

УДК 575.17 (582.542.11)

**ЗБЕРЕЖЕННЯ УНІКАЛЬНОСТІ ЗА КОМПЛЕКСНОЮ
ПРИСТОСОВУВАНІСТЮ РІЗНИХ ГЕНОТИПІВ
DESCHAMPSIA ANTARCTICA DESV. В УМОВАХ
СТАНДАРТИЗОВАНОГО ВИРОЩУВАННЯ РОСЛИН *IN VITRO***

Н. Мірюта¹, О. Пороннік¹, І. Парнікоза^{1,2}, **В. Грахов³**, Г. Мирюта¹, Н. Козуб⁴, І. Созінов⁴, В. Кунах¹

¹Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, вул. Акад. Заболотного, 150, Київ, 03680, Україна, ivan.parnikova@gmail.com

²Державна установа Національний антарктичний науковий центр МОН України, бульвар Тараса Шевченка, 16, Київ, 01601, Україна

³Національний ботанічний сад ім. М. М. Гришка НАН України, вул. Тимірязєвська, 1, Київ, 01014 Київ, Україна

⁴Інститут захисту рослин НААН України, вул. Васильківська, 33, Київ-22, 03022, Україна

Реферат На прикладі рослин з різним числом хромосом, виявлених серед проростків, отриманих з насіння *Deschampsia antarctica* Desv. з району Аргентинських островів, в умовах їх вирощування *in vitro* показано унікальність розрахованого комплексного показника адаптивності – зведеного латентного показника пристосовуваності (ЗЛПП). Припускається, що ЗЛПП певною мірою відображує специфічну інформацію, закладену в процесі адаптації рослин до унікальних природних умов в динамічній спадковій пам'яті, яка зберігається у досліджених генотипів за стандартизованих умов культивування *in vitro*.

Ключові слова: *Deschampsia antarctica*, рослини *in vitro*, зведений латентний показник пристосовуваності (ЗЛПП), адаптивність рослин.

Сохранение уникальности по комплексной приспособляемости разных генотипов *Deschampsia antarctica* Desv. в условиях стандартизованного выращивания растений *in vitro*

Н. Мирюта, О. Поронник, И. Парникова, **В. Грахов**, А. Мирюта, Н. Козуб, И. Созинов, В. Кунах

Реферат На примере растений с различным числом хромосом, обнаруженных среди проростков, полученных из семян *Deschampsia antarctica* Desv. из района Аргентинских островов в условиях их выращивания *in vitro*, показана уникальность рассчитанного комплексного показателя адаптивности – сводного латентного показателя приспособляемости (СЛПП). Предполагается, что СЛПП в определенной степени отображает специфическую информацию, заложенную в процессе адаптации растений к уникальным природным условиям в динамической наследственной памяти, которая сохраняется у исследованных генотипов при стандартизованных условиях культивирования *in vitro*.

Ключевые слова: *Deschampsia antarctica*, растения *in vitro*, сводный латентный показатель приспособляемости (СЛПП), адаптивность растений.

Conservation of complex adaptability uniqueness in different *Deschampsia antarctica* Desv. plant genotypes under standardized growth condition *in vitro*

N. Miryuta, O. Poronnik, I. Parnikoza, V. Grahov, A. Myryuta, N. Kozub, I. Sozinov, V. Kunakh

Summary. Uniqueness of complex adaptability index (united latent quality indicator of adaptability – ULQIA) has been shown to be taken place in plants having different chromosome number among *Deschampsia antarctica* Desv. (around Argentine Islands region, maritime Antarctic) cultivated under standardized growth condition *in vitro*. ULQIA is assumed to express underlying in this plant adaptation process to uniqueness nature condition in dynamic hereditary memory special information in certain degree. It was shown that dynamic hereditary memory was saved in investigated plant genotypes under standardized growth condition *in vitro*.

Key words: *Deschampsia antarctica*, plants *in vitro*, united latent quality indicator of adaptability (ULQIA), plant adaptability.

1. Вступ

В екології пристосовуваність може бути описана як здатність реагувати на неочікувані зміни у довкіллі (Conrad, 1983; Мусієнко та ін., 2004). Особливе зацікавлення викликає вивчення пристосовуваності рослин, що зростають в екстремальних умовах довкілля, таких як Антарктика, і які змушені адаптуватися як до локальної мозаїки мікрокліматів, так і до глобальних екологічних змін.

Стрессова акліматизація та набуття толерантності до стресів вимагають необхідного інструментарію узгодженої відповіді (оркестровки) реакцій на велику кількість різних абіотичних стрес-факторів – таких, як холод, посуха та засоленість, що можуть впливати на розвиток рослин та загрожують врожаю сільськогосподарських культур. Ці абіотичні стрес-фактори часто пов'язані між собою та індують подібні клітинні ушкодження (Shinozaki et al., 2003, Nakashima et al., 2002, Lee et al., 2012).

Рослини під час пристосування до несприятливих зовнішніх умов розвинули механізми адаптації на рівнях молекулярної, клітинної та фізіологічної відповіді, такої як продукування стресових білків, підвищення синтезу антиоксидантів та акумуляція сумісних розчинених речовин (Kreps et al., 2002; Iordachescu and Imai, 2008; Gill and Tuteja, 2010; Lee et al., 2012). Дослідження аборигенних видів судинних рослин одного з найекстремальніших регіонів – Антарктики, зокрема *Deschampsia antarctica* Desv., виявили наявність у них адаптації до різних абіотичних факторів стресу (Lee et al., 2012; Parnikoza et al., 2011 a,b; Ozheredova et al., 2015).

У попередніх дослідженнях на прикладі *D. antarctica* показано необхідність застосування низки показників для оцінки комплексної пристосовуваності: показника проективного покриття як показника зайнятої території та біометричних параметрів генеративних особин у популяції (Causton, Venus, 1981; Dietz, Steinlein, 1996; Мірjuta та ін., 2014; Parnikoza et al., 2015). У зв'язку з важливістю продукції життєздатного насіння в умовах флуктуацій мікрооточення до числа вимірюваних показників було включено характеристику накопичення деяких запасних та захисних білків насіння (Мірjuta та ін., 2014). Продукція життєздатного насіння у популяції, що зростають у різних мікрокліматичних умовах, може варіювати, зважаючи на те, що захисні білки можуть сприяти синтезу адаптивних сполук – флавоноїдів та фенолів (Van Loon L.C., 2009; Шалыго и др., 2012).

У даній роботі ми намагалися з'ясувати, які властивості, характерні для *D. antarctica* у природних умовах, зберігаються (у динамічній спадковій пам'яті) і як взаємодіють між собою при вирощуванні рослин в лабораторних умовах. Динамічна спадкова пам'ять – це спосіб збереження інформації, який, на відміну від структурної пам'яті (коли інформація записана в просторовій структурі біополімерів), забезпечується шляхом циркулювання сигналів у циклічній системі елементів. Прикладом можуть слугувати циклічні системи генів, які мають не менше двох функціональних станів і здатні зберігати кожен стан як під час існування клітини, так і під час послідовних клітинних поділів (Чураев, 2006). У зв'язку з різницею між структурною та динамічною спадковістю, крім поняття «ген» (що означає одиницю транскрипції і передається нащадкам за допомогою первинної послідовності ДНК), було введено поняття «епіген», в якому частина спадкової інформації зберігається, кодується та передається нащадкам поза первинною структурою молекул ДНК. Епігеном звуть спадкову одиницю, яка має не менше двох режимів функції

онування підлеглих їй генів і здатна зберігати кожен з режимів у послідовній низці поколінь (Чураев, 2006). Далі під терміном «генотип» ми будемо розуміти як набір генів, так і епігенів, характерний для отриманої з однієї насінини рослини з подальшим її клонуванням у стандартизованих умовах *in vitro*.

Динамічний стан спадкової інформації, що реалізується, ми оцінювали на основі зведеного латентного показника пристосовуваності (ЗЛПП), який оцінювали на основі трьох рядів даних: розподілів рослин (генотипів) за довжиною листка, частки основного та захисних білків різних молекулярних мас в листках цих рослин, вміст загальної фракції флавоноїдів у екстрактах з листків рослин досліджених генотипів. Результати визначення загального ЗЛПП та проміжних його значень за парами вивчених характеристик дозволять описати вихідний стан досліджених генотипів, які планується застосувати для моделювання впливу природних факторів та вивчення їх впливу на рівні синтезу білків (частки вмісту окремих захисних білків у листках), вторинних сполук (частки вмісту окремих флавоноїдів у метанольних екстрактах з листків) та морфометричних ознак (довжина листків).

2. Матеріали і методи

2.1. Район та об'єкт дослідження

Рослини, використані для дослідження, отримано з пророщеного *in vitro* насіння, зібраного з п'яти локалітетів району Аргентинських островів (поблизу Української антарктичної станції «Академік Вернадський»): о. Галіндез, о. Скуа, о. Дарбо, мису Расмуссен, о. Великий Ялур (рис. 1). Насіння збирали під час ІХ, ХІ, ХІV Українських антарктичних експедицій і пророщували згідно з регламентом, детально описаним (Zagrychuk et al., 2011/2012).

Таблиця 1

Хромосомні числа вивчених генотипів *D. antarctica* та інформація про локалізацію популяцій, з насіння яких вони походять

Генотип	Хромосомний набір, 2n (за: Navrocka et al., 2014)	Місце та умови зростання популяції, з якої походить генотип	Географічні координати	Сезон збору насіння
DAR12	26+1-3В	о. Дарбо, Північний півострів в районі скельного грота	S 65°23.424', W 64°12.543'	2006/07
G/D12-2a	26	о. Галіндез, Півострів Стелла	S 65°14.847', W 64°15.172'	2006/07
R35	26	мис Расмуссен, найвища точка скельного плато, західного закінчення	S 65°14.819', W 64°05.156'	2004/05
S22	26	о. Скуа, мис Фінгер	S 65°15.120', W 64°15.300'	2009/10
Y66	36, 38, 39	о. Великий Ялур, один з фрагментів локальної популяції в північно-східній частині острова	S 65°14.039', W 64°09.761'	2004/05

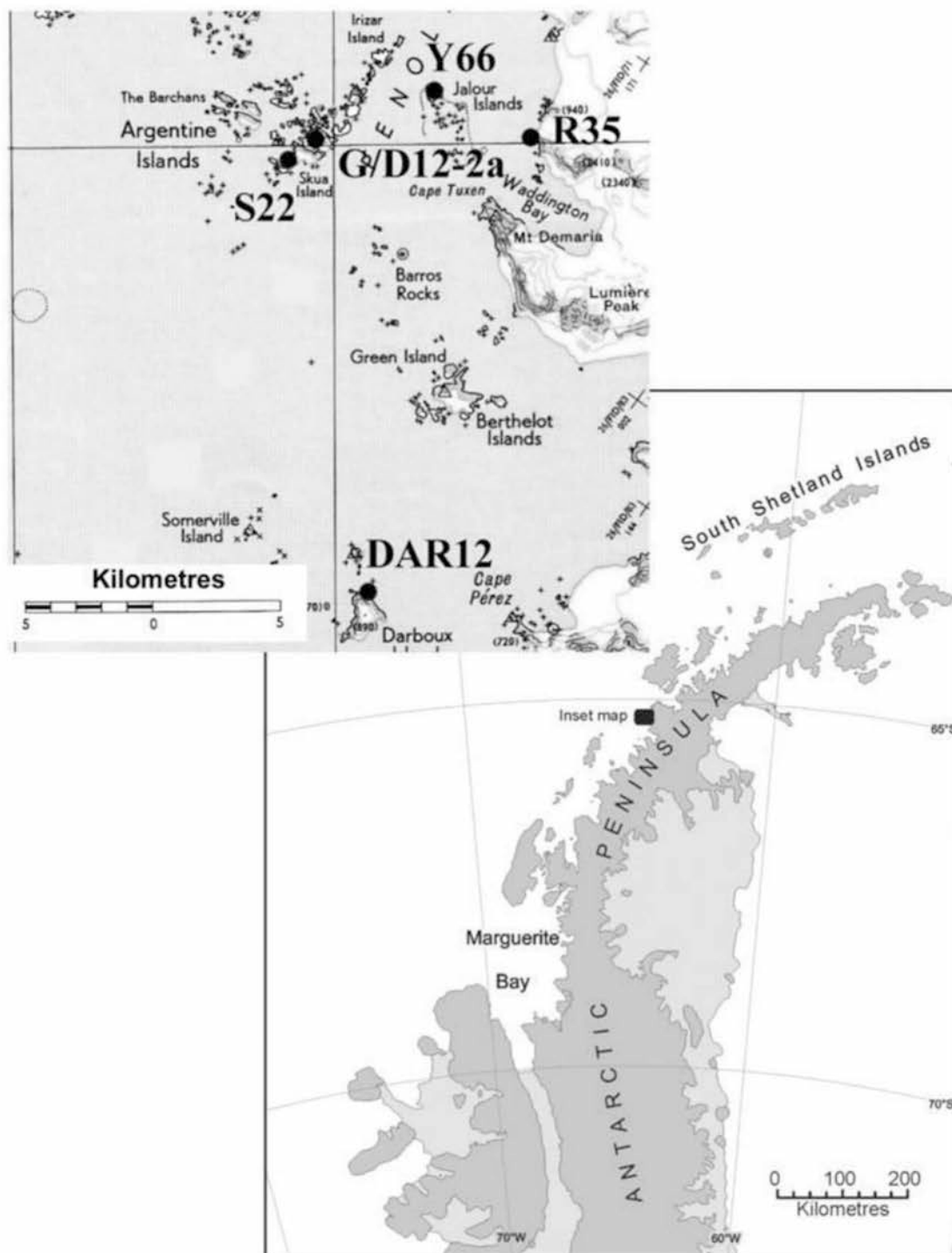


Рис. 1. Дислокація місць походження досліджуваних генотипів: DAR12 – о. Дарбо, G/D12-2a – о. Галіндез, R35 – мис Расмуссен, S22 – о. Скуа, Y66 – о. Великий Ялур

2.2. Методи дослідження

Дослідні рослини вирощували *in vitro* у світловій кімнаті при освітленні 6400 люкс, температурі 20–22°C, вологості 80 %. Культивовані рослини за молекулярними і хромосомними маркерами були стабільні (Andreev et al., 2010, Volkov et al., 2010, Navrocka et al., 2014, Amosova et al., 2015; Спірідонова та ін., 2016).

Для досліду кожен вихідну рослину 70-75 пасажу розклоновували на 3-5 рослин і вирощували на середовищі В5 протягом місяця. Рослини вивчали у трьох біологічних і трьох статистичних повторностях.

В якості показників пристосовуваності вивчено розподіли за біометричною характеристикою "довжина листка", спектри білків та вторинних метаболітів листків рослин досліджених генотипів.

Розподіл за довжиною листків вивчали згідно з методологією, описаною раніше (Парнікоза та ін., 2013; Мірjuta та ін., 2014; Parnikoza et al., 2015).

Екстрагування білків для вивчення їхнього спектру проводили за наступною методикою. Наважку 4 мг листків рослин місячного віку розтирали, заливали 40 мкл екстракційного буферу (гліцерин – 11 мл, 1М розчин Tris-HCl (pH=6,8) – 8 мл, 10% розчин ДСН – 20 мл, бромфеноловий синій – кілька кристалів, β-меркаптоетанол – 5 мл, вода дистильована – до 100 мл). Далі зразки інтенсивно струшували, залишали закритими на 1,5 години або на ніч при кімнатній температурі. Перед нанесенням на гель кип'ятили 5 хв. на водяній бані. Для електрофорезу у поліакриламідному гелі (ПААГ) відбирали 15 мкл зразка. Метод дозволяє розділити молекули білка, які відрізняються більше, ніж на 0,1% (1 з 1000) (Побежимова и др., 2014; Остерман, 1981). Використовували електродний буфер (pH=8,3): трис, гліцин, ДСН, дистильована вода. Параметри електрофорезу: у концентруючому гелі – 20 мА; у розділюючому гелі – 30 мА. Гель фарбували за допомогою фарби: кумасі, 96% етанол, крижана оцтова кислота, 60% трихлороцтова кислота. Залишки фарби відмивали теплою водою, поки гель не посвітлішав (1-2 доби). Після відмивки гель фотографували на транслюмінаторі з білим світлом.

Цифрові фотографії денситометрували. Визначали частки окремих груп білків, характерних для насіння Poaceae, зокрема пшениці *Triticum aestivum* L., вимірюючи відповідні площі під піками денситограми по відношенню до площ загального пулу білків за допомогою програми Scion Image (<http://scion-image.software.informer.com/4.0/>).

Профілювання вторинних метаболітів листків рослин досліджених генотипів проводили методом обернено-фазової високоефективної рідинної хроматографії. Розділення зразків проводили на хроматографічній системі Agilent 1100 з 4-канальним насосом, вакуумним дегазатором, автосамплером, термостатом колонок та діодно-матричним детектором. Використовували двох-елюентну схему (елюент А=0,05 М водний розчин ортофосфорної кислоти H₃PO₄; В=метанол/всі елюенти й добавки Sigma-Aldrich, градація чистоти HPLC, градієнт) на колонці Thermo Scientific Hypersil™ BDS C18, 3μm, 2.1×100 mm з паспортною роздільною здатністю понад 12 000 т.т. Об'єм зразка 5 мкл, термостатування колонки при 20°C, швидкість потоку 0,2 мл/хв, час аналізу до 80 хв, профіль елюювання – широкопелювковий лінійний градієнт від 10% В в А до 100% В за 30 хв, далі ізократа В, з прискоренням потоку до 0,5 мл/хв та підвищенням температури колонки до 40°C. Детектування на довжинах хвиль 206, 254, 300, 350 та 450 нм для визначення більшості органічних сполук (в т. ч. терпеноїдів), більшості речовин ароматичної природи, фенілпропанолів (оксикоричні кислоти та лігнани), флавоноїдів (флаволи й флавоноли), каротиноїдів і хлорофілів, відповідно. Для всіх речовин реєстрували спектри поглинання в ультрафіолетовому та видимому діапазонах з метою встановлення природи вторинних метаболітів і віднесення хроматографічних піків до певних груп речовин. До того ж, для перевірки діапазонів часу утримання, спектрів і приблизної оцінки вмісту використовували стандарти хлорогенової кислоти, рутину та β-ситостерину (LGC Standards /United Kingdom, Head Office/, www.lgcstandards.com). Останній використовувався як ліпофільний компонент з малою мольною екстинкцією. Це не є точною хімічною ідентифікацією, проте високо ймовірним припущенням, яке базується на хроматографічній поведінці та спектрах поглинання розділених компонентів. Так, флавоноли характеризуються двома вираженими максимумами при 260 й 350 нм, а оксикоричні кислоти великим (часто з плечем) максимумом при 300–320 нм. Сама коричнева й оксибензойні кислоти та лігнани мають максимум поглинання біля 280–300 нм (Dictionary of Natural Products, 2007, 2014).

Відтворюваність роботи приладу та режиму хроматографування контролювали, застосовуючи реперну суміш дев'яти алкіл-фенонів (Sigma-Aldrich Co., www.sigmaaldrich.com) від ацетофенону до міристофенону. При цьому похибка введення зразка не перевищувала 2 %, а відхилення часу утримання в основному діапазоні – 5 %. Для серії зразків екстрактів листків задля досягнення максимального розділення компонентів проводили оптимізацію хроматографічного режиму, фінальні робочі параметри якого наведені вище. В оптимізованому режимі хроматографування корисних зразків пов-

торювали через кілька днів. Оскільки при короткохвильовому УФ детектуванні (206 нм) неможливо повністю виключити дрейф базової лінії при підвищенні частки метанолу в елюенті та артефакти, від хроматограм зразків віднімалася «холоста» хроматограма (substraction blank run). У такому вигляді хроматограми представлені графічно. Для оцінки вмісту речовин використовували висоти та площі піків на відповідних довжинах хвиль детектування. Опрацювання й візуалізацію хроматограм та спектрів поглинання проводили за допомогою програм Agilent Chem Station® та Corel Draw®.

2.3. Статистичний аналіз

Кінцевою метою статистичного аналізу було отримання зведеного латентного показника пристосовуваності (ЗЛПП), як відбитку конкретних умов мікросередовища, де було сформоване насіння – джерело рослин різних генотипів. ЗЛПП розраховували на основі порівняння кількох пар параметрів. Оцінений в балах ЗЛПП для кожного з аналізованих генотипів слугує виміром пристосовуваності популяції до конкретних мікроумов в рік збору насіння. Найбільша координація вимірюваних індексів пристосовуваності відповідає нульовому значенню зведеного латентного показника. Чим більше відхилення від нуля, тим більш односпрямовані (у випадку позитивних значень ЗЛПП) чи різноспрямовані (у випадку його негативних значень) зміни між дослідженими показниками для аналізованих генотипів. Тобто, набір вимірних індексів (біоморфометричних та вмісту окремих фракцій білків та вторинних метаболітів рослин) певною мірою характеризує ступінь пристосовуваності популяцій, з яких було зібране насіння для отримання вивчених рослин, до певної комбінації мікроумов, і є латентною характеристикою (Парнікоза та ін., 2013; Мирюта та ін., 2014; Parnikova et al, 2015).

Для отримання значення ЗЛПП на першому етапі було застосовано деякі евристичні методи зниження розмірності, зокрема, метод екстремального групування характеристик (Айвазян, 1989). У рамках застосованого евристичного підходу оцінку латентного зведеного показника проводили за допомогою попарних порівнянь.

Для дослідження різниці за кожним із вимірних біометричних параметрів між популяціями *D. antarctica*, що зростали в різних екологічних умовах, з насіння яких отримано вивчені рослини, за кожним параметром було побудовано розподіли. Пошук різниць між розподілами для пар популяцій за біометричними параметрами проводили методом критерію медіани. Цей непараметричний тест є варіацією тесту χ^2 , що дозволяє оцінити внутрішньогрупові відмінності для двох популяцій без оцінки нормальності розподілів популяційних параметрів (Поллард, 1982).

Під час обстеження набору досліджених генотипів *D. antarctica*, які описуються багатьма характеристиками, використовують метод екстремального групування характеристик для зниження розмірності дослідженого простору ознак. Але отримання результатів, які легко інтерпретувати, ускладнене тією обставиною, що отримані нами показники пристосовуваності відображують властивості досліджених популяцій у непрямої спосіб. Тому набори попарних порівнянь популяцій групували за трьома парами показників пристосовуваності: $|\Delta Ph| - |\Delta Pr|$, $|\Delta Fl| - |\Delta Pr|$ та $|\Delta Fl| - |\Delta Ph|$ (де $|\Delta Ph|$ – набір абсолютних значень попарних відстаней (в умовних одиницях) між розподілами за довжиною листка, $|\Delta Pr|$ – набір абсолютних значень попарних різниць часток вмісту окремих білків, $|\Delta Fl|$ – набір абсолютних значень попарних різниць часток вмісту окремих флавоноїдів). Кожна пара показників мала різну загальну кількість точок на всіх площинах, які підлягали екстремальному групуванню, тому нормування проводили для кожної пари показників окремо. Цей показник відповідає застосовуваному в таких випадках у статистиці зведеному латентному показнику (у нашому випадку – ЗЛПП), тому що він об'єднує в собі набір експертних оцінок трьох показників (оцінки змін вмісту кількох фракцій білків, вторинних метаболітів та довжини листків, а також попарних порівнянь рядів цих показників за допомогою регресійних методів і формування груп методом екстремального групування) із введенням необхідної поправки (Мирюта та ін, 2014).

Біологічним сенсом ЗЛПП у даному експерименті є показник комплексної пристосовуваності культивованого в стандартизованих умовах *in vitro* організму даного генотипу, стан якого відбито у властивостях одержаних з насіння рослин, зумовлених умовами зростання вихідної популяції.

3. Результати

Ми дослідили листки рослин *D. antarctica* п'яти генотипів різного походження (зібраних з вище вказаних локалітетів району Аргентинського архіпелагу), що відрізнялись за цитогенетичними показниками. Вивчали довжину листків, вміст захисних білків електрофоретично та вміст деяких флавоноїдів хроматографічно. Отримані дані наведено на рис. 2–6.

На першому етапі обробки експериментальних даних отримано набір експертних оцінок для окремих досліджених показників пристосовуваності: довжини листків, відносного вмісту окремих фракцій білків у листках та флавоноїдів у метанольних екстрактах з листків. Отримані дані наведено на рис. 2, 4, 6.

На наступному етапі обробки результатів дослідження було отримано набір попарних порівнянь за допомогою визначення абсолютного значення різниці для показників відносного вмісту окремих фракцій білків і флавоноїдів з листків вивчених рослин та за допомогою критерію медіани для визначення відстаней між медіанами розподілів за довжиною листка. Ці результати наведено в табл. 2.

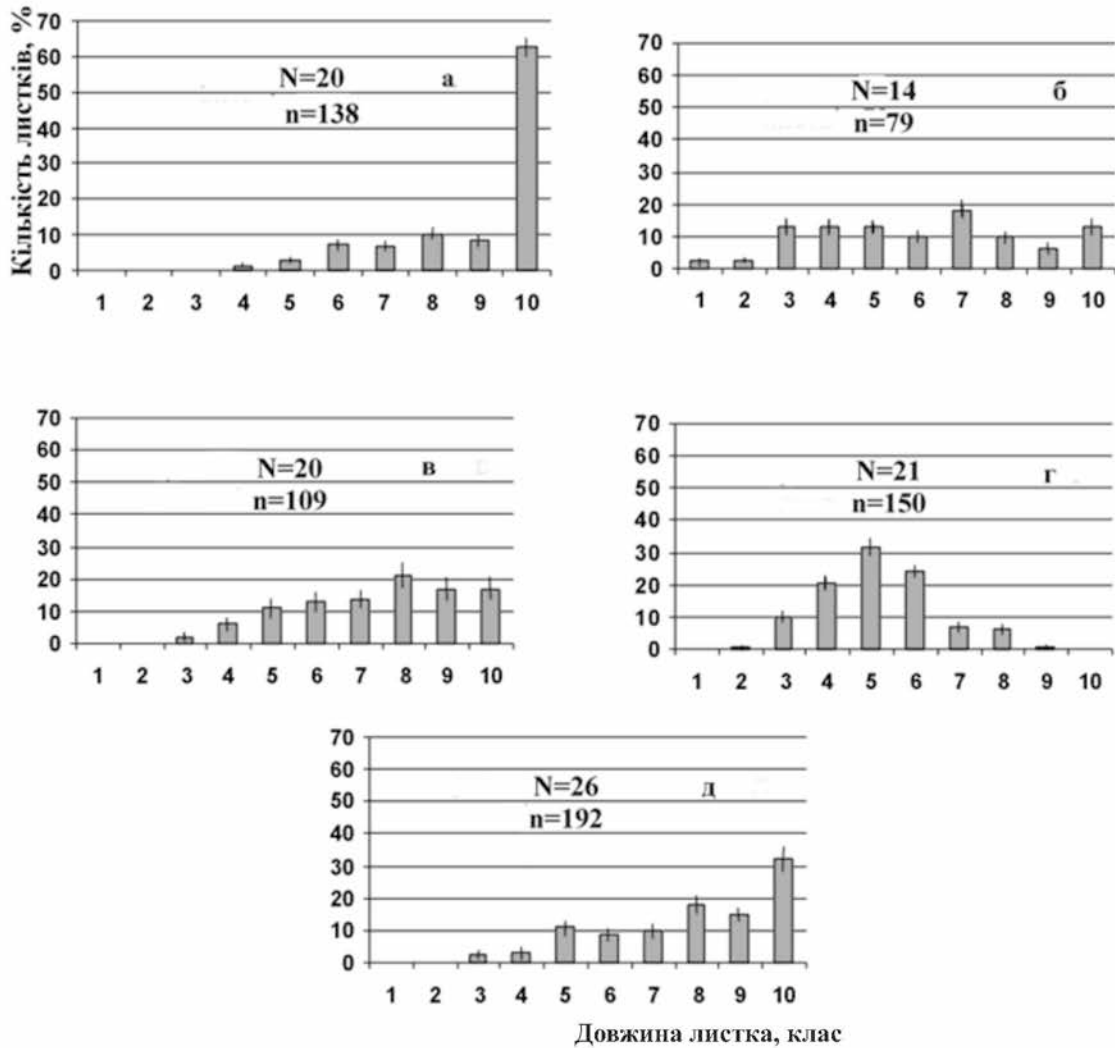


Рис. 2. Розподіли за довжиною листка рослин *D. antarctica* досліджених генотипів:
 а – DAR12, б – G/D12-2a, в – R35, г – S22, д – Y66. Класи за довжиною листка,
 см: 1 – <2.9; 2 – 3.0 – 3.9; 3 – 4.0 – 4.9; 4 – 5.0 – 5.9; 5 – 6.0 – 6.9; 6 – 7.0 – 7.9; 7 – 8.0 – 8.9; 8 – 9.0 – 9.9; 9 –
 10.0 – 10.9; 10 – >11.0. N – кількість вивчених рослин, n – кількість вивчених листків

Як видно з рис. 2, довжина листка є дуже мінливою характеристикою. Найбільшу довжину листків мають рослини: генотипів DAR12 та Y66 понад 11 см (рис. 2а та 2д відповідно). Рослини генотипів G/D12-2a та R35 мають модальний клас за довжиною листків 6.0 – 6.9 см та 7.0 – 7.9 см відповідно (рис. 2б та 2в), а генотип S22 – модальний клас 4.0 – 4.9 см (рис. 2г).

У таких випадках треба порівнювати між собою повні розподіли за вимірюваною ознакою, а не окремі модальні класи. Тому після вимірювання розмірів листків ми провели попарне порівняння розподілів за довжиною листка методом критерію медіани (Mood median test) (Поллард, 1982), результати якого наведено у табл. 2. Наведені результати свідчать, що майже для всіх показників встановлено попарні кількісні відмінності, що не дорівнюють нулю.

Таблиця 2

Різниця між медіанами розподілів для різних пар порівнюваних генотипів *D. antarctica*: DAR12, G/D12-2a, R35, S22, Y66 за довжиною листка ($|\Delta Ph|$) та різниці відносного вмісту двох флавоноїдів ($|\Delta F|$) і шести фракцій білків листків (ΔPr)

Пари порівнюваних генотипів	$ \Delta Ph $	Різниця у частках флавоноїдів $ \Delta F $:		Різниця у частках основних фракцій протеїнів генотипів ($ \Delta Pr $) для груп білків із розмірами, які наведено у кДа:					
		F_B	F_{EF}	14	20	24	36	45	66
DAR12- G/D12-2a	51.57	0.083	0.021	0.019	0.002	0.011	0.002	0.015	0.002
DAR12-R35	53.96	0.066	0.005	0.035	0	0.010	0.003	0.03	0.008
DAR12- S22	162.07	0.055	0.033	0.049	0.003	0.012	0.009	0.044	0.025
DAR12- Y66	30.65	0.125	0.022	0.025	0.002	0	0.005	0.019	0.007
G/D12-2a – R35	0	0.149	0.026	0.016	0.002	0.001	0.001	0.015	0.006
G/D12-2a – S22	31.08	0.028	0.012	0.030	0.005	0.001	0.007	0.029	0.009
G/D12-2a – Y66	18.35	0.042	0.001	0.006	0	0.011	0.003	0.004	0.009
R35 – S22	12.09	0.121	0.038	0.014	0.003	0.002	0.006	0.015	0.017
R35 – Y66	5.47	0.191	0.027	0.010	0.002	0.010	0.002	0.011	0.005
S22 – Y66	126.21	0.07	0.011	0.024	0.005	0.012	0.004	0.025	0.032

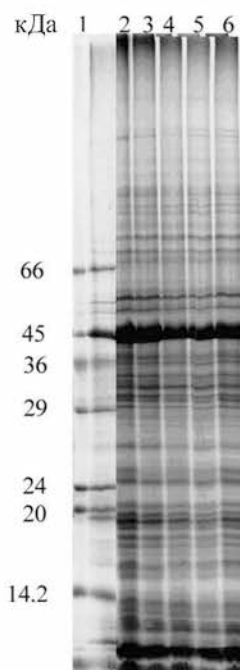


Рис. 3. Електрофореграма білків, виділених з листків досліджених рослин: 1 – маркер Spectra Multicolor Low Range Protein Ladder, генотипи: 2 – DAR12, 3 – G/D12-2a, 4 – R35, 5 – S22, 6 – Y66

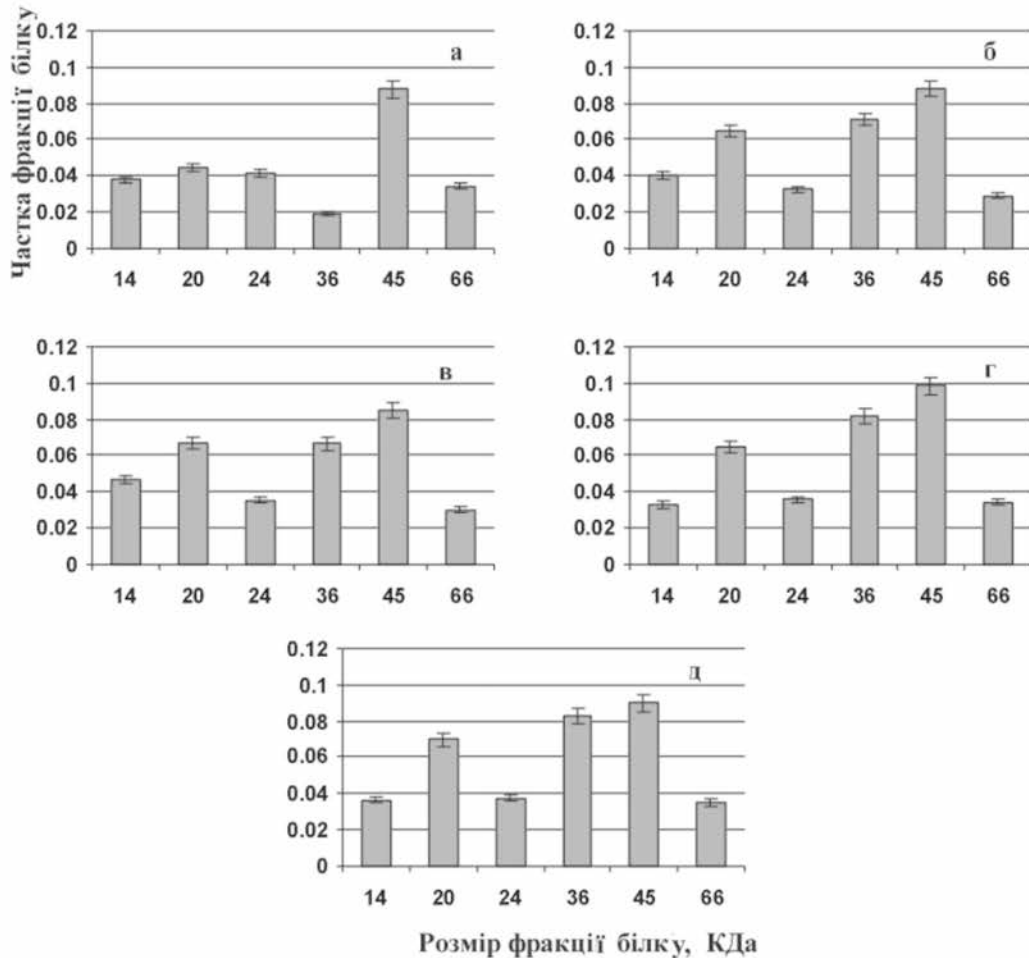


Рис. 4. Середні значення часток різних груп білків у листках рослин *D. antarctica*. Досліджені генотипи: а – DAR12, б – G/D12-2a, в – R35, г – S22, д – Y66. Представлені білки за розмірами у кДа: 66-67 – великий hs-протеїн-шаперон; 45 – RuBisCo (мала субодиниця); 36 – один з антифризних білків (*у Secale cereale* L.); 24 – один з шаперонів *Triticum aestivum*; 20-22 – один з антифризних білків *D. antarctica*; 14 – малий hs-протеїн, дегідрин.

Для тих самих рослин, в яких було вивчено довжину листка, було поставлено та оброблено електрофорез білків у денатуруючих умовах з метою аналізу фракцій білків у листках. Приклад електрофорезу представлено на рис. 3.

У результаті аналізу електрофореграми білків листків рослин, одна з яких представлена на рис. 3, отримано дані, представлені на рис. 4. Спираючись на дані, наведені у роботах (Созинов, 1985; Шалого и др., 2012) тут наведено значення часток груп білків листків рослин різних генотипів за розмірами у кДа: 66-67 – великий hs-протеїн-шаперон; 45 – RuBisCo; 36 – один з антифризних білків (*у Secale cereale* L.); 24 – один з шаперонів *Triticum aestivum*; 20-22 – один з антифризних білків *D. antarctica*; 14 – малий hs-протеїн, дегідрин.

Як видно з рис. 4, за профілем частки вмісту білків рослини усіх генотипів, крім DAR12 (рис. 4а), у якому виявлено меншу частку білку розміром 36 кДа та більшу частку білку розміром 24 кДа порівняно з профілями частки вмісту білків інших генотипів, що змінює профіль частки вмісту білків на рис. 4а, є подібними, але між частками фракцій білків рослин існує кількісна різниця. Тому для досліджених генотипів було проведено попарне порівняння за характеристикою «частка фракцій білків», результати якого наведено у табл. 2. З наведених результатів видно, що попарні кількісні відмінності майже для всіх показників вмісту білків не дорівнюють нулю.

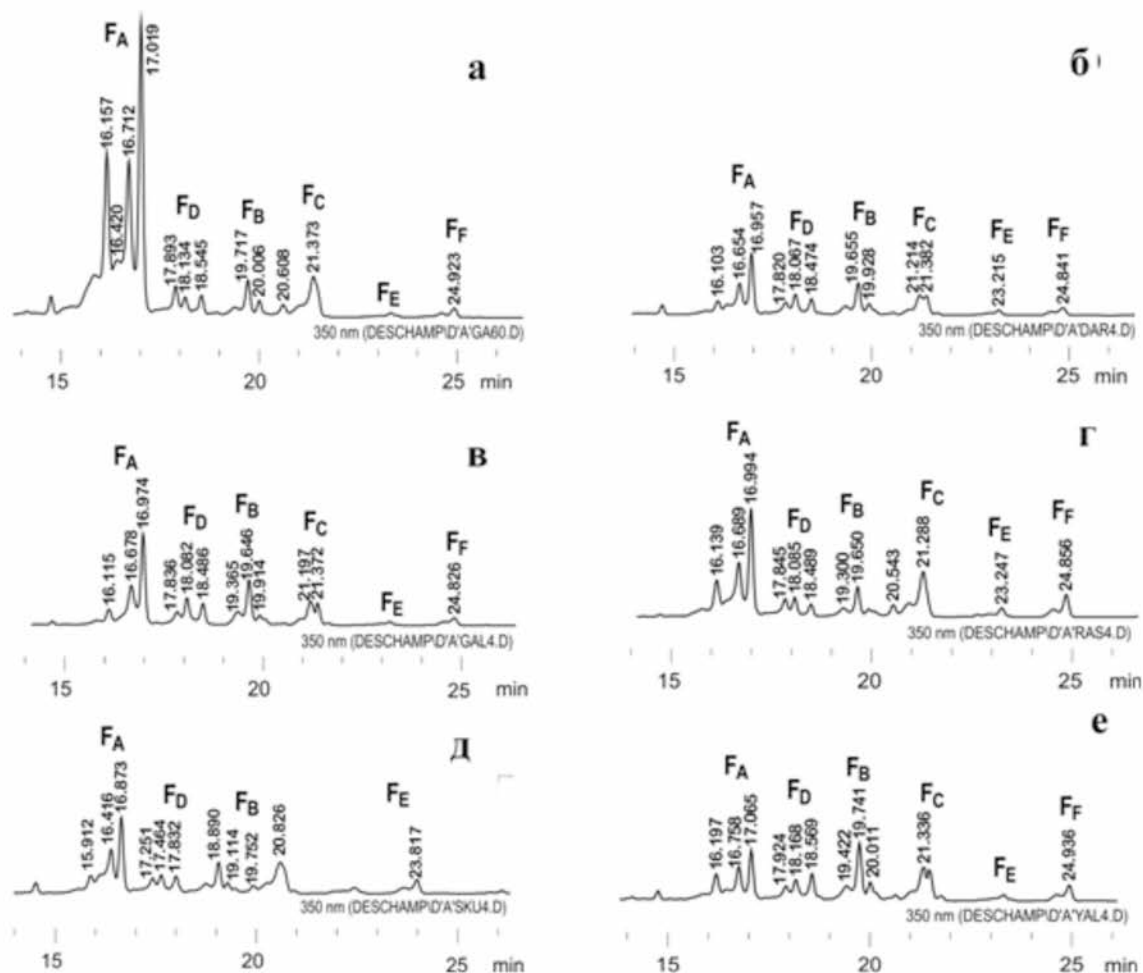


Рис. 5. Хроматографічні профілі флавоноїдів, що містяться в екстрактах листків *D. antarctica*.
 Досліджені генотипи: а – рослина з природної популяції о. Галіндез, а також рослини *in vitro* генотипів:
 б – DAR12, в – G/D12-2а, г – R35, д – S22, е – Y66. Позначення: флавоноїди F_A, F_B, F_C, F_D, F_E, F_F.
 Абсциса – час утримання, хвилини, ордината – сигнал детектора, mAU (milli absorbance unit).

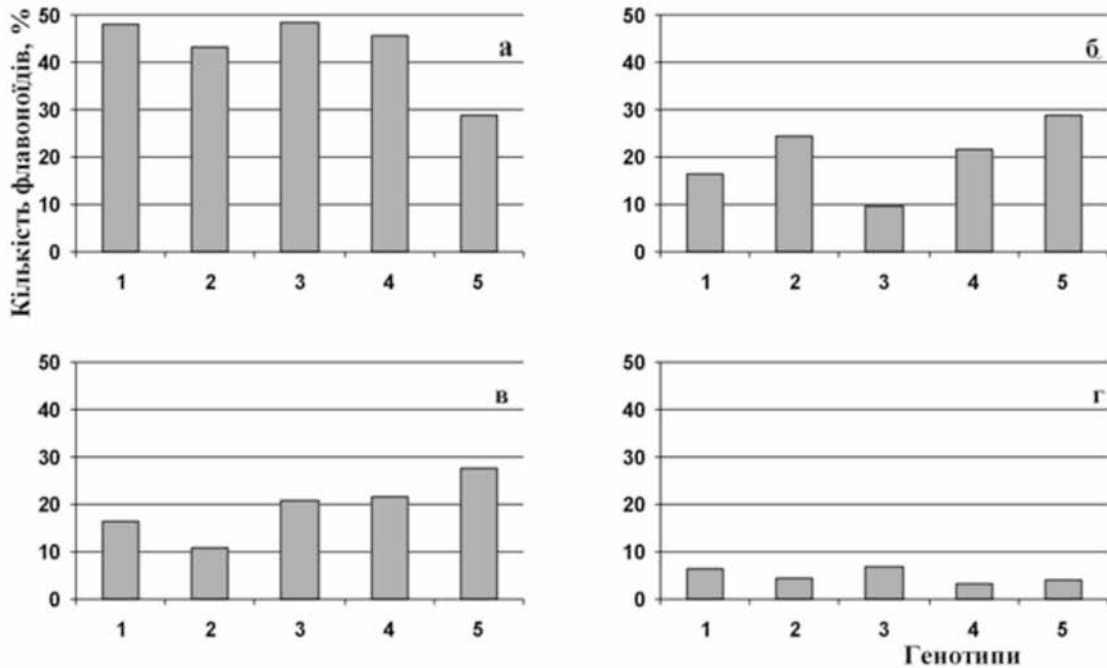


Рис. 6. Відносна кількість конкретного флавоноїда у загальному їх пулі в екстрактах листків досліджених рослин: а – F_A, б – F_B, в – F_C, г – F_{E,F}. Позначення генотипів: 1 – DAR12, 2 – G/D12-2a, 3 – R35, 4 – S22, 5 – Y66.

Хроматографічні профілі флавоноїдів, що містяться в екстрактах листків рослин *D. antarctica* з природної популяції о. Галіндез та рослин досліджених генотипів, культивованих в стандартизованих умовах *in vitro*, є подібними, але існує кількісна різниця (рис. 5, 6).

Частка фракції флавоноїда А від сумарного пулу флавоноїдів у листках *D. antarctica* була найбільшою у рослин генотипів DAR12 (рис. 6а,1) та R35 (рис. 6а,3), найменшою – у генотипу Y66 (рис. 6а,5). Частка фракції флавоноїда В була найбільшою у рослин генотипу Y66 (рис. 6б,5) та найменшою для рослин генотипу R35 (рис. 6б,3). Для флавоноїда С найбільша частка його вмісту була характерна для генотипу Y66 (рис. 6в,5), найменша – для рослин генотипу G/D12-2a (рис. 6в,2). Флавоноїди Е, F склали найбільшу частку у рослин генотипів DAR12 (рис. 6г,1) та R35 (рис. 6г,3), найменшу – у рослин генотипу S22 (рис. 6г,4). Результати попарного порівняння за характеристикою «вміст флавоноїдів» для флавоноїдів В та Е, F наведено у таблиці 2. З даних таблиці видно, що для всіх показників вмісту флавоноїдів В та Е, F попарні кількісні відмінності між вивченими генотипами не дорівнюють нулю.

Усі набори попарних порівнянь рослин вивчених генотипів за трьома парами показників пристосовуваності, що наведено в табл. 2.: $|\Delta F| - |\Delta Ph|$, $|\Delta F| - |\Delta Pr|$ та $|\Delta Ph| - |\Delta Pr|$, ми розподілили на групи методом екстремального групування, приклад якого наведено на рис. 7.

Порівняння набору різниць вмісту флавоноїду ($|\Delta F_{E,F}|$) та набору різниць вмісту протеїну ($|\Delta Pr_{20}|$) фракції розміром 20 кДа у листках досліджених рослин (I) і порівняння набору різниць вмісту флавоноїду ($|\Delta F_{E,F}|$) та набору відстаней між розподілами за біометричною характеристикою «довжина листка» ($|\Delta Ph|$) (II): а – для всіх досліджених величин між усіма площадками; б – для різниць, які мають залежність з позитивною кореляцією між $|\Delta F_{E,F1}|$ і $|\Delta Pr_{20}|$ та між $|\Delta F_{E,F1}|$ і $|\Delta Ph|$, отримані методом найменших квадратів; в – для різниць, які мають залежність з негативною кореляцією між $|\Delta F_{E,F2}|$ і $|\Delta Pr_{20}|$ та між $|\Delta F_{E,F2}|$ і $|\Delta Ph|$. На графіках а,б,в наведено рівняння прямих регресій, проведених методом найменших квадратів та квадрати відповідних коефіцієнтів кореляції між значеннями $|\Delta F_{E,F1}|$, $|\Delta F_{E,F1}|$, $|\Delta F_{E,F2}|$ і $|\Delta Pr_{20}|$ (I) та $|\Delta F_{E,F1}|$, $|\Delta F_{E,F1}|$, $|\Delta F_{E,F2}|$ і $|\Delta Ph|$ (II). Значення критеріальної статистики для величин R^2 , наведених на графіках: а- $F_{1,8} = 0.056$ (I) та $F_{1,8} = 0.008$ (II) (не перевищують значення верхньої 5% межі F-розподілу для N=10 ($F_{1,8} = 5.32$)), б- $F_{1,4} = 123.8$ та в- $F_{1,2} = 452.55$ (перевищують значення верхньої 5% межі F-розподілу для N=6 ($F_{1,4} = 7.71$) та N=4 ($F_{1,2} = 18.51$)) (I), б- $F_{1,2} = 14.63$ (не перевищують значення верхньої 5% межі F-розподілу для N=4 ($F_{1,2} = 18.51$)) та в- $F_{1,4} = 8.03$ (перевищують значення верхньої 5% межі F-розподілу для N=6 ($F_{1,4} = 7.71$)) (II), що означає відсутність

лінійної залежності у першому випадку (а) і наявність лінійної залежності у другому та третьому випадках (б, в) для I, та відсутність лінійної залежності у випадках а, б (хоча значення критеріальної статистики для б значно ближче до табличного значення, ніж таке саме для а) і наявність лінійної залежності випадку в для II.

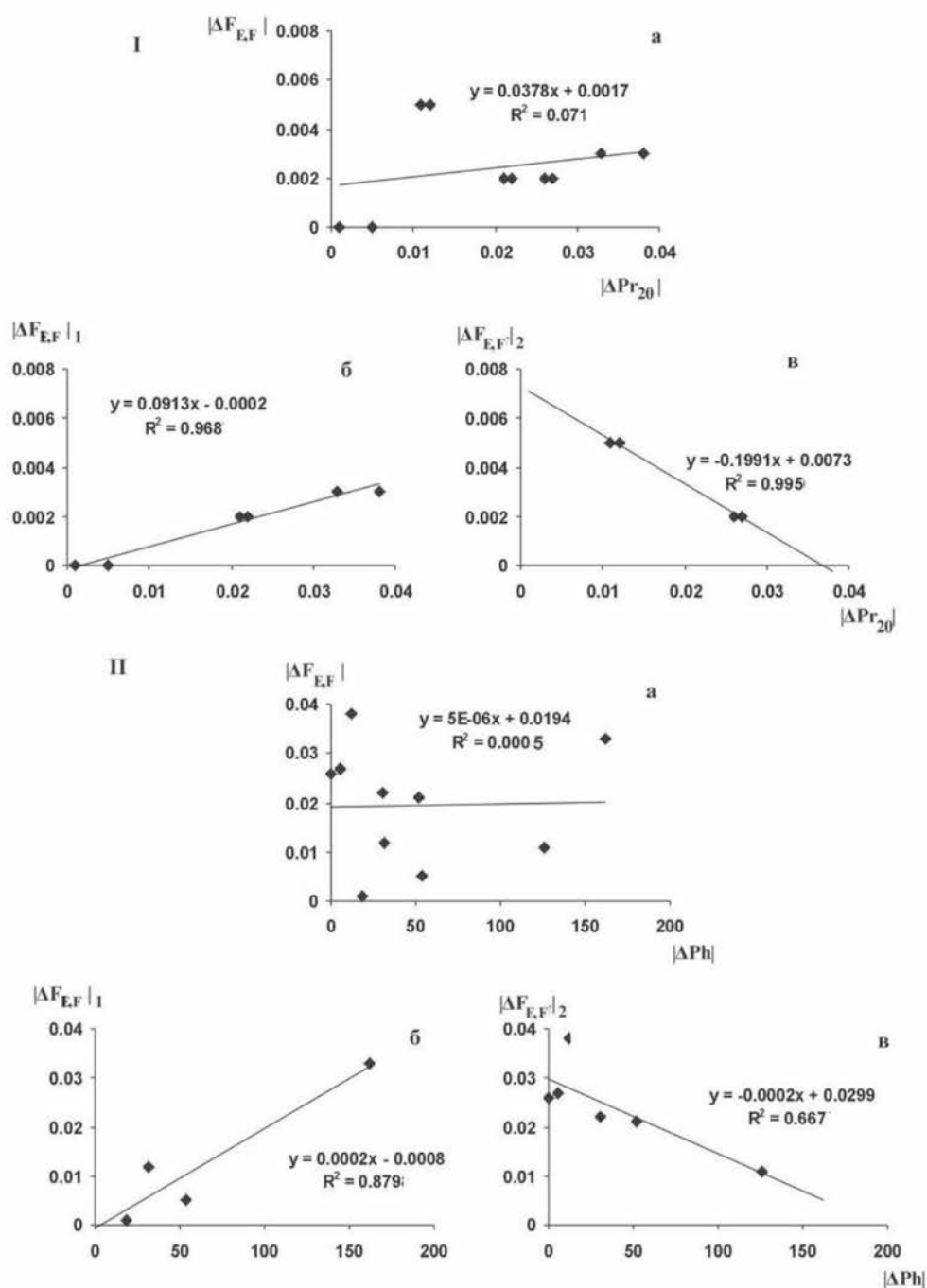


Рис. 7. Приклад застосування методу екстремального групування до двох пар характеристик рослин досліджених генотипів *D. antarctica*: DAR12, G/D12-2а, R35, S22, Y66.

За даними екстремального групування для кожного варіанту попарного порівняння досліджених характеристик за допомогою техніки парної лінійної регресії побудовано ряди, що відповідають «позитивній» та «негативній» групам. Частина точок на площині, яка утворила лінійну залежність з позитивним коефіцієнтом кореляції, було віднесено до «позитивної» групи, а ту, що утворила лінійну залежність з негативним коефіцієнтом кореляції, було віднесено до «негативної» групи. Далі ці ряди даних обробляли, як описано в підрозділі 2.3., з метою отримання ЗЛПП для рослин кожного генотипу. ЗЛПП має об'єднувати всі набори даних всіх характеристик.

Оскільки в даній роботі робиться перехід від популяційних досліджень *D. antarctica* у природних умовах (див. Parnikoza et al., 2015, Мірюта та ін., 2015) до досліджень рослин, отриманих з насіння різних природних популяцій та культивованих в стандартизованих умовах *in vitro*, необхідно замінити набір вимірюваних параметрів. Для вимірювання спочатку обрали набір параметрів, що обґрунтовано наступним. Припускаємо, що стан динамічної спадкової пам'яті залежить від умов, в яких зростала і плодоносила рослина, з якої було зібране насіння. Реалізувалися ці стани в однакових лабораторних умовах при пророщуванні насіння з різних природних популяцій. Упродовж культивування різних генотипів в стандартизованих умовах різні параметри рослини можуть виявляти гетерогенність. Проаналізуємо це на прикладі показника «довжина листків». Рослини генотипів DAR12 та Y66 мають значну частку листків, довжина яких перевищує 11 см, тоді як рослини генотипів G/D12-2a та R35 мають листки, найбільша частка яких потрапляє в інтервал розмірів 6.0 – 7.9 см, а рослини генотипу S22 – листки переважно розміру 4.0 – 4.9 см (див. рис. 2).

У дослідженні задіяно також характеристику «відносний вміст білків» загального спектру, що пов'язано з тим, що вони також реагують на зміну зовнішніх умов, зокрема: великий hs-протеїн-шаперон розміром 66 – 67 кДа; RuBisCo, 45 кДа; один з антифризних білків (у жита *Secale cereale* L.), 36 кДа; один з шаперонів пшениці *Triticum aestivum*, 24 кДа; один з антифризних білків *D. antarctica*, 20–22 кДа; малий hs-протеїн, дегідрин 14 кДа.

Розгляд характеристики «сумарний вміст флавоноїдів» також пов'язаний з тією обставиною, що кількісною зміною цієї характеристики рослина реагує на зміни в довкіллі.

Для всіх вказаних характеристик було побудовано ряди. З даних цих рядів формували ряди попарних порівнянь між дослідженими генотипами за абсолютним значенням різниць або за значеннями критеріальної статистики метода критерію медіани (Поллард, 1982). Отримані ряди різниць були попарно порівняні за всіма вимірними характеристиками за допомогою регресійної техніки, а тоді піддані процедурі екстремального групування (Айвазян и др., 1989).

Результати екстремального групування обробляли наступним чином. У парі $|\Delta F| - |\Delta Ph|$ було піддано екстремальному групуванню окремо чотири пари рядів різниць відносного вмісту кожного з досліджених флавоноїдів – $F_A, F_B, F_C, F_{E,F}$ – з $|\Delta Ph|$. З цих чотирьох пар розбити на групи, де хоча б одна (позитивна або негативна) мала значиму лінійну регресію, вдалося дві пари наборів: $|\Delta F_B| - |\Delta Ph|$ та $|\Delta F_{E,F}| - |\Delta Ph|$. Ці дві площини дають можливість зіставити різницю за довжиною листків із різницею за відносним вмістом флавоноїдів F_B та $F_{E,F}$. Кожна з цих площин містить 10 точок (кожна точка відповідає кожній різниці пар генотипів), кожен аналізований генотип чотири рази потрапляє у точки, розташовані на площині. Таким чином, загальна кількість генотипів, які можуть потрапити у різні групи, для цієї пари показників складає 4. Присвоюємо загальній кількості популяцій для кожної з цих двох пар показників 4 бали. Це значення використовується для нормалізації значень ЗЛПП для кожної площини (коефіцієнт 0.25). Кожній популяції, яка потрапила в «позитивну» групу, надавалося значення «+1», а тій, що потрапила в «негативну» групу, – «-1». Після сумачі та нормалізації було визначено складову ЗЛПП (ЗЛПП₃) за даною парою характеристик. Аналогічним чином було оброблено пари характеристик $|\Delta Pr| - |\Delta Ph|$ (ЗЛПП₁) (для неї характерно 6 площин – для відносного вмісту білків розміром 66, 45, 36, 24, 20 та 14 кДа) та $|\Delta F| - |\Delta Pr|$ (ЗЛПП₂) (для неї характерно 6 площин – для різниць відносного вмісту кожного з флавоноїдів F_B та $F_{E,F}$ проти різниць відносного вмісту білків розміром 66, 45, 36, 24, 20 та 14 кДа). Для них загальна кількість генотипів, які можуть потрапити у різні групи складає 24 (коефіцієнт нормалізації – 0.0417) для кожної з пар. Під час розрахунку сумарного ЗЛПП сумуються проміжні значення (ЗЛПП₁ – одне, ЗЛПП₂ та ЗЛПП₃ – по два) і нормалізуються з коефіцієнтом 0.2.

Розраховане значення для кожного генотипу окремо для кожної пари характеристик (ЗЛПП₁, ЗЛПП₂, ЗЛПП₃) разом із сумарним ЗЛПП представлено на рис. 8.

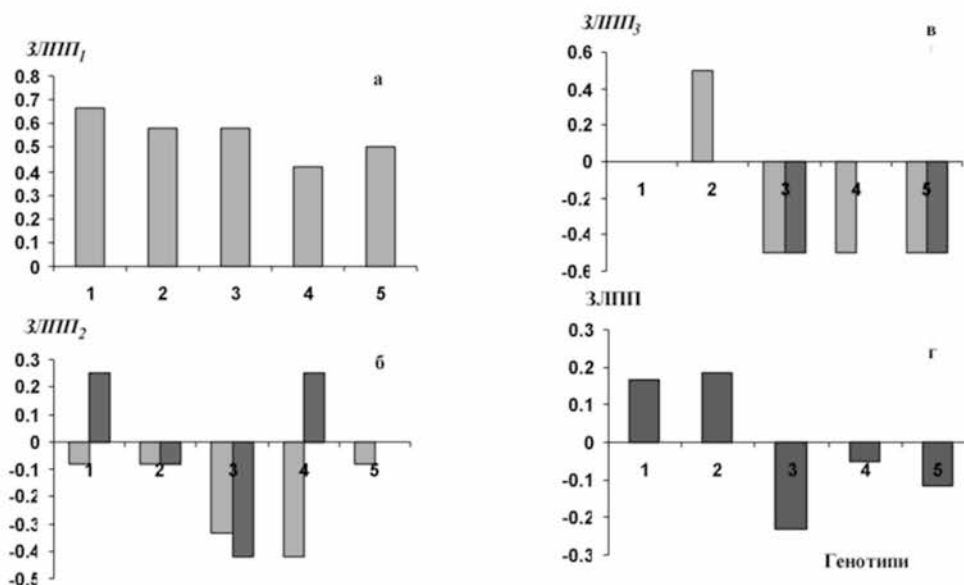


Рис. 8. Зведений латентний показник пристосовуваності (ЗЛПП)

D. antarctica для рослин різних генотипів, вирощених *in vitro*.

Позначення генотипів (вісь абсцис): 1 – DAR12, 2 – G/D12-2a, 3 – R35, 4 – S22, 5 – Y66. Позначення (вісь ординат, умовні одиниці): а – ЗЛПП₁ за парою показників $|\Delta Pr| - |\Delta Ph|$, б – ЗЛПП₂ $|\Delta Fl| - |\Delta Pr|$ (світлий стовпчик – для F_B, темний стовпчик – для F_{E,F}), в- ЗЛПП₃ $|\Delta Fl| - |\Delta Ph|$ (світлий стовпчик – для F_B, темний стовпчик – для F_{E,F}), г – сумарний ЗЛПП.

Як видно з даних, представлених на цьому рисунку, значення ЗЛПП і для різних пар показників (ЗЛПП₁, ЗЛПП₂, ЗЛПП₃), і для сумарного ЗЛПП є різними. Проаналізуємо відмінності у цих показниках.

Для першої пари характеристик $|\Delta Ph| - |\Delta Pr|$ (ЗЛПП₁) всі генотипи мають позитивні значення цієї величини: генотип DAR12 має найбільше значення, генотипи G/D12-2a та R35 приблизно однакові і менші, генотип Y66 – ще менше, генотип S22 – найменше (рис. 8а).

Значення ЗЛПП₂ у другій парі характеристик $|\Delta Fl| - |\Delta Pr|$ для флавоноїду F_B для рослин усіх генотипів є негативними: найближчими до нуля у рослин генотипів DAR12, G/D12-2a та Y66, менш близьким до нуля – у рослин генотипу R35 та найдальшим до нуля – у рослин генотипу S22. Для флавоноїдів F_{E,F} – у рослин генотипу Y66 значення ЗЛПП₂ є нульовим, у рослин генотипів DAR12 та S22 – позитивним і однаковим, у рослин генотипів G/D12-2a та R35 – негативним, причому у другому випадку знаходиться значно далі від нуля (рис. 8б).

Значення ЗЛПП₃ у третій парі характеристик $|\Delta Fl| - |\Delta Ph|$ для флавоноїду FB у рослин генотипу DAR12 є нульовим, у рослин генотипу G/D12-2a – позитивним, у рослин генотипів R35, S22, Y66 – негативними. Для флавоноїдів F_{E,F} у рослин генотипів DAR12, G/D12-2a, S22 значення ЗЛПП₃ є нульовим, у рослин генотипів R35 та Y66 – негативним (рис. 8в).

Після об'єднання їх у сумарний показник ЗЛПП їхні значення виявились у рослин генотипів DAR12 та G/D12-2a – позитивними, у генотипів R35, S22 та Y66 – негативними. Причому найдалі від нуля знаходиться значення ЗЛПП для рослин генотипу R35, найближче – для рослин генотипу S22 (рис. 8г).

Отже, за значенням і знаком зведеного латентного показника пристосовуваності рослини *D. antarctica* генотипів DAR12, G/D12-2a, R35, S22, Y66, вирощені в умовах *in vitro*, є унікальними.

4. Обговорення результатів

Отримані результати демонструють індивідуальність відповіді як за показниками окремих досліджених індексів пристосованості, так і за зведеним латентним показником пристосовуваності (ЗЛПП) рослин *D. antarctica*, отриманих з насіння різних популяцій, на однакові умови пророщування та стандартизоване культивування в умовах *in vitro*.

Про що може свідчити така індивідуальність? Перш ніж почати аналіз результатів, нагадаємо, що наразі ми порівнюємо як ряди даних, які підлягають розгляду в формалізмі m-систем (в нашому випадку – продукти білкового і вторинного (флавоноїди) метаболізму, що є змінними стану системи) (Чураев, 2006), так і ряди даних, які підлягають розгляду в формалізмі L-систем (у розглянутому випадку – формування системи листків, що є змінними структури системи) (Зубаирова и др., 2012). Наприклад, стан кожної клітини в тканині можна охарактеризувати рівнем експресії певного набору генів – ці показники будуть змінними станів кожної клітини і тканини. Опис за допомогою цих змінних тканини, яка функціонує у часі і змінює свій стан під впливом зовнішніх та/або внутрішніх причин, є прикладом динамічної системи. Уявимо тканину як систему, структура якої визначається набором клітин-підсистем, між якими існують певні зв'язки (потоки сигналів між сусідніми клітинами). У результаті росту та поділу клітин будова тканини змінюється, змінюється оточення клітин, і, відповідно, змінюються потоки сигналів між ними (Зубаирова и др., 2012; 2014). Такими сигнальними молекулами в ауксиновому обміні, який відповідає за ріст рослини, є флавоноїди. Темпи росту рослин і їхніх органів контролюються ауксином (індоліл-3-оцтовою кислотою – ІОК), а флавоноїди є регуляторами ауксинового обміну (Макаренко, Левицкий, 2013).

Виходячи з викладеного, проаналізуємо тонку структуру ймовірностних взаємодій між показниками різних ієрархічних рівнів, описаних в літературі в m- та L-формалізмах (Чураев, 2006, Зубаирова и др., 2012; 2014). Проаналізуємо зміни цих показників ЗЛПП у першій парі характеристик $|\Delta Pr| - |\Delta Ph|$ (ЗЛПП₁) у рослин вивчених генотипів *D. antarctica*.

Так, для рослин генотипу DAR12, які мають велику кількість надзвичайно довгих листків, збільшення кількості білків розміром 66-67 кДа (ймовірно, великий hs-протеїн-шаперон) та 14 кДа (малий hs-протеїн, дегідрин) корелює зі збільшенням розміру листків з ймовірністю 1.0; збільшення кількості білка розміром 45 кДа (судячи з частки, яку він обіймає в загальному пулі білків (рис. 3), – RuBisCo) також корелює зі збільшенням розміру листків з ймовірністю 1.0; збільшення кількості білків розміром 36 кДа (один з антифризних білків у *Secale cereale*) та 24 кДа (один з шаперонів *Triticum aestivum*) супроводжуються збільшенням розміру листків з ймовірністю 0.75; збільшення кількості білка розміром 20 кДа (один з антифризних білків *D. antarctica*) корелює зі збільшенням розміру листків з ймовірністю 0.5. Результат аналогічного дослідження для рослин інших досліджених генотипів наведено у табл. 3–6.

Таблиця 3.

Ймовірність приналежності до «позитивної» (+) та «негативної» (–) груп рослин різних генотипів *D. antarctica*, культивованих в стандартизованих умовах *in vitro*, за довжиною листка ($|\Delta Ph|$) та відносним вмістом фракцій білків ($|\Delta Pr|$)

Генотип	66 кДа		45 кДа		36 кДа		24 кДа		20 кДа		14 кДа	
	+	–	+	–	+	–	+	–	+	–	+	–
DAR12	1.0	0	1.0	0	0.75	0.25	0.75	0.25	0.5	0.5	1.0	0
G/D12-2a	1.0	0	1.0	0	0.75	0.25	0.5	0.5	0.5	0.5	1.0	0
R35	1.0	0	1.0	0	0.75	0.25	0.75	0.25	0.25	0.75	1.0	0
S22	1.0	0	1.0	0	0.25	0.75	0.75	0.25	0.25	0.75	1.0	0
Y66	1.0	0	1.0	0	0.5	0.5	0.25	0.75	0.75	0.25	1.0	0

Таблиця 4

Ймовірність приналежності до «позитивної» (+) та «негативної» (–) груп рослин різних генотипів *D. antarctica*, культивованих в стандартизованих умовах *in vitro*, за відносним вмістом флавоноїда F_B ($|\Delta F_B|$) та відносним вмістом фракцій білків ($|\Delta Pr|$)

Генотип	66 кДа		45 кДа		36 кДа		24 кДа		20 кДа		14 кДа	
	+	–	+	–	+	–	+	–	+	–	+	–
DAR12	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0	1.0	0.75	0.25	0.5	0.5
G/D12-2a	0.75	0.25	0.5	0.5	0.25	0.75	0.25	0.75	0.5	0.5	0.5	0.5
R35	0.5	0.5	0.25	0.75	0.5	0.5	0.5	0.5	0.25	0.75	0	1.0
S22	0.5	0.5	0.25	0.75	0.5	0.5	0.5	0.5	0	1.0	0	1.0
Y66	0.25	0.75	0.5	0.5	0.75	0.25	0.25	0.75	0.5	0.5	0.5	0.5

Таблиця 5

Імовірність приналежності до «позитивної» (+) та «негативної» (–) груп рослин різних генотипів *D. antarctica*, культивованих в стандартизованих умовах *in vitro*, за відносним вмістом флавоноїда $F_{E,F}$ ($\Delta F_{E,F}$) та відносним вмістом фракцій білків (ΔPr)

Генотип	66 кДа		45 кДа		36 кДа		24 кДа		20 кДа		14 кДа	
	+	–	+	–	+	–	+	–	+	–	+	–
DAR12	0.5	0.5	0.25	0.75	0.75	0.25	0.5	0.5	1.0	0	0.75	0.25
G/D12-2a	0.5	0.5	0.5	0.5	0.25	0.75	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
R35	0.5	0.5	0	1.0	0.5	0.5	0.25	0.75	0.5	0.5	0	1.0
S22	0.75	0.25	0.75	0.25	0.75	0.25	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Y66	0.25	0.75	0.5	0.5	0.75	0.25	0.25	0.75	0.5	0.5	0.75	0.25

Таблиця 6

Імовірність приналежності до «позитивної» (+) та «негативної» (–) груп рослин різних генотипів *D. antarctica*, культивованих в стандартизованих умовах *in vitro*, за відносним вмістом флавоноїдів F_B (ΔFB) і $F_{E,F}$ ($\Delta F_{E,F}$) та за довжиною листка (ΔPh)

Генотип	F_B		$F_{E,F}$	
	+	–	+	–
DAR12	0.5	0.5	0.5	0.5
G/D12-2a	0.25	0.75	0.5	0.5
R35	0.25	0.75	0.25	0.75
S22	0.25	0.75	0.5	0.5
Y66	0.25	0.75	0.25	0.75

Якщо узагальнити особливості функціонування рослин *D. antarctica*, культивованих в стандартизованих умовах *in vitro*, то можливо отримати гіпотетичну план-схему про сумісну роботу білків та вторинних метаболітів, які синтезують рослини досліджених генотипів у процесі росту. Ці особливості – тонку структуру ймовірностних взаємодій між показниками різних ієрархічних рівнів – представлено на рис. 9. Далі ми розглядатимемо ймовірні зв'язки, якщо вони відрізнятимуться від 0.5 (позначено тонкою лінією), і мають значення 0.75 або 1.0 (позначено товстою лінією) (рис. 9).

У рослин генотипу DAR12 на рівні формування листків сприяють росту листка всі шаперони розміром 66, 24 та 14 кДа, причому зростання кількості першого та останнього корелює зі збільшенням довжини листка у всіх випадках (ймовірність попадання в позитивну групу +1.0), а для білка розміром 24 кДа – у трьох випадках з чотирьох, (+0.75) (табл. 3). Збільшення відносної кількості білка розміром 45 кДа корелює із ростом листків з ймовірністю +1.0, а антифризних білків розміром 36 та 20 кДа – з ймовірністю +0.75 та 0.5 відповідно (табл. 3). Підключення до рівня синтезу білків рівня синтезу флавоноїдів ускладнює опис системи додаванням їхньої взаємодії через низку сигнальних шляхів (van Loon, 2009). Флавоноїд F_B , скоріше за все, впливає на довжину листка не прямо (ймовірність 0.5), а через низку сигнальних шляхів, пов'язану з шапероном 24 кДа: зменшення кількості F_B сприяє збільшенню кількості шаперона розміром 24 кДа (–1.0) (табл. 4), що, в свою чергу, сприяє збільшенню довжини листка (+0.75) (табл. 3). Збільшення кількості $F_{E,F}$ сприяє збільшенню кількості шаперона (дегідрина) розміром 14 кДа (+0.75) (табл. 5), що, в свою чергу, сприяє збільшенню довжини листка (+1.0) (табл. 3). Цей флавоноїд діє аналогічним чином також через антифризний білок розміром 36 кДа (ймовірності +0.75 та +0.75 відповідно) (табл. 4, 3). З цим шляхом у даному випадку конкурує шлях через основний білок розміром 45 кДа (RuBisCo): зменшення кількості $F_{E,F}$ сприяє збільшенню кількості білка розміром 45 кДа (–0.75) (табл. 5), що сприяє збільшенню довжини листка (+1.0) (табл. 3) або, навпаки, збільшення кількості $F_{E,F}$ сприяє зменшенню кількості білка 45 кДа (–0.75), що сприяє зменшенню довжини листка (+1.0) (рис. 9а).

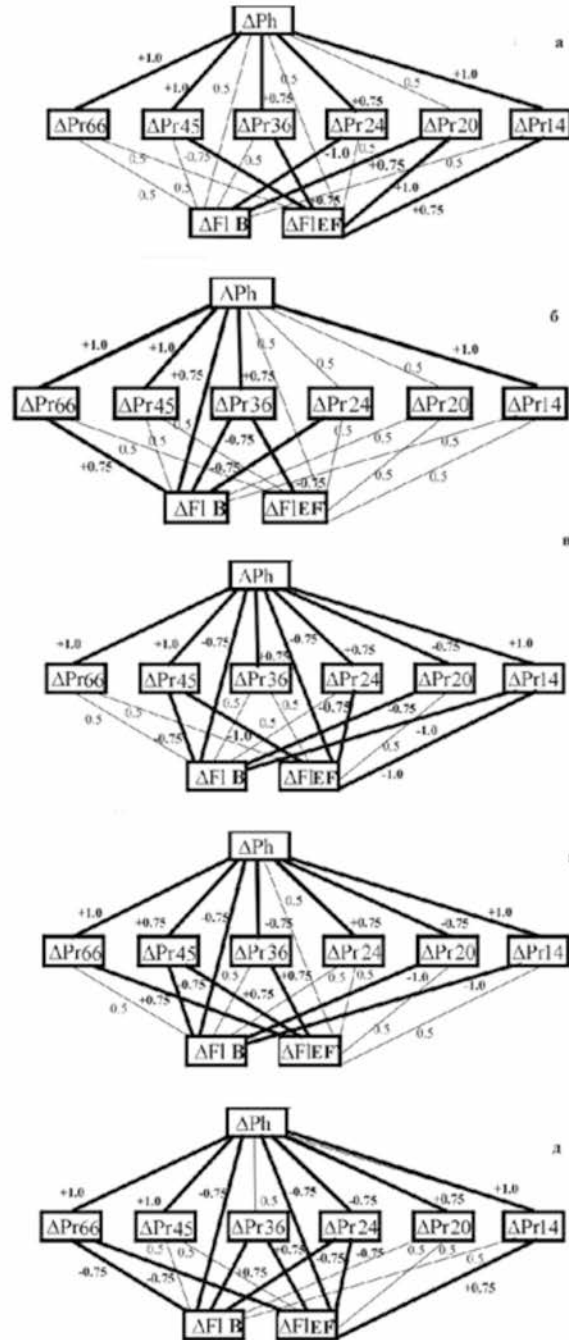


Рис. 9. Гіпотези про сумісну роботу білків та вторинних метаболітів, що синтезують у процесі росту *in vitro* рослини *D. antarctica* досліджених генотипів. Позначення генотипів: а – DAR12, б – G/D12-2a, в – R35, г – S22, д – Y66. Позначення характеристик: відстані між розподілами рослин різних генотипів за характеристикою «довжина листка» – $|\Delta Ph|$; різниці часток груп білків листків рослин різних генотипів за розмірами у кДа: $|\Delta Pr 66|$ – 66-67, $|\Delta Pr 45|$ – 45, $|\Delta Pr 36|$ – 36, $|\Delta Pr 24|$ – 24, $|\Delta Pr 20|$ – 20-22, $|\Delta Pr 14|$ – 14; різниці часток груп флавоноїдів рослин різних генотипів: $|\Delta Fl B|$ – F_B , $|\Delta Fl EF|$ – $F_{E,F}$. Цифрами позначено ймовірність для кожного генотипу синхронності (+) або асинхронності (-) процесів, які описуються порівнюваними рядами даних.

Рослини генотипу DAR12 мають найбільшу довжину листка (рис. 2а). Цей генотип *in vitro* має позитивне значення ЗЛПП (рис. 8г) і є найбільш складним для побудови гіпотез через сукупність причин:

- ймовірно, що насіння генотипу DAR12 формувалося та дозрівало в природі у сприятливіших умовах довкілля (див. рис. 1 та табл. 1).
- для представників досліджених генотипів характерними є різні форми хромосомного поліморфізму. Зокрема, генотип DAR12 має диплоїдний хромосомний набір та містить у деяких клітинах кореневої апікальної меристеми 1-3 В-хромосоми ($2n=26+1-3B$). Генотипи G/D12-2а, R35 та S22 мають диплоїдний хромосомний набір ($2n=26$), а генотип Y66 характеризується міксопloidним хромосомним набором ($2n=36, 38, 39$) (Navrocka et al., 2014, Amosova et al., 2015; див. табл. 1).
- генотип DAR12 має позитивне значення ЗЛПП, на відміну від трьох інших досліджених генотипів (рис. 8 г).

У рослин генотипу G/D12-2а росту листків найбільше сприяють шаперони 66 кДа (+1.0) та 14 кДа (+1.0), білок 45 кДа (RuBisCo) (+1.0), а також антифризний білок 36 кДа (+0.75) (табл. 3). Зменшення кількості флавоноїдів F_B та $F_{E,F}$ у цьому випадку сприяє збільшенню кількості антифризного білка 36 кДа (-0.75) (табл. 4, 5), що сприяє збільшенню довжини листка (+0.75) (табл. 3). Однак, працює і конкуруючий процес – збільшення кількості флавоноїда F_B сприяє збільшенню довжини листка (+0.75) (табл. 6). Цей шлях є більш ймовірним для флавоноїда F_B , бо його відносна кількість серед генотипів є однією з найбільших, тоді як для флавоноїда $F_{E,F}$ відносна кількість якого серед генотипів є невисокою, ймовірно працює описаний вище шлях. Крім того, для флавоноїда F_B також характерним є ще один шлях впливу на розмір листка – збільшення його вмісту корелює зі збільшенням вмісту шаперона 66 кДа (+0.75) (табл. 4), що позитивно впливає на довжину листка (+1.0) (табл. 4, рис. 9б). Рослини цього генотипу мають вище позитивне значення ЗЛПП, ніж рослини генотипу DAR12 (рис. 8г).

У рослин генотипу R35 збільшення розміру листків корелює із збільшенням відносної кількості всіх проаналізованих білків: розміром 66, 45 та 14 кДа з ймовірністю +1.0, білків розміром 36 та 24 кДа – з ймовірністю +0.75, крім антифризного білка 20 кДа, збільшення відносного вмісту якого сприяє зменшенню розміра листків з ймовірністю -0.75 (табл. 3). Зменшення часток обох флавоноїдів F_B та $F_{E,F}$ сприяє збільшенню довжини листка (-0.75) (можливо, через ауксиновий обмін) (табл. 6). Зменшення відносного вмісту флавоноїду F_B ймовірно сприяє збільшенню антифризного білка 20 кДа (-0.75) (табл. 4), тим самим зменшуючи довжину листка (-0.75) (табл. 3). Але зменшення його відносного вмісту (рис. 6б) сприяє збільшенню вмісту дегідрину 14 кДа (-1.0) (табл. 4), сприяючи збільшенню довжини листа (+1.0) (табл. 3). Аналогічним чином флавоноїд F_B впливає на довжину листка через білок 45 кДа (ймовірності -0.75 та +1.0 відповідно). Флавоноїд $F_{E,F}$ впливає на довжину листка протилежним чином: збільшення його відносного вмісту (рис. 6г) зменшує відносний вміст білків 45 кДа (-0.75), 24 (-0.75) та 14 (-1.0) (табл. 5), зменшує через них довжину листків з ймовірністю +1.0, +0.75 та +1.0 відповідно (табл. 3) (рис. 9в). Цей генотип має найбільш далеке від нуля негативне значення ЗЛПП (рис. 8г).

У рослин генотипу S22 збільшенню розміру листків сприяє збільшення відносної кількості проаналізованих білків розміром 66 та 14 кДа з ймовірністю +1.0, білків розміром 45 та 24 кДа з ймовірністю +0.75; збільшення відносного вмісту антифризних білків 36 та 20 кДа сприяє зменшенню розміра листків з ймовірністю -0.75 (табл. 3). Збільшення частки флавоноїда F_B сприяє зменшенню довжини листка (-0.75) (табл. 6). Збільшення відносного вмісту флавоноїду F_B (рис. 6б) ймовірно сприяє збільшенню довжини листка через збільшення частки білка 45 кДа (ймовірності +0.75 та +0.75 відповідно) (табл. 3, 4). У цій схемі задіяно ще два шляхи ймовірного непрямого впливу флавоноїду F_B на довжину листка: збільшення відносного вмісту F_B призводить до зменшення частки антифризного білка 20 кДа (-1.0) (табл. 4), що, в свою чергу, веде до збільшення довжини листка (-0.75) (табл. 3); збільшення відносного вмісту F_B приводить до зменшення частки дегідрину 14 кДа (-1.0) (табл. 4), що веде до зменшення довжини листка (+1.0) (табл. 3). Вплив флавоноїду $F_{E,F}$ на довжину листка відбувається за допомогою трьох ймовірностних непрямих шляхів: зменшення відносного вмісту $F_{E,F}$ (рис. 6г) сприяє зменшенню частки білків 66 та 45 кДа (+0.75 та +0.75 відповідно) (табл. 5), це веде до зменшення довжини листка (+1.0 та +0.75 відповідно) (табл. 3); зменшення відносного вмісту $F_{E,F}$ веде до зменшення частки антифризного білка 36 кДа (+0.75) (табл. 5), що сприяє збільшенню довжини листка (-0.75) (табл. 3, рис. 8г). Слід підкреслити, що рослини генотипу S22 мають найменшу довжину листка (модальний клас 4.0–4.9 см) і найменшу дисперсію розподілу за довжиною листка (рис 2г). Цей генотип має найближче до нуля негативне значення ЗЛПП (рис. 8г).

У рослин генотипу Y66 збільшенню розмірів листків ймовірно сприяє збільшення відносної кількості шаперонів 66 та 14 кДа (+1.0 та +1.0 відповідно), білка 45 кДа (RuBisCo) (+1.0), антифри-

зного білка 20 кДа (+0.75) та зменшення шаперона 24 кДа (-0.75) (табл. 3). Збільшення частки флавоноїда F_B сприяє зменшенню довжини листка (-0.75) (табл. 6). Збільшення відносного вмісту флавоноїда F_B (рис. 6б) ймовірно сприяє зменшенню довжини листка через зменшення частки білка-шаперона 66 кДа (ймовірності -0.75 та +1.0 відповідно) та збільшенню довжини листка через зменшення частки білка-шаперона 24 кДа (ймовірності -0.75 та -0.75 відповідно) (табл. 3, 4). Вплив флавоноїда $F_{E,F}$ на довжину листка відбувається за допомогою трьох ймовірностних непрямих шляхів: зменшення відносного вмісту $F_{E,F}$ (рис. 6д) сприяє збільшенню частки білків-шаперонів 66 та 24 кДа (-0.75 та -0.75 відповідно) (табл. 5), це веде до збільшення довжини листка (+1.0 та +0.75 відповідно) (табл. 3); зменшення відносного вмісту $F_{E,F}$ веде до зменшення частки білка-дегідрина 14 кДа (+0.75) (табл. 5), що сприяє зменшенню довжини листка (+1.0) (табл. 3, рис. 8д). Генотип Y66 має найбільшу довжину листка після генотипа DAR12 (рис. 2е). Цей генотип має негативне значення ЗЛПП (за величиною – проміжне між значеннями для генотипів R35 та S22) (рис. 8г).

Аналізуючи ймовірнісні схеми метаболічних мереж, наведені на рис. 9, можна сказати, що фігури, утворені ймовірнісними зв'язками (товстими лініями), мають складну структуру, яка для кожного з генотипів має свою специфіку. Індивідуальність використання метаболічних мереж може бути пов'язана з реалізацією станів динамічної спадкової пам'яті, заданих певним набором умов, в яких формувалося і дозрівало насіння у природі, а також особливостями кожного конкретного генотипу.

Таким чином, зіставлення впливу умов сезону під час утворення насіння в природі із ЗЛПП та хромосомним набором відповідних генотипів дало такий результат. Генотип DAR12, хромосомний набір якого є диплоїдним та містить В-хромосоми, і рослини якого у природі зростають в найбільш захищених умовах скельного гроту, має позитивний ЗЛПП і використовує метаболічну мережу, яка дозволяє йому і в умовах стандартизованого культивування *in vitro* формувати рослини з найдовшими листками. Генотипи, вирощені з насіння, привезеного з менш захищених місць зростання – G/D12-2a, R35 та S22, хромосомний набір яких є диплоїдним, мають значення ЗЛПП: позитивне у генотипу G/D12-2a, негативне у генотипів R35 та S22, негативне у генотипу Y66, хромосомний набір якого є поліплоїдним (міксоплоїдним). Генотипи з диплоїдним хромосомним набором використовують метаболічні мережі, за яких в умовах стандартизованого культивування *in vitro* формуються рослини з листками, які мають помірну довжину і «хвостаті» розподіли з великою дисперсією. Виключенням є генотип S22, який використовує метаболічну мережу, яка забезпечує формування рослин з найменшою довжиною листка з невеликою дисперсією. Генотип Y66, хромосомний набір якого є поліплоїдним (міксоплоїдним), використовує метаболічну мережу, яка дозволяє формувати рослини з найбільшою довжиною листка (але дещо меншою, ніж у генотипа DAR12).

Не зважаючи на складність виявлених взаємозалежностей, можна констатувати наявність зв'язку окремих властивостей досліджених рослин генотипів *D. antarctica* за умов стандартизованого культивування *in vitro* з тривалою адаптацією до різних (індивідуальних) умов існування району Аргентинських островів (Морська Антарктика). Індивідуальність такої адаптації можна виявити на підставі аналізу морфометричних ознак при дослідженні цитогенетичної мінливості, та найбільш комплексно – на підставі зведеного латентного показника пристосовуваності і його тонкої структури.

Подяки. Автори висловлюють подяку Державній установі Національний антарктичний науковий центр Міністерства освіти та науки України, Національній науковій фундації (NSF) США, проф. В. Поліщук, к. б. н. І. Дикому, В. Папіташвілі, В. Смаголю та О. Салганському. Це дослідження виконане в рамках співпраці між Національним антарктичним науковим центром МОН України та Інститутом молекулярної біології і генетики НАН України в рамках Державної цільової науково-технічної програми проведення досліджень в Антарктиці на 2011–2020 рр., а також спільного проекту між НАН України і Польською академією наук «Адаптивні стратегії взаємовиживання організмів в екстремальних умовах довкілля», 2015–17 рр.

Література

1. Айвазян С. А., Бухштабер В. М., Енюков И. С., Мешалкин Л. Д. Прикладная статистика. Классификация и снижение размерности. – М. : Финансы и статистика. – 1989. – 606 с.
2. Зубаирова У. С., Пененко А. В., Николаев С. В. Моделирование роста и развития растительных тканей в формализме L-систем // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2012. – Т. 16, № 4/1. – С. 816–824.

3. **Зубанрова У. С.**, Голушко С. К., Пененко А. В., Николаев С. В. L-система для моделювання плоских одномерно ростущих растительных тканей // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2014. – Т. 18, № 4/2. – С. 945–952.
4. **Макаренко О. А.**, Левицкий А. П. Физиологические функции флавоноидов в растениях. // Физиология и биохимия культурных растений. – 2013 – Т. 45, № 2. – С. 100–112.
5. **Мірюта Н. Ю.**, Кунах В. А. Динаміка клітинних систем *in vitro*. 3. Гіпотеза самокерування процесами диференціації клітин та її феноменологічна реалізація на прикладі культури тканин раувольфії зміної // Біотехнологія (Biotechnologia Acta). – 2012. – Т. 5, № 3. – С. 40–52.
6. **Мірюта Н.**, Парнікоза І., Мирюта А., Швидун П., Смикла Є., Козерецька І., Кунах В. Зведений латентний показник пристосовуваності *Deschampsia antarctica* Desv. як відбиток мікроумов існування в районі Адміральської бухти (о. Короля Георга, Прибережна Антарктика) // Український антарктичний журнал. – 2014. – № 13. – С. 159–174.
7. **Н. Мірюта**, І. Парнікоза, П. Швидун, Г. Мирюта, О. Пороннік, І. Козерецька, В. Кунах. Порівняльний аналіз зведеного латентного показника пристосовуваності популяцій *Deschampsia antarctica* Desv., о. Галіндез (Аргентинські острови, Морська Антарктика). // Український антарктичний журнал. – 2015. – № 14. – С. 216–230.
8. **Мусієнко М. М.**, Серебряков В. В., Брайон О. В. Екологія: Тлумачний словник. – К. : Либідь, 2004. – 376 с.
9. **Остерман Л. А.** Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. Электрофорез и ультрацентрифугирование (практическое пособие). – М. : Наука, – 1981. – 288 с.
10. **Парнікоза І.**, Ожередова І., Мірюта Н., Козерецька І., Смикла Дж., Кунах В. Порівняльний аналіз показників популяційної успішності *Deschampsia antarctica* Desv. в районі Адміральської бухти (о. Короля Георга, Прибережна Антарктика) // Український антарктичний журнал. – 2013. – № 12 – С. 186–198.
11. **Побежимова Т. П.**, Колесниченко А. В., Грабительны О. И. Методы изучения митохондрий растений. Полярография и электрофорез, – М. : Наука, – 2004. – 98с.
12. **Поллард Дж.** Справочник по вычислительным методам статистики. – М. : Финансы и статистика. – 1982. – 344 с.
13. **Созинов А. А.** Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции. – М. : Наука, 1985. 272 с.
14. **Спірідонова К. В.**, Андрєєв І. О., Загричук О. М., Навроцька Д. О., Твардовська М. О., Дробик Н. М., Кунах В. А. Генетична стабільність отриманих мікротональним розмноженням рослин *Deschampsia antarctica* Desv. за тривалого культивування *in vitro* // Физиология растений и генетика. – 2016. – Т. 48, № 6. – С. 498–507.
15. **Чураев Р. Н.** Эпигенетика: генные и эпигенные сети в онто- и филогенезе // Генетика. – 2006. – Т. 42, № 9. – С. 1276–1296.
16. **Шалого Н. В.**, Доманская И. Н., Радюк М. С., Щербаков Р. А., Дремук И. А. Накопление пероксида водорода и функционирование защитной системы в проростках ячменя при избыточном увлажнении // Физиология растений. – 2012. – Т. 59, № 6. – С. 746–755.
17. **Amosova A. V.**, Bolsheva N. L., Samatadze T. E., Twardovska M. O., Zoshchuk S. A., Andreev I. O., Badaeva E. D., Kunakh V. A., Muravenko O. V. Molecular Cytogenetic Analysis of *Deschampsia antarctica* Desv. (Poaceae), Maritime Antarctic. // PLOS ONE. – 2015. – V. 10, № 9: e0138878. doi: 10.1371/ journal.pone.0138878
18. **Andreev I. O.**, Spiridonova E. V., Kuryachenko S. S., Parnikoza I. Yu., Maidanyuk D. N., Volkov R. A., Kozeretka I. A., Kunakh V. A. Population-genetic analysis of *Deschampsia antarctica* from two regions of maritime Antarctic // Moscow University Biological Sciences Bulletin. – 2010. – V.65, N 4. – P. 208–210.
19. **Bölter M.**, Kappen L., Meyer M. The influence of microclimatic conditions on potential photosynthesis of *Usnea sphacelata*: A model. // Ecological Research 1989. – 3. – P. 297–307.
20. **Causton D. R.**, Venus J. C. The Biometry of Plant Growth. Edward Arnold, London, 1981. – 307 p.
21. **Conrad M.** Adaptability, the Significance of Variability from Molecule to Ecosystem. Plenum Press, New York, 1983. – 383 p.
22. **Day A. T.**, Ruhland C. T., Xiong F. S. Warming increases aboveground plant biomass and C stock in vascular-plant-dominated Antarctic tundra // Global Change Biology. – 2008 – V. 14. – P. 1827–1843.
23. **Dictionary of Natural Products**, ver.15. Chapman & Hall/CRC, 2007. Hampden Data Services Ltd. Dictionary of Natural Products, ver. 22.2. Taylor & Francis Group, 2014. URL: <http://dnp.chemnetbase.com>
24. **Dietz H.**, Steinlein T. Determination of plant species cover by means of image analysis. // Journal of Vegetation Science. – 1996. V. 7. – P. 131–136. doi: 10.2307/3236426
25. **Fowbert J. A.** and Smith R. L. Rapid population increases in native vascular plants in the Argentine Islands Antarctic Peninsula. Arctic and Alpine Research. – 1994. – Vol. 26. – P. 290–296.
26. **Gill S. S.**, Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. // Plant Physiol Biochem. – 2010. –V. 48. – P. 909–930.

27. **Iordachescu M.**, Imai R. Trehalose biosynthesis in response to abiotic stresses. // *J Integr Plant Biol.* – 2008. – V. 50. – P. 1223–1229
28. **Kozeretska I. A.**, Parnikoza I. Yu., Mustafa O., Tyschenko O. V., Korsun S. G., Convey P. Development of Antarctic herb tundra vegetation near Arctowski station, King George Island. // *Polar Science.* – 2010. – V. 3. – P. 254–261.
29. **Kreps J.**, Wu Y., Chang H., Zhu T., Wang X., Harper J. Transcriptome changes for Arabidopsis in response to salt, osmotic, and cold stress. // *Plant Physiol.* – 2002. – V. 130. – P. 2129–2141.
30. **Lee J.**, Noh E. K., Choi H. S., Shin S. C., Park H., Lee H. Transcriptome sequencing of the Antarctic vascular plant *Deschampsia antarctica* Desv. under abiotic stress. // *Planta.* – 2012. doi 10.1007/s00425-012-1797-5.
31. **Nakashima K.**, Ito Y., Yamaguchi-Shinozaki K. Transcriptional Regulatory Networks in Response to Abiotic Stresses in Arabidopsis and Grasses I. // *Plant Physiol.* – 2009 – 149, № 1. – P. – 88–95.
32. **Navrocka D. O.**, Twardowska M. O., Andreev I. O., Parnikoza I. Yu., Betekhtin A. A., Zahrychuk O. M., Drobyk N. M., Hasterok R., Kunakh V. A. New forms of chromosome polymorphism in *Deschampsia antarctica* Desv. from the Argentine Islands of the Maritime Antarctic region // *Ukrainian Antarctic Journal.* – 2014. – №13. – P. 185–191.
33. **Ozheredova I. P.**, Parnikoza I. Yu., Poronnik O. O., Kozeretska I. A., Demidov S. V., Kunakh V. A. Mechanisms of Antarctic Vascular Plant Adaptation to Abiotic Environmental Factors // *Cytology and Genetics.* – 2015. – Vol. 49, No. 2. – P. 139–145.
34. **Parnikoza I.**, Kozeretska I., Kunakh V. Vascular Plants of the Maritime Antarctic: Origin and Adaptation // *American Journal of Plant Sciences.* – 2011a. – 2 – P. 381–395.
35. **Parnikoza I.**, Loro P., Miryuta N. Yu., Kunakh V. A., Kozeretska I. A. The influence of some Environmental factors on Cytological and Biometric parameters and Chlorophyll content of *Deschampsia antarctica* Desv in maritime Antarctic // *Cytology and Genetics.* – 2011b – Vol. 45, №3. – P. 170–176.
36. **Parnikoza I.**, Miryuta N., Ozheredova I., Kozeretska I., Smykla J., Kunakh V., Convey P. Comparative analysis of *Deschampsia antarctica* Desv. population adaptability in the natural environment of the Admiralty Bay region (King George Island, maritime Antarctic) // *Polar Biology.* – 2015. – Vol. 38, No. 9. – P. 1401–1411.
37. **Royles J.**, Amesbury M. J., Convey P., Griffiths H., Hodgson D. A., Leng M. J. and Charman D. J. Plants and soil microbes respond to recent warming on the Antarctic Peninsula. // *Current Biology.* – 2013. – 23. – P. 1702–1706.
38. **Smith RIL.** Vascular plants as indicators of regional warming in Antarctica. // *Oecologia.* – 1994. – 99. – P. 322–328.
39. **Tchuraev R. N.** General principles of organization and laws of functioning in governing gene networks. In: Kolchanov N, Hofesyaedt R (eds) *Bioinformatics of Genome Regulation and Structure* Springer Science Media, Inc, New York, 2006. – P. 367–377.
40. **Turner J.**, Colwell S. R., Marshall G. J., Lachlan-Cope T. A., Carleton A. M., Jones P. D., Lagun V., Reid P. A., Iagovkina S. Antarctic climate change during the last 50 years. // *International Journal of Climatology.* – 2005. – V. 25. – P. 279–294.
41. **Turner J.**, Barrand, N. E., Bracegirdle T. J., Convey P., Hodgson D. A., Jarvis M., Jenkins M., Marshall G., Meredith M. P., Roscoe H., Shanklin J., French J., Goosse H., Guglielmin M., Gutt J., Jacobs S., Kennicutt M. C., Masson-Delmotte V., Mayewski P., Navarro F., Robinson S., Scambos T., Sparrow M., Summerhayes C. P., Speer K. and Klepikov A. Antarctic climate change and the environment: an update. // *Polar Record.* – 2013. – 3 – P. 237–259. doi.org/10.1017/S0032247413000296.
42. **Van Loon L. C.** Plant Innate Immunity. // *Advances in Botanical Research.* – 2009. – V. 51. – 400 p.
43. **Lee J.**, Noh E. K., Choi H. S., Shin S. C., Park H., Lee H. Transcriptome sequencing of the Antarctic vascular plant *Deschampsia antarctica* Desv. under abiotic stress. // *Planta.* – 2012. doi 10.1007/s00425-012-1797-5
44. **Shinozaki K.**, Yamaguchi-Shinozaki K., Seki M. Regulatory network of gene expression in the drought and cold stress responses. // *Curr Opin Plant Biol.* – 2003. – V. 6. – P. 410–417.
45. **Zahrychuk O. M.**, Drobyk N. M., Kozeretska I. A., Parnikoza I. Yu., Kunakh V. A. Introduction in culture *in vitro* of *Deschampsia antarctica* Desv. (Poaceae) from two regions of Maritime Antarctica // *Ukrainian Antarctic Journal.* – 2011/2012. – №11. – P. 289–295.
46. **Volkov R. A.**, Kozeretska I. A., Kyryachenko S. S., Andreev I. O., Maidanyuk D. N., Parnikoza I. Yu., Kunakh V. A. Molecular evolution and variability of ITS1–ITS2 in populations of *Deschampsia antarctica* from two regions of the maritime Antarctic // *Polar Science.* – 2010. – V.4, N3. – P. 469–478.