

МОЛЕКУЛЯРНА ОРГАНІЗАЦІЯ ТА ВНУТРІШНЬОГЕНОМНА МІНЛИВІСТЬ МІЖГЕННОГО СПЕЙСЕРА ГЕНІВ 5S рДНК *COLOBANTHUS QUITENSIS*

I.O. АНДРЕЄВ¹, В.М. МЕЛЬНИК¹, І.Ю. ПАРНИКОЗА^{1,2}, В.А. КУНАХ¹

¹ Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Україна, 03143, Київ, вул. Акад. Заболотного, 150,

² ДУ «Національний антарктичний науковий центр» МОН України, Україна, 01601, Київ, бульвар Тараса Шевченка, 16

E-mail: i.o.andreev@imb.org.ua

*Міжгенний спейсер (МГС) генів 5S рибосомної РНК (5S рДНК), які присутні в геномі всіх живих організмів, характеризується високою мінливістю, завдяки чому він є зручним і широко застосовуваним об'єктом для з'ясування питань еволюції геному, популяційної генетики, систематики та ін. Метою цієї роботи було дослідження МГС 5S рДНК перлинниці антарктичної *Colobanthus quitensis*. Методами молекулярно-генетичного аналізу визначено нуклеотидну послідовність, а також досліджено молекулярну організацію МГС 5S рДНК *C. quitensis*. Показано, що вона містить типові для інших судинних рослин регуляторні елементи. Встановлено існування в індивідуальному геномі щонайменше двох класів повторів 5S рДНК, які істотно відрізняються за довжиною і нуклеотидною послідовністю МГС. Крім того, на основі відмінностей у довжині та нуклеотидній послідовності виділено 2 підкласи повторів з довгим та 3 підкласи – з коротким МГС. Порівняння послідовностей МГС 5S рДНК *C. quitensis* і *Silene latifolia* Poir., представника іншої секції родини Caryophyllaceae, показало значні відмінності в будові спейсерної ділянки генів 5S рДНК за виключенням її частин, що містять регуляторні елементи. Загалом, отримані дані свідчать про значний рівень внутрішньогеномного поліморфізму МГС 5S рДНК *C. quitensis*.*

Ключові слова: 5S рДНК, міжгенний спейсер, структурна організація, варіабельність, *Colobanthus quitensis*.

Вступ. Рибосомні РНК входять до складу рибосом, відповідальних за білковий синтез. Гени, які їх кодують, можна знайти в геномі будь-якого живого організму. Гени 5S рибосомної РНК (5S рДНК) кодують РНК, що входить до складу малої субодиниці рибосоми. У геномі більшості насінних рослин вони представлені у вигляді тандемних повторів з чисельністю від кількох сотень до кількох тисяч, розташованих в одному або кількох хро-

мосомних локусах. Повторювана одиниця 5S рДНК містить консервативну кодувальну ділянку довжиною близько 120 п.н., а також нетранскрибований міжгенний спейсер (МГС), який розділяє сусідні кодувальні ділянки. На відміну від кодувальної ділянки МГС характеризується високою мінливістю, завдяки чому він є зручним і широко застосовуваним об'єктом для з'ясування питань еволюції геному, популяційної генетики, систематики та інших (Volkov et al, 2003, 2017; Garcia et al, 2010; Hemleben et al, 2021; Tynkevich et al, 2022).

Перлинниця антарктична (*Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl., Caryophyllaceae) – один з двох видів судинних рослин, поширених в Антарктиці. Цей вид, який пристосувався до існування в екстремальних умовах на межі адаптаційних можливостей рослин, останнім часом привертає увагу дослідників полярної біоти. Так, було досліджено мінливість розміру геному цього виду (Cuba-Díaz et al, 2017; Pascual-Díaz et al, 2020), визначено послідовність його хлоропластного геному (Kang et al, 2016), а також проведено низку досліджень генетичної гетерогенності в регіоні (Androsiuk et al, 2015; Кос et al, 2018; Biersma et al, 2020) Водночас рибосомна ДНК, і зокрема 5S рДНК цього виду, залишається недослідженою. Так само практично відсутні публікації щодо молекулярної організації цієї послідовності у інших представників родини Caryophyllaceae.

У цій роботі ми дослідили нуклеотидну послідовність міжгенного спейсера генів 5S рибосомної РНК *C. quitensis*, проаналізували молекулярну організацію цієї ділянки гена та охарактеризували її внутрішньогеномну мінливість.

Матеріали і методи. Матеріалом для дослідження слугував рослинний матеріал *C. quitensis*, зібраний під час XX Української антарктичної експедиції на о. Скуа, мис Фінгер (Finger Point) у лютому 2016 р.

ДНК виділяли з сухого матеріалу пагонів, висушеного із використанням силікагелю, за модифікованою методикою з використанням ЦТАБ-буферу (Doyle and Doyle 1987).

Послідовність МГС 5S рДНК ампліфікували методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з використанням пари праймерів р5S1 (5'– ATGCAAGCTTGACCTCCTGGGAAGTC–C –3') і р5S2 (5'– GCATAAGCTTGCGGAG–TTCTGATGGG –3'), гомологічних до кодувальної ділянки гена 5S рРНК.

Реакційна суміш для проведення ПЛР об'ємом 20 мкл містила: 20 нг ДНК, 0,2 мМ dNTP, 1,25 U Taq-полімерази, 0,25 мкМ праймера, 1×ПЛР-буфер з 2,0 мМ MgCl₂. Ампліфікацію проводили в термоциклері Techne Prime (Cole-Parmer, United States) в наступному режимі: 1 цикл 95 °С – 3 хв; 3 цикли (95 °С – 30 с, 54 °С – 30 с, 72 °С – 30 с); 25 циклів (94 °С – 20 с, 55 °С – 20 с, 72 °С – 25 с); 1 цикл 72 °С – 5 хв.

Отримані ПЛР-продукти розділяли за допомогою електрофорезу в 1,2%-вому агарозному гелі із візуалізацією забарвленням бромистим етидієм. Фрагменти ДНК необхідного розміру вирізували з гелю та очищали від агарози з використанням набору реагентів Silica Bead DNA Gel Extraction Kit (Thermo Scientific). Виділені фрагменти ДНК після гідролізу HindIII ендонуклеазою рестрикції лігували в плазмиду рUC18. Отримані плазмідні конструкції клонували в *E. coli* (XL-Blue). Визначення послідовності клонуваних фрагментів ДНК проводили із використанням довгих M13-праймерів у GATC-Biotech (Нідерланди).

Аналіз та вирівнювання отриманих послідовностей з використанням алгоритму ClustalW та подальшим уточненням в ручному режимі проводили у програмі Unipro UGENE (Okonechnikov et al, 2012). Для порівняльного аналізу використали також три нуклеотидні послідовності МГС гена 5S рРНК іншого виду родини Caryophyllaceae – *Silene latifolia*, наявні в базі даних GenBank (AB027245, AB027246, AB027248).

Результати та обговорення. Електрофоретичне фракціонування показало, що в результаті полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) ДНК *S. quitensis* з парою праймерів р5S1 і р5S2 утворюються фрагменти розміром близько 650 п.н.

та в меншій кількості фрагменти розміром біля 350 п.н. (рис. 1).

Ампліфіковані фрагменти вирізували з гелю для подальшого клонування. Було одержано низку клонів ПЛР-фрагментів, з яких 11, зокрема 4 клони фрагментів довжиною близько 650 п.н. (CqSkL1-4) і 7 клонів розміром біля 350 п.н. (CqSkS1-7), було використано для визначення їхньої нуклеотидної послідовності.

Сиквенування клонуваних ПЛР-фрагментів 5S рДНК *S. quitensis* показало, що всі вони містять по боках частини кодувальної ділянки гена 5S рРНК, між якими знаходиться МГС. У випадку клонуваних фрагментів розміром 350 п.н. довжина ділянки МГС у трьох клонів становила 232 п.н. (S2, S6, S7), у решти (чотирьох) – 243 п.н. (S1, S3-5). У випадку клонів ПЛР-фрагментів розміром 650 п.н. МГС в двох з чотирьох клонів (L1 і L3) мав довжину 548 п.н. і ще в двох (L2 і L5) – 559 п.н. (табл. 1).

Аналіз нуклеотидної послідовності отриманих клонів МГС різної довжини показав, що всі вони містять на початку протяжну ділянку (~40 нуклеотидів), сформовану кількома оліго-Т мотивами, які ймовірно виконують функцію термінатора транскрипції (рис. 2). Водночас, до складу всіх клонів МГС входять і інші типи для 5S рДНК регуляторні елементи, описані для *Arabidopsis thaliana* (Simon et al, 2018). Зокрема, це АТ-багатий мотив АТААААТГААГ/АТТТ в положенні –29 перед початком кодувальної ділянки гена, GC-елемент в положенні –13, який у цього виду представлений двома копіями динуклеотиду GA в положеннях –15 та –13, та консервативний нуклеотид С в положенні –1. Все це свідчить про потенційне збереження функції повторами 5S рДНК, які відрізняються за розміром МГС.

Вирівнювання послідовностей різних клонів показало, що відмінності між довгими і короткими МГС обумовлені відсутністю протяжної ділянки розміром понад 300 нуклеотидів, що знаходиться в центральній частині спейсера. У клонів довгих МГС на початку цієї ділянки міститься два 13-нуклеотидні повтори ТТТТGGGCCTTTC на відстані 31 нуклеотид один від одного, а в кінці її – два тандемні повтори розміром 26 нуклеотидів (рис. 2). Крім того, довгі і короткі варіанти МГС відрізня-

ються за вмістом GC-пар (табл. 1): в коротких МГС він вищий на кілька відсотків. Така різниця зумовлена більш низьким вмістом GC-пар в центральній частині спейсера, яка відсутня в короткого класу МГС.

Порівняльний аналіз нуклеотидних послідовностей клонів довгих і коротких МГС 5S рДНК *C. quitensis* дозволив виділити серед них окремі підкласи повторів, які відрізнялися між собою за розміром і нуклеотидною послідовністю спейсерної ділянки.

Довгі клони можна розділити на два підкласи, що мають різну довжину (548 та 559 п.н.). Різниця між ними в 11 нуклеотидів зумовлена делецією ділянки з 510 до 521 нуклеотиду в МГС підкласу L1 (клони L1 і L3). Поряд з цим, виявлено ще 13 одонуклеотидних замін, переважно С–Т, більшість яких (9) розташована в протяжній ділянці, відсутній в коротких МГС. Загалом ідентичність нуклеотидних послідовностей довгих клонів МГС між собою становила 98,4–99,1 % (табл. 2).

3-поміж отриманих коротких клонів МГС можна виділити три підкласи, які відрізнялися за нуклеотидною послідовністю і довжиною (рис. 2). Клоні S2, S6 і S7 було віднесено до першого підкласу, S1, S3 та S5 – до другого, S4 – до третього. Довжина клонів першого підкласу становить 232 п.н., другого і третього – 243 п.н.

Найбільші відмінності між короткими клонами полягають у делеції ділянки 107–119 нуклеотидів у першого підкласу (рис. 2). У третього підкласу на цій ділянці спостерігаються точкові заміни (в основному G–C). Точкові заміни (С–Т) спостерігаються у клонів другого й третього підкласів одразу після оліго-Т послідовності термінатора транскрипції і безпосередньо перед ТАТА-боксом (12–15 і 525–530 нуклеотиди, відповідно), а також на ділянках 47–50, 111–113 нуклеотиди (рис. 2).

Рівень ідентичності нуклеотидних послідовностей коротких клонів МГС варіював в діапазоні 84,3–100 % (табл. 2). Два клони (S5 і S3) з класу SII виявилися тотожними. Спорідненість з іншим клоном (S1) з цього ж підкласу становила 99,6 %. Ідентичність 100 % спостерігалася також для двох клонів (S7 і S2) з підкласу SI. Спорідненість із клоном S6 з цього

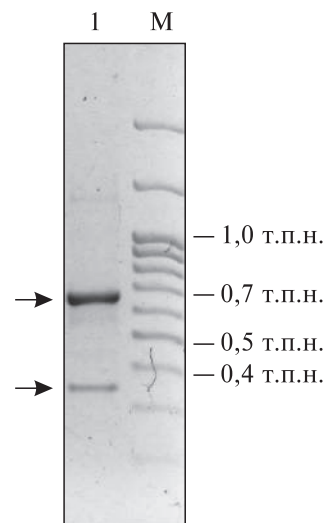


Рис. 1. Електрофоретичне фракціонування продуктів ампліфікації МГС 5S рДНК *Colobanthus quitensis* (1); М – молекулярний маркер. Клоновані фрагменти позначено стрілками

ж підкласу також становила 99,6 %. 3-поміж отриманих нами коротких клонів найбільше вирізнявся S4, який був виділений нами в окремий підклас (SIII). Рівень ідентичності з клонами інших двох підкласів для нього становив 84,3–85,2 %.

Таблиця 1. Характеристики послідовностей МГС 5S рДНК *Colobanthus quitensis* та *Silene latifolia*

Клон		МГС	
Назва	GenBank Acc. No	Довжина, п.н.	Вміст GC-пар, %
<i>C. quitensis</i>			
CqSkL1	OQ938921	548	41,97
CqSkL2	OQ938919	559	41,69
CqSkL3	OQ938922	548	42,34
CqSkL5	OQ938920	559	42,22
CqSkS7, CqSkS2	OQ938923	232	46,55
CqSkS6	OQ938924	232	46,12
CqSkS1	OQ938927	243	44,44
CqSkS5, CqSkS3	OQ938926	243	44,03
CqSkS4	OQ938925	243	45,68
<i>S. latifolia</i>			
S145	AB027245	235	34,89
S146	AB027246	243	37,45
S148	AB027248	244	37,70

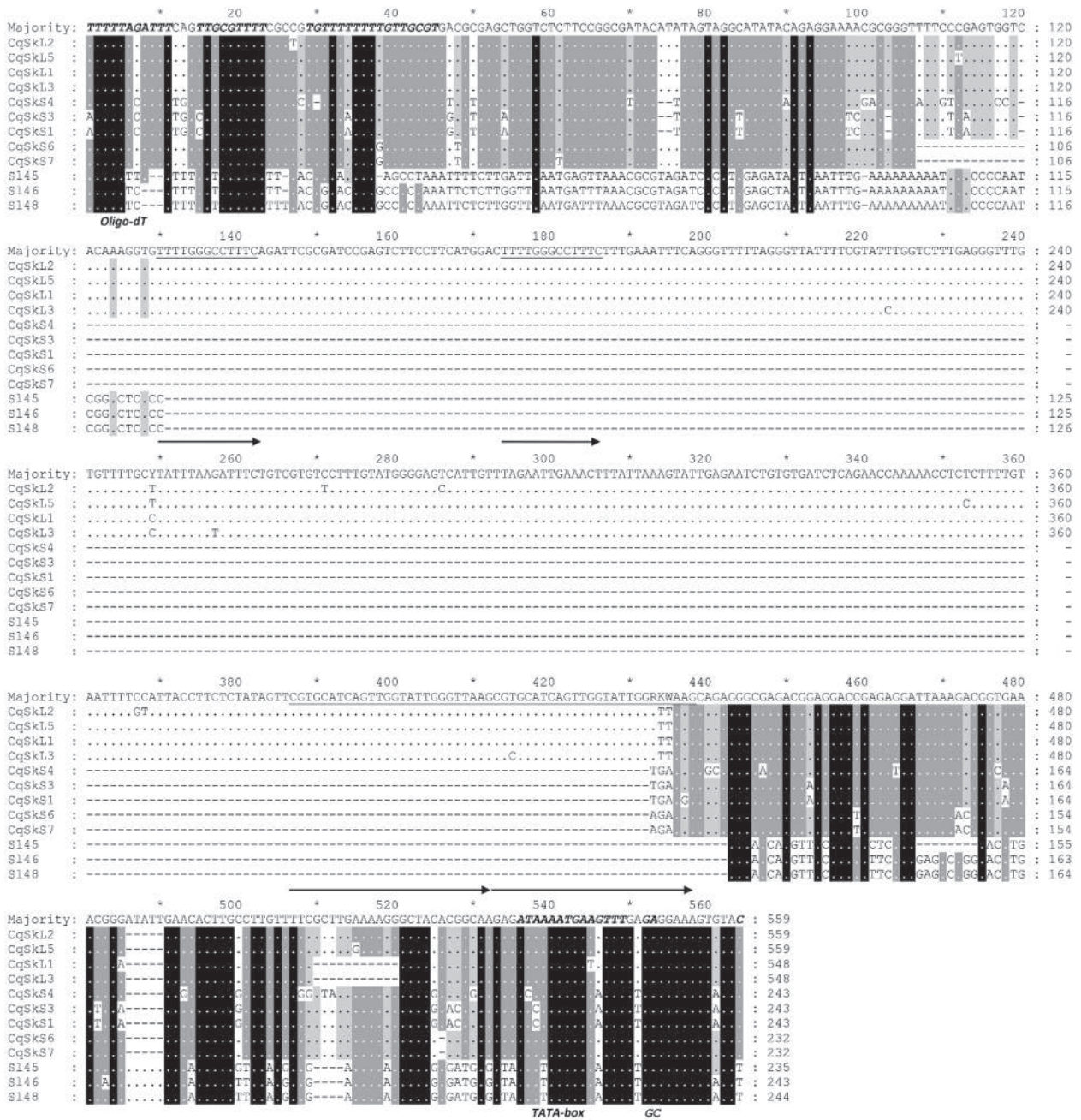


Рис. 2. Структурна організація міжгенного спейсера 5S рДНК *Colobanthus quitensis* (CqSk) та *Silene latifolia* (S145 – АВ027245, S146 – АВ027246, S148 – АВ027248). Жирним шрифтом виділено оліго-Т послідовність потенційного або передбачуваного термінатора та потенційні елементи зовнішнього промотора РНК-полімерази III. Повторювані ділянки підкреслено та позначено стрілками. Градаціями кольору від білого до чорного виділено послідовності з рівнем консервативності менше 60, 60–79, 80–99 та 100 %

При порівнянні між собою довгих та коротких МГС найбільший рівень ідентичності спостерігався між класом L та підкласом SI (95–96,4 %), тоді як ідентичність між класом L та підкласами SII та SIII була на рівні 84,4–87,2 %.

Пошук у базі даних GenBank виявив, що найбільший рівень гомології до довгих МГС 5S рДНК *C. quitensis* мають послідовності цієї ділянки виду *Silene latifolia* Poir., який належить до іншої секції родини Caryophyllaceae (Greenberg and Donoghue, 2011). Вирівнювання та аналіз послідовностей МГС 5S рДНК двох видів показали, що незважаючи на подібну довжину клонів *S. latifolia* і коротких клонів *C. quitensis*, ці два види суттєво відрізнялися за нуклеотидною послідовністю (рис. 2). Рівень ідентичності трьох клонів *S. latifolia* був у межах 93,6–99,6 %. Ця величина є порівнюваною з ідентичністю клонів МГС *C. quitensis* в межах одного підкласу повторів (табл. 2). Водночас, рівень ідентичності нуклеотидних послідовностей клонів МГС 5S рДНК цих двох видів, що належать до різних секцій, був відносно низьким і коливався від 42 до 50,2 %. Найбільшу подібність мали ділянки, розташовані на початку та в кінці МГС, які містять консервативні функціональні елементи. Крім того, МГС *S. latifolia* мав істотно нижчий вміст GC-пар – 34,89–37,70 % порівняно із 41,69–46,55 % у *C. quitensis*.

У цій роботі ми мали на меті створити підґрунтя для використання 5S рДНК в якості молекулярного маркера для вирішення питань біогеографії та філогенетики перлинниці ан-

тарктичної. Зокрема, ми визначили нуклеотидну послідовність та дослідили молекулярну організацію МГС 5S рДНК однієї з двох судинних рослин Антарктики – *C. quitensis*. Було встановлено, що МГС 5S рДНК цього виду містить типові для інших судинних рослин функціональні елементи. В індивідуальному геномі було виявлено два класи повторів 5S рДНК, які відрізнялися за довжиною МГС більше, ніж удвічі. Поряд із цим, істотні відмінності між послідовностями МГС всередині кожного з класів повторів дозволили виділити два підкласи повторів з довгим МГС і три підкласи повторів з коротким МГС. Загалом, отримані дані свідчать про високий рівень внутрішньогеномного поліморфізму МГС 5S рДНК *C. quitensis*.

Слід зазначити, що присутність в одному геномі класів МГС 5S рДНК, які суттєво відрізняються за довжиною, не є унікальною особливістю *C. quitensis*. Подібну ситуацію було виявлено і при дослідженні рибосомних повторів у інших видів. Так, у дослідженні *Rosa nitida* Wild. було встановлено, що один з клонів МГС 5S рДНК цього виду мав довжину 204 п.н., тоді як всі інші – біля 400 п.н. (Tynkevych and Volkov, 2011). У випадку іншої рослини *Landoltia punctata* (G.Mey.) Les & D.J.Crawford (Araceae) довжина МГС в різних

Таблиця 2. Рівень ідентичності (%) клонів МГС 5S рДНК *Colobanthus quitensis* та *Silene latifolia*

Клас	L				S					SI45	SI46	SI48
	LII		LI		SIII	SII		SI				
Клон	CqSkL2	CqSkL5	CqSkL1	CqSkL3	CqSkS4	CqSkS3	CqSkS1	CqSkS7	CqSkS6			
CqSkL2	–											
CqSkL5	98,6	–										
CqSkL1	98,5	99,1	–									
CqSkL3	98,4	98,9	99,1	–								
CqSkS4	84,8	84,4	84,5	85,3	–							
CqSkS3	87,2	86,8	87,1	87,1	84,7	–						
CqSkS1	86,8	86,4	86,6	86,6	84,3	99,6	–					
CqSkS7	96,1	96,1	95,5	96,4	85,2	86,5	86,0	–				
CqSkS6	95,7	95,7	95,0	95,9	84,7	86,0	85,6	99,6	–			
SI45	45,0	44,5	43,7	44,6	50,2	45,6	45,6	48,0	48,5	–		
SI46	43,3	42,9	42,0	42,9	49,1	45,1	45,1	46,0	46,5	93,6	–	
SI48	43,5	43,1	42,2	43,1	49,3	45,3	45,3	46,3	46,7	94,0	99,6	–

класах повторів 5S рДНК варіювала в межах від 151 до 524 п.н. (Chen et al, 2021). В обох випадках автори це пояснюють локалізацією повторів різних класів у різних хромосомних локусах 5S рДНК, що обмежує їхню гомогенізацію. У випадку *R. nitida* також висловлено припущення, що багатонуклеотидна делеція, яка властива коротким послідовностям, може вказувати на переродження їх у псевдогени. Проте збереження неушкоджених транскрипційно-важливих елементів не дозволяє стверджувати це однозначно і залишає відкритим питання про функціональну активність повторів обох типів (Tynkevych and Volkov, 2011). У випадку повторів 5S рДНК *C. quitensis* з коротким МГС складається враження, що вони, зважаючи на їхню порівняно вищу внутрішньогеномну мінливість, також могли втратити функцію кодування 5S рРНК. Однак для підтвердження цього припущення потрібні додаткові дослідження повної послідовності кодувальної ділянки генів з коротким і довгим МГС. Враховуючи надлишкову кількість генів 5S рРНК в геномі рослин, можна припустити, що такі вкорочені послідовності МГС є транскрипційно неактивними і виконують у геномі структурну або іншу функцію.

На противагу цьому, для багатьох рослин характерним є наявність в одному геномі кількох класів повторів 5S рДНК з різною послідовністю, але близьких за довжиною МГС (Volkov, 2021). Часто таке явище спостерігається у злаків. Так, наприклад, для іншої судинної рослини Антарктики *D. antarctica* нами було показано присутність в геномі кількох класів повторів 5S рДНК з незначною різницею за розміром (199–204 п.н.), але з істотними відмінностями за нуклеотидною послідовністю (ідентичність в межах 81,1–83,8 %) (Ishchenko et al, 2018). Варіанти рибосомних повторів з різницею за довжиною до 17 нуклеотидів (173–190 п.н.) та ідентичністю нуклеотидної послідовності 81,2–94,8 % були виявлені також у *Avenella flexuosa* (Ishchenko et al, 2020).

Таким чином, виявлена у *C. quitensis* гетерогенність 5S рДНК може свідчити про існування в геномі цього виду кількох хромосомних локусів, сформованих рибосомними повторами різної довжини, які еволюціонують не-

залежно. Значний внесок поліплоїдії, і зокрема аллополіплоїдії, в еволюцію багатьох видів рослин є загальноновизнаним фактом (Soltis et al, 2004). Хромосомне число рослин роду *Colobanthus* становить $2n = 80$ (Bennett et al, 1982; Siljak-Yakovlev et al, 2020), що може вказувати на поліплоїдію. Про те, що *C. quitensis* імовірно є тетраплоїдом, говориться в роботі (Bennett et al, 1982), а також свідчать дані дослідження вмісту ядерної ДНК в трьох популяціях цього виду, в результаті якого в Південних Андах було виявлено диплоїдну рослину (Cuba-Díaz et al, 2017). В такому випадку отримані дані можна пояснити тим, що цей вид є аллополіплоїдом. Імовірно він утворився внаслідок гібридизації двох споріднених предкових видів, що містили в своєму геномі різні за довжиною, але достатньо близькі за нуклеотидною послідовністю рибосомні повтори.

Висновки. Визначено нуклеотидну послідовність, а також досліджено молекулярну організацію та внутрішньогеномний поліморфізм міжгенного спейсера генів 5S рРНК *C. quitensis*. Встановлено існування в індивідуальному геномі рослини цього виду щонайменше двох класів повторів 5S рДНК, які істотно відрізняються за довжиною і нуклеотидною послідовністю МГС. На основі відмінностей в довжині та нуклеотидній послідовності виділено 2 підкласи повторів рДНК з довгим МГС та 3 підкласи – з коротким МГС. Порівняння послідовностей МГС 5S рДНК *C. quitensis* і *S. latifolia*, представника іншої секції родини Caryophyllaceae, показало значні відмінності в будові цієї ділянки генів 5S рРНК за виключенням її частин, що мають функціональне значення.

Автори висловлюють щиру вдячність д-ру О. Зеленському за допомогу у виконанні цієї роботи.

Дотримання етичних стандартів. Ця стаття не містить будь-яких досліджень за участю людей або тварин в якості об'єктів дослідження.

Конфлікт інтересів. Авторі заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Фінансування. Роботу проведено в рамках НДР «Генетичні і фізіолого-біохімічні механізми адаптації рослин до екстремальних умов довкілля» (2021–2025 рр.) № 0120U105249.

MOLECULAR ORGANIZATION
AND INTRAGENOMIC VARIABILITY
OF 5S RIBOSOMAL RNA INTERGENIC SPACER
FROM *COLOBANTHUS QUITENSIS*

I.O. Andreev, V.M. Mel'nyk,
I.Yu. Parnikoza, V.A. Kunakh

Institute of Molecular Biology and Genetics
of the NAS of Ukraine
Akademik Zabolotny str., 150, Kyiv, Ukraine, 03143,
State Institution «National Antarctic Scientific Center»
of the MES of Ukraine,
Taras Shevchenko blvd., 16, Kyiv, Ukraine, 01601
E-mail: i.o.andreev@imbg.org.ua

The intergenic spacer (IGS) of 5S ribosomal RNA genes (5S rDNA), which are present in the genome of all living organisms, is characterized by high variability, which makes it a convenient and widely used tool for studying issues of genome evolution, population genetics, systematics, etc. The objective of this study was to study the IGS of 5S rDNA of Antarctic pearlwort *Colobanthus quitensis*. Using molecular genetic methods, IGS region was amplified, cloned, and sequenced, followed by the analysis of structural organization. The IGS of 5S rDNA of *C. quitensis* was shown to contain basic regulatory elements typical of other vascular plants. At least two classes of 5S rDNA repeats, which differ significantly in length and nucleotide sequence of the spacer, were found in the individual genome. In addition, based on the differences in length and nucleotide sequence, 2 subclasses of the repeats with a long IGS and 3 subclasses of repeats with a short IGS were distinguished. Comparison of the sequences of the IGS of 5S rDNA of *C. quitensis* and *Silene latifolia* Poir., a species of another section of Caryophyllaceae, showed significant differences in the structure of the spacer of 5S rRNA genes, excluding its parts that contain regulatory elements. In general, the results indicate a significant level of intragenomic polymorphism of MGS 5S rDNA in *C. quitensis*.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

Androsiuk P, Chwedorzewska K, Szandar K, Gielwanowska I (2015) Genetic variability of *Colobanthus quitensis* from King George Island (Antarctica). Polish Polar Res 36:281–295. <https://doi.org/10.1515/pore-2015-0017>

Bennett MD, Smith JB, Smith RIL (1982) DNA amounts of angiosperms from the Antarctic and South Georgia. Environ Exp Bot 22:307–318. [https://doi.org/10.1016/0098-8472\(82\)90023-5](https://doi.org/10.1016/0098-8472(82)90023-5)

Biersma EM, Torres-Díaz C, Molina-Montenegro MA et al (2020) Multiple late-Pleistocene colonisation

events of the Antarctic pearlwort *Colobanthus quitensis* (Caryophyllaceae) reveal the recent arrival of native Antarctic vascular flora. J Biogeogr 47:1663–1673. <https://doi.org/10.1111/jbi.13843>

Chen G, Stepanenko A, Borisjuk N (2021) Mosaic Arrangement of the 5S rDNA in the Aquatic Plant *Landoltia punctata* (Lemnaceae). Front Plant Sci 12:1–10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.678689>

Cuba-Díaz M, Cerda G, Rivera C, Gymez A (2017) Genome size comparison in *Colobanthus quitensis* populations show differences in species ploidy. Polar Biol 40:1475–1480. <https://doi.org/10.1007/s00300-016-2058-z>

Doyle JJ, Doyle JL (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem Bull 11:11–15

García S, Panero JL, Siroky J, Kovarik A (2010) Repeated reunions and splits feature the highly dynamic evolution of 5S and 35S ribosomal RNA genes (rDNA) in the Asteraceae family. BMC Plant Biol 10:1–18. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-176>

Greenberg AK, Donoghue MJ (2011) Molecular systematics and character evolution in Caryophyllaceae. Taxon 60:1637–1652. <https://doi.org/10.1002/tax.606009>

Hemleben V, Grierson D, Borisjuk N et al (2021) Personal perspectives on plant ribosomal RNA genes research: From precursor-rRNA to molecular evolution. Front Plant Sci 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.797348>

Ishchenko OO, Mel'nyk VM, Parnikoza IY et al (2020) Molecular organization of 5S ribosomal DNA and taxonomic status of *Avenella flexuosa* (L.) Drejer (Poaceae). Cytol Genet 54:505–513. <https://doi.org/10.3103/S0095452720060055>

Ishchenko OO, Panchuk II, Andreev IO et al (2018) Molecular organization of 5S ribosomal DNA of *Deschampsia antarctica*. Cytol Genet 52:416–421. <https://doi.org/10.3103/S0095452718060105>

Kang Y, Lee H, Kim MK et al (2016) The complete chloroplast genome of Antarctic pearlwort, *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. (Caryophyllaceae). Mitochondrial DNA Part A DNA Mapping, Seq Anal 27:4677–4678. <https://doi.org/10.3109/19401736.2015.1106498>

Koc J, Androsiuk P, Chwedorzewska KJ et al (2018) Range-wide pattern of genetic variation in *Colobanthus quitensis*. Polar Biol 41:2467–2479. <https://doi.org/10.1007/s00300-018-2383-5>

Okonechnikov K, Golosova O, Fursov M et al (2012) Unipro UGENE: A unified bioinformatics toolkit. Bioinformatics 28:1166–1167. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTS091>

- Pascual-Díaz JP, Serçe S, Hradecká I et al (2020) Genome size constancy in Antarctic populations of *Colobanthus quitensis* and *Deschampsia antarctica*. *Polar Biol* 43:1407–1413. <https://doi.org/10.1007/s00300-020-02699-y>
- Siljak-Yakovlev S, Lamy F, Takvorian N et al (2020) Genome size and chromosome number of ten plant species from Kerguelen Islands. *Polar Biol* 43:1985–1999. <https://doi.org/10.1007/S00300-020-02755-7>/FIGURES/3
- Soltis DE, Soltis PS, Tate JA (2004) Advances in the study of polyploidy since plant speciation. *New Phytol* 161:173–191. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00948.x>
- Tynkevich YO, Shelyfist AY, Kozub LV et al (2022) 5S Ribosomal DNA of Genus *Solanum*: Molecular Organization, Evolution, and Taxonomy. *Front Plant Sci* 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.852406>
- Tynkevych YO, Volkov RA (2011) Structural organization of 5S ribosomal DNA of *Rosa nitida* Willd. *Bull Vavilov Soc Genet Breeders Ukr* 9:276–282
- Volkov RA (ed) (2021) 5S Ribosomal DNA of flowering plants. Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University, Chernivtsi
- Volkov RA, Panchuk II, Borisjuk LG, Borisjuk MV (2003) Plant rDNA: Organization, evolution, and using. *Tsitologiya i Genet* 37:72–78
- Volkov RA, Panchuk II, Borisjuk NV et al (2017) Evolutional dynamics of 45S and 5S ribosomal DNA in ancient allohexaploid *Atropa belladonna*. *BMC Plant Biol* 17:1–15. <https://doi.org/10.1186/s12870-017-0978-6>

Надійшла в редакцію 08.05.23
Після доопрацювання 18.05.23
Прийнята до друку 18.09.23