

ПАНЧУК І. І., КАСІЯНЧУК Р. М., ВОЛКОВ Р. А. ✉

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
Україна, 58012, м. Чернівці, вул. Коцюбинського, 2

✉ r.volkov@chnu.edu.ua, (0372) 58-47-93

СУБПОВТОРИ У 5S рДНК ЯК МОЛЕКУЛЯРНИЙ МАРКЕР
У ПОПУЛЯЦІЯХ *ACER PLATANOIDES* L.

Мета. Для вивчення внутрішньовидової мінливості деревних порід необхідно використовувати ділянки геному, які еволюціонують із найбільшою швидкістю, зокрема такі, як 5S рДНК. Для оцінки можливості застосування 5S рДНК в якості молекулярного маркера у геологічних дослідженнях нами було порівняно молекулярну організацію цієї ділянки у представників двох географічно віддалених – болгарської та української – популяцій клена звичайного, *Acer platanoides* L. **Методи.** ПЛР-ампліфікація, клонування та розшифрування нуклеотидної послідовності. **Результати.** Встановлено, що в геномі *A. platanoides* послідовності 5S рДНК високо подібні між собою. Проте в *A. platanoides* з болгарської популяції в міжгенному спейсері (МГС) 5S рДНК наявні три копії субповторів GTCCGTT, тоді як у рослини з української популяції наявна лише одна копія цієї послідовності. За винятком різної кількості субповторів, послідовності 5S рДНК болгарського та українського зразків *A. platanoides* ідентичні. Ділянка МГС 5S рДНК, яка містить потенційні зовнішні елементи промотора РНК-полімерази III у двох таксономічно віддалених видів (*A. platanoides* та *A. pseudoplatanus*), не відрізняється, а отже – еволюціонує з меншою швидкістю, ніж інші частини МГС. **Висновки.** Ідентичність потенційних зовнішніх елементів промотора в межах роду *Acer* підтверджує думку про можливу участь цієї частини МГС ініціації транскрипції 5S рДНК. Наявність різної кількості субповторів у МГС 5S рДНК у представників різних популяцій *A. platanoides* дозволяє використовувати порівняння цієї ділянки для ідентифікації внутрішньовидових форм та оцінки внутрішньовидового генетичного різноманіття цього виду.

Ключові слова: 5S рДНК, молекулярна еволюція, субповтори, внутрішньовидова мінливість, *Acer*.

Широко розповсюдженими у лісах північної півкулі та економічно важливими є представники роду клен (*Acer*) який охоплює більше ста видів [1, 2]. У Європі генетичне різноманіття у популяціях деревних порід, які становлять основу лісових екосистем, сформувалося в післяльодовиковий період, коли рослини з південних рефугіумів мігрували на північ. Зручним інструментом для оцінки внутрішньовидового генетичного поліморфізму та відтворення шляхів міграції рослин є молекулярні маркери [3–7].

Для розкриття внутрішньовидової мінливості кількох північноамериканських та східноазійських видів роду *Acer* за останні роки було з успіхом застосовано ядерні та хлоропластні мікросателітні маркери [8–12]. Водночас практично не використаною для цієї мети залишається 5S рДНК, молекулярна організація якої у представників роду *Acer* все ще залишається майже не дослідженою.

5S рДНК належить до класу тандемно організованих повторюваних послідовностей, що утворюють кластери та локалізовані на одній чи декількох хромосомах [13, 14]. Кожна повторювана одиниця 5S рДНК складається з кодувальної ділянки та міжгенного спейсера (МГС). Кодувальна ділянка є еволюційно консервативною, і помітна різниця в її послідовності спостерігається лише за порівняння віддалених таксонів. Натомість, послідовність МГС швидко накопичує мутації і нерідко значно відрізняється вже на міжвидовому або міжпопуляційному рівні [7, 14–19].

Враховуючи згадане вище, ми вирішили дослідити молекулярну організацію цієї ділянки геному у широко розповсюдженого у лісах Європи виду – клена звичайного, або гостролистого *A. platanoides* (секція *Platanoides* [2]) та оцінити можливість використання 5S рДНК в якості молекулярного маркера для диференціації популяцій цього виду.

Матеріали і методи

Матеріалом для дослідження були зразки *A. platanoides* з двох географічно віддалених регіонів: зразок UA45 було зібрано на території заказника Цецино (Чернівецька обл., Україна), а зразок BG31 – поблизу від с. Дуранкулак (Добрицька обл., Болгарія). Загальну ДНК отримували з гербаризованого листа за стандартною методикою виділення ДНК [20].

Повторювану ділянку 5S рДНК ампліфікували за допомогою ПЛР. Для цього використовували пару праймерів 5S-14a (5'-GCCA-GAGTAGTACTAGGATGCGTGAC-3') і 5S-15 (5'-GCTTAACTTCGGAGTTCTGATGGGA-3'), які комплементарні до послідовності 5S рДНК дводольних рослин [21–24]. Обидва праймери містили на 5'-кінці фосфатну групу, що підвищує ефективність лігування під час клонування ПЛР-продуктів за тупими кінцями. Використана пара праймерів дозволяє ампліфікувати майже повний повтор 5S рДНК: лише 9 нп у центральній частині кодувальної ділянки залишаються не ампліфікованими. Реакційна суміш загальним об'ємом 25 мкл містила такі компоненти: 10–30 нг ДНК, 1,0 од. акт ДНК-полімерази (Phusion DNA polymerase, Thermoscientific), 0,1 мМ суміші дезоксирибонуклеотидфосфатів, 1х буфер для ПЛР та 0,5 мкМ кожного з двох праймерів. ПЛР проводилася з використанням ампліфікатора MiniCycler (MJ Research Inc., США) за такою програмою: (1) початкова активація ДНК-полімерази – 95°C, 2 хв; (2) денатурація ДНК – 95°C, 45 с; (3) гібридизація праймерів – 58°C, 40 с; (4) синтез ДНК – 72°C, 1 хв; (5) закінчення ампліфікації – 72°C, 8 хв; припинення реакції – 4°C; загальна кількість циклів ампліфікації – 35. Продукти ПЛР аналізували за допомогою електрофоретичного аналізу у 1,5 % агарозному гелі.

Отримані ПЛР-продукти лігували за фосфорильованими тупими кінцями з використанням T4 ДНК-лігази (Thermoscientific) в оброблений рестриктазою SmaI (Thermoscientific) та дефосфорильований плазмідний вектор pBluescript-SK. Трансформацію продуктів лігування у компетентні клітини лінії *Escherichia coli* XL-blue проводили методом електропорації з використанням приладу E. coli Pulser (BioRad, США). Колонії, що містили рекомбінантні плазміди, виявляли методом blue-white colony selection. Плазміди виділяли методом лужного лізису [25]. Ферментативні реакції проводили згідно з рекомендаціями фірми-постачальника.

Наявність вставки у плазмідах перевіряли, застосовуючи ПЛР з праймерами M13/pUC forward (For) та reverse (Rev), сайти гібридизації яких знаходяться в плазмідній ДНК з двох боків від полілінкеру. Рекомбінантні плазміди, що містили вставки 5S рДНК, сиквенували на фірмі GATC (Німеччина). Первинну обробку отриманих нуклеотидних послідовностей проводили за допомогою комп'ютерної програми Chromas та пакета програм комп'ютерної обробки даних DNASTAR [26]. Вирівнювання послідовностей здійснювали методом Clustal W [27].

Результати та обговорення

Електрофоретичний аналіз ампліфікатів повторюваної ділянки 5S рДНК показав, що для обох використаних зразків утворюється лише один ПЛР-продукт довжиною приблизно 320 нп. В експериментах з клонування було відібрано по 12 колоній трансформантів для кожної з двох досліджених популяцій. Визначення розміру вставки у відібраних плазмідах методом ПЛР виявило, що всі вони мають однакову довжину, яка відповідає довжині ПЛР-продукту, використаному для клонування. Для сиквенування було обрано три клони з української та два – з болгарської популяцій *A. platanoides*.

Порівняння отриманих полінуклеотидних послідовностей із наявними у базі даних Genbank показало, що у всіх п'яти клонах у складі вставок наявні обидва застосовані для ПЛР праймери та сусідні з ними фрагменти кодувальної послідовності, між якими розташовано МГС 5S рДНК. При цьому довжина МГС для зразка української популяції складає 204 нп, а болгарської – 218 нп (табл. 1). Беручи до уваги, що довжина кодувальної ділянки 5S рДНК в еукаріот становить 120 нп [13, 28], можна підрахувати, що повна довжина повтору 5S рДНК у представників цих двох популяцій *A. platanoides* становить відповідно 324 та 338 нп.

Наступним кроком аналізу послідовностей 5S рДНК *A. platanoides* було їх порівняння між собою та з 5S рДНК явора *A. pseudoplatanus* (секція *Acer* – [2]). Для 5S рДНК явора було обрано клон Acpse-UA87-1 (Aps-X87-1), який був раніше отриманий у нашій лабораторії [23]. Вирівнювання нуклеотидних послідовностей показало дуже високий рівень внутрішньогеномної схожості 5S рДНК у *A. platanoides*: клони, отримані для кожного із двох досліджених зразків, виявились ідентичними між собою. Водно-

час у болгарського зразка *A. platanoides* довжина МГС виявилася на 14 нп більшою, ніж в українського (табл. 1). Це пов'язано з тим, що у МГС болгарського зразка наявні три копії прямих тандемних субповторів GTCCGTT, тоді як

в українського зразка наявна лише одна копія цієї послідовності (рис.). За винятком наявності різної кількості субповторів, послідовності 5S рДНК болгарського та українського зразків *A. platanoides* виявилися ідентичними.

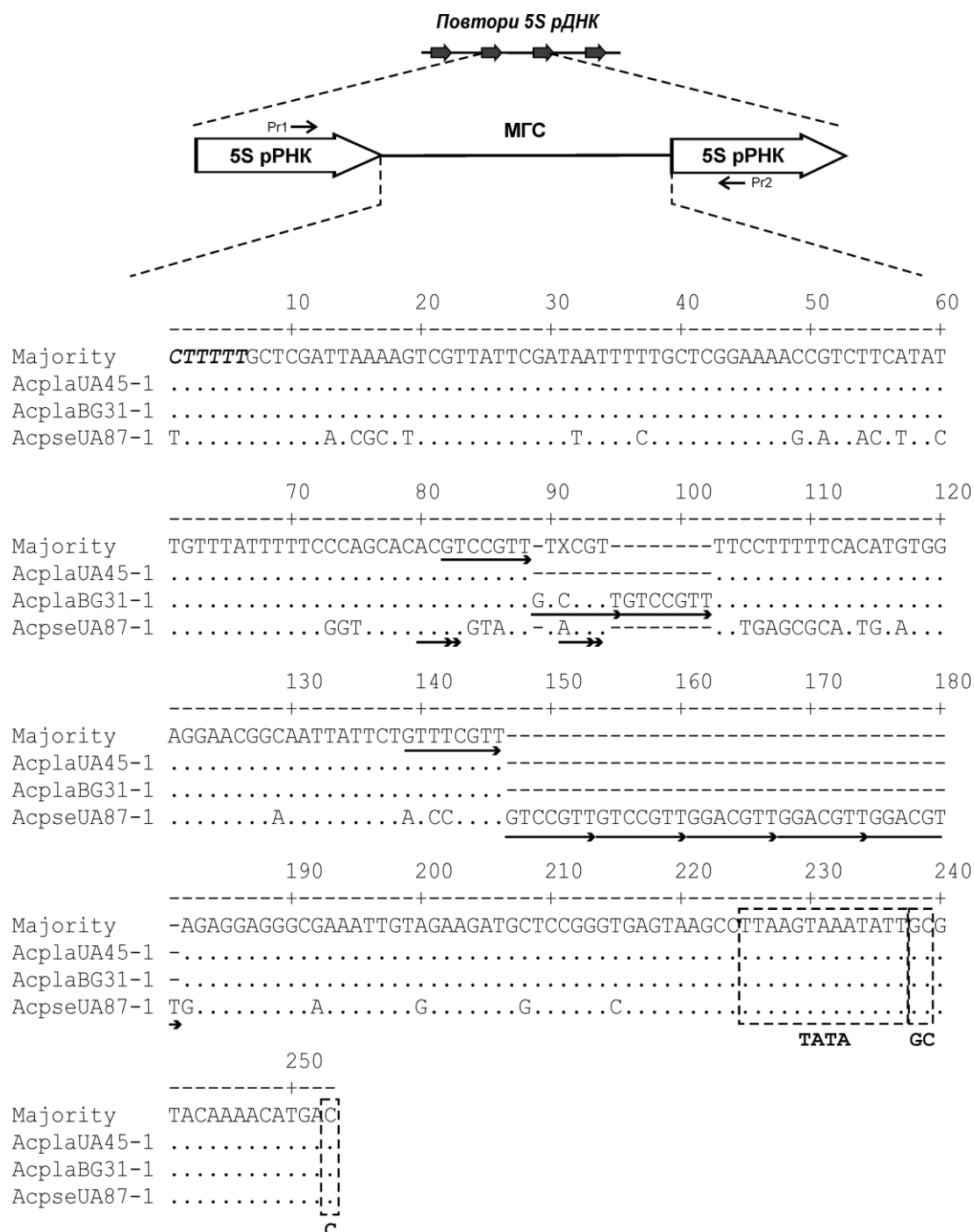


Рис. Структурна організація МГС 5S рДНК *Acer platanoides* та *A. pseudoplatanus*. Pr1 та Pr2 – праймери 5S-14а та 5S-15 відповідно. Жирним курсивом виділено оліго-Т послідовність термінатора. Потенційні елементи зовнішнього промотора позначено рамкою. Стрілками вказано розташування повторюваних мотивів у МГС.

Порівняння 5S рДНК двох видів клена виявило, що в *A. pseudoplatanus* довжина МГС більша, ніж в *A. platanoides*, що є наслідком наявності у МГС явора шести тандемних субповторів у позиції, відмінній від болгарського зразка *A. platanoides*. Цікаво, що друга та третя копії цих субповторів виявились ідентичними із субповторами *A. platanoides* (GTCCGTT), тоді як решта частково відрізнялася від них (перша копія – ATCCCGTT, четверта-шоста – GGACGTT). Крім того, 5S рДНК двох досліджених видів клена відрізняються чисельними нуклеотидними замінами за межами зони субповторів (рис.). На загал рівень подібності між МГС *A. pseudoplatanus* та *A. platanoides* становить 80,9–81,7 % (табл. 2). Такий відносно низький рівень подібності добре узгоджується із тим, що ці два види належать до різних секцій роду *Acer*.

Відомо, що ініціацію транскрипції 5S рДНК забезпечує так званий внутрішній промотор, послідовності якого знаходяться в межах кодувальної ділянки. Крім того, у МГС мають бути наявні зовнішні елементи промотора, які беруть участь в ініціації транскрипції. У *Arabidopsis thaliana* (родина Brassicaceae) ці елементи представлені мотивами ТАТАТА, GC та С, які знаходяться у МГС відповідно у позиціях -28, -13 та -1 від 5'-кінця кодувальної ділянки [28, 29]. Схожі мотиви було знайдено нами раніше і у 5S рДНК представників кількох інших родин як дводольних (Solanaceae [24, 30], Rosaceae

[21], Fabaceae [22], так і однодольних рослин (Poaceae [19]).

Попередній аналіз послідовності МГС *A. pseudoplatanus* показав, що у позиції -1, як і в інших видів рослин, дійсно наявний нуклеотид С, проте динуклеотид GC відсутній у позиції -13, а знаходиться у позиції -16. Крім того, у позиціях -14 та -12 наявні мотиви GT та AC, які відрізняються від GC на одну транзицію. Отже, ми припускаємо, що один із цих трьох мотивів може слугувати елементом промотора 5S рДНК *A. pseudoplatanus* [23].

Також було встановлено, що у МГС *A. pseudoplatanus* в позиції -28 шестинуклеотидний мотив ТАТАТА відсутній. Натомість у позиції -29 від 5'-кінця кодувальної ділянки розташовується АТ-багатий мотив ТТТААГТAAAT-АТТ, що, ймовірно, функціонально замінює шестинуклеотидний ТАТАТА мотив, який наявний у МГС інших рослин [21, 22, 24]. Наші нові дані показують, що всі характерні для явора мотиви є і у МГС клена гостролистого (рис.). Більше того, частина МГС довжиною 38 нп, яка безпосередньо межує із початком кодувальної ділянки і містить потенційні зовнішні елементи промотора РНК-полімерази III є ідентичною у *A. platanoides* та *A. pseudoplatanus*, тобто ця ділянка еволюціонує повільніше, ніж інші частини МГС. Це цілком відповідає уявленню, що саме ця частина МГС несе функціональне навантаження, а саме – задіяна в ініціації транскрипції.

Таблиця 1. Характеристика сиквенованих повторюваних ділянок 5S рДНК *Acer platanoides*

Назва клону	Довжина вставки, нп	Довжина МГС, нп	Вміст GC-пар у МГС, %
Aspla-UA45-1, Aspla-UA45-2, Aspla-UA45-3	315	204	39,22
Aspla-BG31-1, Aspla-BG31-5	329	218	40,37

Таблиця 2. Рівень подібності (%) МГС 5S рДНК *Acer platanoides* та *A. pseudoplatanus*

1	2	3	
100	100	81,7	1
	100	80,9	2
		100	3

Примітки: 1 – клони Aspla- UA45-1, -2, -3; 2 – Aspla- BG31-1, -5; 3 – Aspla-UA87-1.

На початку МГС у *A. platanoides* знаходиться оліго-Т мотив СТТТТТ, який є імовірним термінатором РНК-полімерази III, що забезпечує транскрипцію 5S рДНК [28]. Цей мотив відрізняється від гомологічного у *A. pseudo-platanus* на одну транзицію Т → С.

Висновки

1. У видів роду *Acer* ділянка МГС 5S рДНК, яка містить потенційні зовнішні елементи промотора РНК-полімерази III, еволюціонує

з меншою швидкістю, ніж інші частини МГС, що підтверджує думку про її можливу участь в ініціації транскрипції 5S рДНК.

2. У представників різних популяцій клена звичайного *A. platanoides* МГС 5S рДНК дуже схожий за послідовністю, але може відрізнятися за наявністю субповторів. Це дозволяє використовувати порівняння цієї ділянки для ідентифікації внутрішньовидових форм та оцінки внутрішньовидового генетичного різноманіття *A. platanoides*.

References

- Kokhno N.A. Maples of Ukraine. K.: Nauk. dumka. 1982. 184 p.
- de Jong P.C., Gelderen D.M., Oterdoom H.J. Taxonomy and reproductive biology of maples. Maples of the world. Timber Press, Portland. 1994. P. 69–104.
- Ivanovych Ya., Volkov R. Genetic relatedness of sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars from Ukraine determined by microsatellite markers. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 2017. Vol. 93, No 1. P. 1–9. doi: <https://doi.org/10.1080/14620316.2017.1342568>.
- Ivanovych Ya.I., Udovychenko K.M., Bubyk M.O., Volkov R.A. ISSR-PCR fingerprinting of Ukrainian sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars. *Cytology and genetics.* 2017. Vol. 51, № 1. С. 61–68. doi: 10.3103/S0095452717010066.
- Grimm G.W., Schlee M., Komarova N.Y. Low-level taxonomy and intrageneric evolutionary trends in higher plants. *Nova Acta Leopoldina NF.* 2005. Vol. 92, No. 342. P. 129–145. URL: www.researchgate.net/profile/Vera_Hemleben2/publication/291025941.
- Тмьїitel M., Vratislavskб P., Novбk I.I., Chorney, Rolenek J. Merging of *Pedicularis exaltata* and *P. hacquetii* in the Carpathians: from local history to regional phylogeography based on complex evidence. *Folia Geobotanica.* 2018. Vol. 53, No. 3. P. 301–315. doi:10.1007/s12224-018-9317-4.
- Denk T. The oaks of western Eurasia. Traditional classifications and evidence from two nuclear markers. *Taxon.* 2010. Vol. 59. P. 351–366. URL: <https://www.jstor.org/stable/25677595>.
- Ye J.W., Gou X.D., Wang S.H. et al. Molecular evidence reveals a closer relationship between Japanese and mainland subtropical specimens of a widespread tree species, *Acer mono.* *Biochem. Syst. Ecol.* 2015. Vol. 60. P. 143–149. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2015.04.010>.
- Wang H.Y., Wei B.Y., Xiao H.X. Development of 15 microsatellite markers in *Acer triflorum* (Aceraceae) and cross-amplification in congeneric species. *Applications in Plant Sciences.* 2018. Vol. 6 (7): e1166. P. 1–4. doi: 10.1002/aps3.1166.
- Harmon M., Lane T., Staton M. et al. Development of novel genic microsatellite markers from transcriptome sequencing in sugar maple (*Acer saccharum* Marsh.). *BMC Res Notes.* 2017. Vol. 10. P. 369. P. 1–7. <https://doi.org/10.1186/s13104-017-2653-2>.
- He Y.L., He Y., Gong L. L. et al. Population genetic structure and interspecific differentiation between *Acer davidii* Franchi and *A. morrisonense* Hayata (Aceraceae) based on SSR markers. *Biochem. System. Ecol.* 2017. Vol. 71. P. 42–49. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2017.01.009>.
- Zhao J., Xu Y., Xi L., et al. Characterization of the chloroplast genome sequence of *Acer miaotaiense*: Comparative and Phylogenetic Analyses. *Molecules.* 2018. Vol. 23. P. 1740. doi: 10.3390/molecules2307174.
- Cloix C., Tutois S. Analysis of 5S rDNA arrays in *Arabidopsis thaliana* L.: physical mapping and chromosome-specific polymorphisms. *Genom Res.* 2000. Vol. 10. P. 679–690. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC310874/>.
- Volkov R.A., Panchuk I.I., Borisjuk L.G., Borisjuk M.V. Plant rDNA: Organization, evolution, and using. *Cytol. Genet.* 2003. Vol. 37, No. 1. P. 68–72. URL: <https://link.springer.com/article/10.3103%2FS0095452718060105>.
- Saini A., Jawali N. Molecular evolution of 5S rDNA region in *Vigna* subgenus *Ceratotropis* and its phylogenetic implications. *Plant Syst. Evol.* 2009. Vol. 280. P. 187–206. doi: 10.1007/s00606-009-0178-4.
- Zeng Q., Chen H., Zhang C. et al. Definition of eight mulberry species in the genus *Morus* by internal transcribed spacer-based phylogeny. *PLOS One.* 2015. Vol. 10, No. 8. P. 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135411>.
- Mlinarec J., Franjevic D., Bockor L., Besendorfer V. Diverse evolutionary pathways shaped 5S rDNA of species of tribe Anemoneae (Ranunculaceae) and reveal phylogenetic signal. *Bot. J. Linn. Soc.* 2016. Vol. 182, No. 1. P. 80–99. <https://doi.org/10.1111/boj.12452>.
- Bolsheva N.L., Melnikova N.V., Kirov I.V. et al. Evolution of blue-flowered species of genus *Linum* based on high-throughput sequencing of ribosomal RNA genes. *BMC Evol. Biol.* 2017. Vol. 17, No. 2. P. 23–36. <https://doi.org/10.1186/s12862-017-1105-x>.
- Ishchenko O.O., Panchuk I.I., Andreev I.O. et al. Molecular Organization of 5S Ribosomal DNA of *Deschampsia antarctica*. *Cytol. Genet.* 2018. Vol. 52, No. 6. P. 416–421. doi: 10.3103/S0095452718060105.
- Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. *Plant Mol. Biol.* 1985. Vol. 5. P. 69–76.
- Tynkevich Yu.O., Volkov R.A. Novel structural class of 5S rDNA of *Rosa wichurana* Crep. *Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine.* 2014. No. 5. P. 143–148. URL: <http://dspace.nbuv.gov.ua/handle/123456789/87715>.

22. Tynkevich Yu.O., Nevelska A.O., Chorney I.I., Volkov R.A. Organization and variability of the 5S rDNA intergenic spacer of *Lathyrus venetus*. *The Bulletin of Vavilov Society of Geneticists and Breeders of Ukraine*. 2015. Vol. 13, № 1. P. 81–87. URL: <http://utgis.org.ua/journals/index.php/VisnykUTGiS/article/view/394>.
23. Rusak O.O., Petrashchuk V.I., Panchuk I.I., Volkov R.A. Molecular organization of 5S rDNA in two Ukrainian populations of Sycamore (*Acer pseudoplatanus*). *The Bulletin of Vavilov Society of Geneticists and Breeders of Ukraine*. 2016. Vol. 14, № 2. P. 216–220.
24. Shelyfist A.Y., Tynkevich Yu.O., Volkov R.A. Molecular organization of 5S rDNA of *Brunfelsia uniflora* (POHL.) D. DON. *The Bulletin of Vavilov Society of Geneticists and Breeders of Ukraine*. 2018. Vol. 16, № 1. P. 61–68. URL: <http://utgis.org.ua/journals/index.php/VisnykUTGiS/article/view/903/Shelyfist>.
25. Sambrook J., Fritsch E., Maniatis T. Molecular cloning. New York: Cold Spring Harbor Lab. 1989. 1626 p.
26. DNASTAR, 1998. MegAlign 3.18 edit. Software distributed by DNASTAR Inc., Madison, WI, USA.
27. Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucl. Acids Res.* 1994. Vol. 22, No. 22. P. 4673–4680.
28. Douet J., Tourmente S. Transcription of the 5S rRNA heterochromatic genes is epigenetically controlled in *Arabidopsis thaliana* and *Xenopus laevis*. *Heredity*. 2007. Vol. 99. P. 5–13. <https://doi:10.1038/sj.hdy.6800964>.
29. Layat E., Saez-Vasquez J., Tourmente S. Regulation of Pol I-transcribed 45S rDNA and Pol III-transcribed 5S rDNA in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol.* 2012. Vol. 53, No. 2. P. 267–276. <https://doi:10.1093/pcp/pcr177>.
30. Volkov R.A., Panchuk I.I., Borisjuk N.V. et al. Evolutional dynamics of 45S and 5S ribosomal DNA in ancient allohexaploid *Atropa belladonna*. *BMC Plant Biol.* 2017. Vol. 17, No. 1. P. 1–15. <https://doi:10.1186/s12870-017-0978-6>.

PANCHUK I. I., KASIANCHUK R. M., VOLKOV R. A.

*Yuri Fedkovych National University of Chernivtsi,
Ukraine, 58012, Chernivtsi, Kotsiubynski str., 2, e-mail: r.volkov@chnu.edu.ua*

SUBREPEATS IN 5S rDNAs AS A MOLECULAR MARKER IN ACER PLATANOIDES L. POPULATIONS

Aim. To study the genetic diversity of tree species it is necessary to use only those regions of genome, which evolve at the highest rate, such as 5S rDNA. To estimate the potential of 5S rDNA to be used as a molecular marker for geogeographic studies, the molecular organization of this genomic region was compared between samples from two geographically remote Bulgarian and Ukrainian populations of Norway maple, *Acer platanoides*. **Methods.** PCR amplification, cloning and sequencing. **Results.** It was shown that in the genome of *A. platanoides* the 5S rDNA sequences are highly similar. However, in the 5S rDNA intergenic spacer (IGS) of *A. platanoides* from the Bulgarian population three copies of GTCCGTT subrepeats are present, whereas only one copy of this sequence occurs in plants from the Ukrainian population. Except for different number of subrepeats, the 5S rDNA sequences of the Bulgarian and Ukrainian samples of *A. platanoides* are identical. In two taxonomically distant species, *A. platanoides* and *A. pseudoplatanus*, the region of 5S rDNA IGS, which contains the potential external elements of the promoter of RNA polymerase III, shows no difference, and therefore evolves at a lower rate than other parts of the IGS. **Conclusions.** The identity of the potential external promoter elements within the genus *Acer* supports the idea that this part of the IGS could be involved in the initiation of 5S rDNA transcription. The presence of different numbers of sub-repeats in the 5S rDNA IGS in various populations of *A. platanoides* makes them suitable for identification of intraspecific forms and for evaluation of the intraspecific genetic diversity of *A. platanoides*.

Keywords: 5S rDNA, molecular evolution, sub-repetitions, intraspecific variability, *Acer*.