia antarctica* // *Photosynt. Res.* — 2004 (in press).
 22. Bravo U.A., Ulloa N., Zuniga G.E., Casanova A., Corcuera L.J., Alberdi M. Cold resistance in Antarctic angiosperm // *Physiol. Plant.* — 2001. — **111**. — P. 55–65.
 23. Holderegger R., Stehlik I., Smith R.I.L., Abbott R.J. Population of Antarctic hairgrass (*Deschampsia antarctica*) show low genetic diversity // *Arctic, Antarctic and Alpine Res.* — 2003. — **35**, № 2. — P. 214–217.
 24. Chwedorzewska K.J., Bednarek P.T., Puchalski J. Molecular variations of antarctic grass *Deschampsia antarctica* Desv. from King George Island (Antarctica) // *Acta Soc. Bot. Pol.* — 2004. — **73**, № 1. — P. 23–29.
 25. Nkongolo K.K., Deck A., Michael P. Molecular and cytological analyses of *Deschampsia cespitosa* populations from Northern Ontario (Canada) // *Genome*. — 2001. — **44**, № 5. — P. 818–825.
 26. Bennett M.D., Smith J.B., Lewis Smith R.I. DNA amounts of angiosperm from the Antarctic and South Georgia // *Environ. Exp. Bot.* — 1982. — **22**. — P. 307–318.
 27. <http://delta-intkey.com/grass/www/deschamp.htm>

Надійшла 11.02.05