

ОРГАНІЗАЦІЯ 5S рДНК КЛЕНА ПОЛЬОВОГО (*ACER CAMPESTRE* L.)

О. О. ПЩЕНКО, І. І. ПАНЧУК, Р. А. ВОЛКОВ

Кафедра молекулярної генетики та біотехнології,
Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
вул. Коцюбинського 2, м. Чернівці, 58012
*e-mail: r.volkov@chnu.edu.ua

В останні десятиріччя для вивчення питань видоутворення і таксономії рослин широко застосовуються молекулярні методи. Однією зі зручних моделей для розкриття закономірностей молекулярної еволюції рослин є 5S рДНК, яка належить до класу повторюваних послідовностей та наявна у геномах усіх еукаріот. Кожна повторювана одиниця 5S рДНК складається із кодувальної ділянки та міжгенного спейсера (МГС). Кодувальні послідовності високо консервативні, натомість МГС змінюється як у межах одного виду, так і між видами.

На сьогодні молекулярна організація 5S рДНК у представників роду *Acer* все ще вивчена недостатньо. Тому метою роботи було дослідити організацію і мінливість МГС 5S рДНК європейського виду *Acer campestre*. Аналіз отриманих нуклеотидних послідовностей показав, що клони 5S рДНК дослідженого зразка *A. campestre* подібні між собою на 100 %. Рівень подібності *A. campestre* та *A. platanoides* становить 96,1%, тоді як рівень подібності МГС цих видів з *A. pseudoplatanus* є нижчим, а саме – 81,9–82,4%. Отже, *A. campestre* та *A. platanoides* можна вважати близько спорідненими видами. У геномі клена польового присутній лише один клас повторів 5S рДНК. Потенційні зовнішні елементи промотора РНК-полімерази III, які локалізуються у МГС, відрізняються від описаних у літературі для представників інших родин покритонасінних рослин.

Ключові слова: 5S рДНК, міжгенний спейсер, молекулярна еволюція, повторювані послідовності, *Acer campestre* L., Sapindaceae

Вступ. Клен польовий (*Acer campestre* L.) є одним з найбільш поширених в Європі видів роду. Деревні породи, зокрема представники роду *Acer*, до якого належать більше ста видів (deJong and Gelderen, 1994), привертають значну увагу дослідників, оскільки вони становлять основу лісових екосистем. Проте, генетична мінливість деревних порід все ще залишається мало дослідженою на молекулярному рівні. Однією з причин цього є відносно повільна молекулярна еволюція деревних рослин, порівняно з трав'янистими. Тому для дослідження деревних рослин, в тому числі – видів роду *Acer*, необхідно використовувати ділянки геному, які демонструють найвищу еволюційну мінливість (Harmon et al., 2017; He et al., 2017; Wang et al., 2018; Ye et al., 2015; Zhao et al., 2018). До таких ділянок також належить і міжгенний спейсер (МГС) 5S рДНК (Bolsheva et al., 2017; Denk and Grimm, 2010; Mlinarec et al., 2016; Saini and Jawali, 2009).

Ділянки 5S рДНК належать до середньо повторювальних послідовностей, які утворюють кластери у геномі та розташовуються на одній або кількох хромосомах (Cloix and Tutois, 2000; Navrotska et al., 2018; Volkov et al., 2017). Кожна повторювана одиниця 5S рДНК складається з консервативної кодувальної ділянки та варіабельного міжгенного спейсера. Послідовності МГС швидко накопичують мутації і зазвичай значно відрізняються у

споріднених видів або навіть у популяції одного виду (Русак та ін., 2016; Панчук та ін., 2019; Bolsheva et al., 2017; Fulneczek et al., 2002; Ishchenko et al., 2018; Mlinarec et al., 2016).

На сьогодні молекулярна організація 5S рДНК у представників роду *Acer* залишається вивченою недостатньо. Відповідно, ми поставили перед собою мету проаналізувати організацію ділянки 5S рДНК у *A. campestre* та порівняти її з будовою 5S рДНК у раніше досліджених європейських видів *A. platanoides* та *A. pseudoplatanus* (Панчук та ін., 2019; Русак та ін., 2016).

Матеріали та методи. Матеріалом для дослідження був зразок *A. campestre* зібраний на території національного парку «Золоті піски», Болгарія. Виділення ДНК проводили за стандартною методикою виділення ДНК з цетавлоном (Панчук та Волков, 2007; Rogers and Bendich, 1985). Ампліфікацію повторюваної одиниці 5S рДНК здійснювали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Для цього використовували пару універсальних праймерів 5S-14a-Not (5'–CAATGCGCCGCGAGAGTAGTACTAGGATGCGTGAC–3') і 5S-15-Not (5'–CATTGCGGCCGCTTAACCTTCGGAGTTCTGATGGGA–3'), які комплементарні до ділянки, що кодує 5S рРНК у покритонасінних рослин. Застосування цих праймерів забезпечує ампліфікацію повного МГС та фланкувальних ділянок кодувальної послідовності за винятком 9

нп у її центральній частині. Використані праймери також містять додатковий сайт впізнавання ендонуклеази рестрикції NotI, який було використано у подальшому клонуванні ампліфікатів у плазмідний вектор pLitmus 38.

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 полілінкера.

Рекомбінантні плазмиди, які містили вставки 5S рДНК, сиквенували на фірмі GATC (Німеччина). Первинну обробку нуклеотидних послідовностей проводили за допомогою комп'ютерних програм Chromas та DNASTAR. Вирівнювання послідовностей здійснювали методом Clustal V (Higgins et al., 1992).

Результати та їх обговорення. За даними електрофоретичного аналізу ПЛР-продуктів ділянки 5S рДНК показано, що для *A. campestre* утворюється лише один ампліфікат довжиною приблизно 350 нп. Ці результати вказують на присутність у геномі лише одного варіанту повтору 5S рДНК. Раніше нами було показано, що для *A. platanoides* та *A. pseudoplatanus*, інших представників роду Клен, також характерна наявність лише одного класу повторів 5S рДНК (Панчук та ін., 2019; Русак та ін., 2016).

Отримані ПЛР-продукти клонували у плазмідний вектор. В ході експерименту по клонуванню для досліджуваного зразка нами було відібрано 10 клонів трансформантів та з використанням ПЛР перевірено їх на наявність вставки. Два клони, Ассам-48.4 та Ассам-48.6, було обрано для сиквенування.

Вирівнювання отриманих полінуклеотидних послідовностей показало, що два просиквенувані клони ідентичні між собою. Комп'ютерний аналіз також виявив, що досліджені клони містять у складі вставки МГС 5S рДНК, фланкований з обох сторін фрагментами кодувальної послідовності. При цьому довжина МГС становить 204 нп, а вміст у ньому GC-пар – 39,7%. Враховуючи, що довжина кодувальної ділянки 5S рДНК у більшості еукаріот становить 120 нп (Douet and Tourmente, 2007; Tynkevich and Volkov, 2014; Volkov et al., 2017), можна підрахувати, що повна довжина повтору 5S рДНК у *A. campestre* становить 324 нп.

МГС 5S рДНК *A. campestre* було порівняно як між собою, так і з МГС *A. platanoides* та *A. pseudoplatanus* (рис. 1). Встановлено, що рівень подібності *A. campestre* та *A. platanoides* становить 96,1%, в той час як рівень подібності МГС цих видів з *A. pseudoplatanus* є нижчим, а саме – 81,9-82,4% (табл. 1). Такий високий рівень

подібності МГС *A. campestre* та *A. platanoides* вказує на те, що ці два види є дуже близькоспорідненими, тобто дивергували порівняно нещодавно.

Аналіз отриманих послідовностей показав, що в МГС клонів *A. campestre* присутні мотиви, необхідні для роботи РНК-полімерази III, яка забезпечує транскрипцію 5S рДНК. До таких мотивів, зокрема, належить оліго-Т послідовність, яка локалізована безпосередньо після 3'-кінця кодувальної ділянки і виконує функцію термінатора транскрипції (Douet and Tourmente, 2007; Layat et al., 2012). Проте, у *A. platanoides* в цій ділянці присутня одна транзиція Т→С у першому положенні від кінця кодувальної ділянки (рис. 1).

Відомо, що крім зони термінації у МГС мають бути присутні інші ділянки, необхідні для транскрипції, а саме – зовнішні елементи промотора 5S рДНК, які беруть участь в ініціації транскрипції. Найбільш докладно це питання було досліджено для *Arabidopsis thaliana* (родина Brassicaceae). Встановлено, що до елементів промотора 5S рДНК належать мотиви ТАТАТА, GC та С, які знаходяться у МГС, відповідно, у позиціях –28, –13 та –1 від 5'-кінця кодувальної ділянки (Douet and Tourmente, 2007; Layat et al., 2012). Також, схожі чи ідентичні мотиви присутні у 5S рДНК видів, які належать до таксономічно віддалених порядків дводольних – Solanales, Rosales, Fabales – і навіть однодольних рослин порядку Poales (Ishchenko et al., 2018; Tynkevich et al., 2014; Tynkevich et al., 2015; Volkov and Panchuk, 2014).

Аналіз розшифрованої послідовності МГС показав, що у *A. campestre* у позиції –1, як і у інших видів рослин, дійсно присутній нуклеотид С. Проте, динуклеотид GC відсутній у позиції –13, а знаходиться у позиції –16. Крім того, у позиції –14 присутній мотив GT, який відрізняється від GC на одну транзицію (рис. 1). Можна припустити, що один з цих двох мотивів може слугувати елементом промотора 5S рДНК *A. campestre*.

Також виявилось, що у МГС *A. campestre* в позиції –28 шестинуклеотидний мотив ТАТАТА відсутній. Натомість в позиції –29 від 5'-кінця кодувальної ділянки розташовується АТ-багатий мотив ТТААГТАААТАТТ, що ймовірно функціонально замінює шестинуклеотидний ТАТАТА мотив, який було знайдено у інших рослин. Ідентичний до *A. campestre* мотив присутній також в МГС *A. platanoides* та *A. pseudoplatanus*.

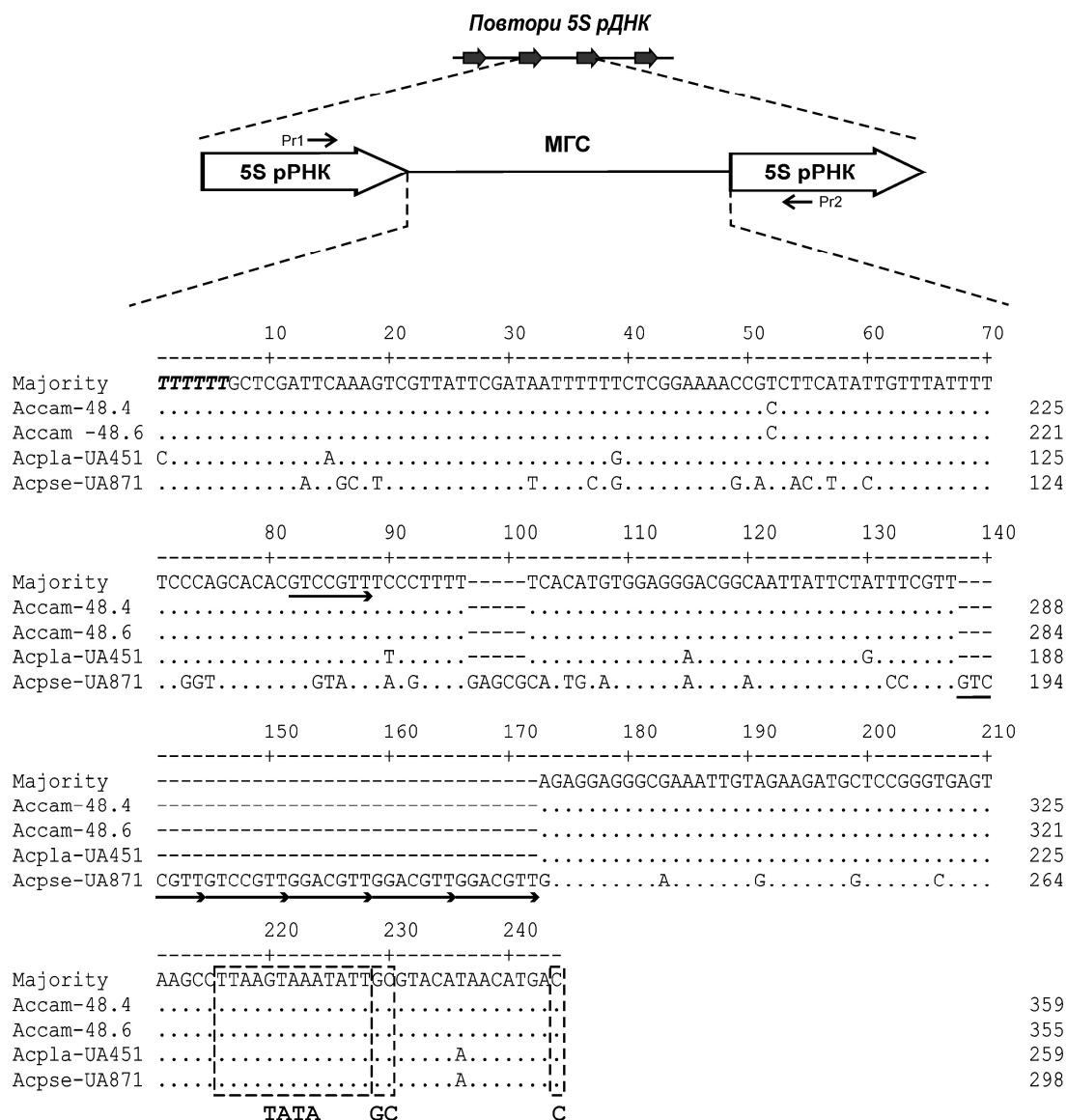


Рис. 1. Структурна організація МГС 5S рДНК *Acer campestre*, *A. platanoides* та *A. pseudoplatanus*. Pr1 та Pr2 – праймери 5S-14a-Not та 5S-15-Not, відповідно.

Fig. 1. Structural organization of the 5S rDNA IGS of *Acer campestre*, *A. platanoides* and *A. pseudoplatanus*. Pr1 and Pr2 are primers 5S-14a-Not and 5S-15-Not, respectively.

Жирним курсивом виділено оліго-Т послідовність термінатора. Потенційні елементи зовнішнього промотора позначено рамкою. Стрілками вказано розташування субповторів у МГС.

The oligo-T terminator sequence is highlighted in bold italics. Potential elements of the external promoter are indicated by a frame. Arrows indicate the location of sub-repeats in the MGS.

Таблиця 1.
Рівень подібності (%) МГС 5S рДНК видів роду *Acer*

Table 1.
Similarity level (%) of the 5S rDNA spacer region of *Acer* species

Клон - Clone	Accam-48.4, -48.6	Acpla-UA451	Acpse-UA871
Accam-48.4, -48.6	100	96.1	81.9
Acpla-UA451		100	82.4
Acpse-UA871			100

Варто зазначити, що раніше у МГС *A. pseudoplatanus* нами було знайдено субповтори, які відсутні як у *A. campestre*, так і у

A. platanoides. Крім того, у цих двох видів, на відміну від *A. pseudoplatanus*, присутня

п'ятинуклеотидна делеція в середині МГС, що підтверджує їхню подібність.

Висновки:

1. У геномі клена польового присутній лише один клас повторів 5S рДНК. Потенційні елементи промотора РНК-полімерази III, які локалізуються у МГС, відрізняються від описаних у літературі для представників інших родин покритонасінних рослин.
2. Висока подібність МГС 5S рДНК *A. campestre* та *A. platanoides* свідчить про близьку спорідненість цих видів.

Фінансування. Дослідження проводились за фінансової підтримки Міністерства освіти і науки України (грант № 0118U000137).

Список використаної літератури:

1. Панчук І.І., Волков Р.А. Практикум з молекулярної генетики. – Чернівці: Рута, 2007. – 120 с.
2. Панчук І.І., Касіяничук Р.М., Волков Р.А. Субповтори у 5S рДНК як молекулярний маркер у популяціях *Acer platanoides* L. // Фактори експериментальної еволюції організмів. – 2019. – Т. 25. – С. 80–85. doi: 10.7124/FEEO.v25.1143.
3. Русак О.О., Петрашук В.І., Панчук І.І., Волков Р.А. Молекулярна організація 5S рДНК двох українських популяцій явора (*Acer pseudoplatanus*) // Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів. – 2016. – Том 14, № 2. – С. 216–220.
4. Тинкевич Ю.О., Волков Р.А. Новий структурний клас 5S рДНК *Rosa wichurana* Среп. // Доповіді Національної академії наук України. – 2014. – № 5. – С. 143–148.
5. Тинкевич Ю.О., Невельська А.О., Чорней І.І., Волков Р.А. Організація міжгенного спейсера 5S рДНК *Lathyrus venetus* // Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів. – 2015. – Т. 13, №1. – С. 81–87.
6. 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. doi:10.1186/s12862-017-1105-x.
7. Cloix C., Tutois S. Analysis of 5S rDNA arrays in *Arabidopsis thaliana*: physical mapping and chromosome-specific polymorphisms // Genom Res. – 2000. – Vol. 10. – P. 679–690. doi:10.1101/gr.10.5.679.
8. deJong P.C., Gelderen D.M., Oterdoom H.J. Taxonomy and reproductive biology of maples. Maples of the world – Portland: Timber Press, 1994. – 69–104 p.
9. Denk T., Grimm G. The oaks of western Eurasia: Traditional classifications and evidence from two nuclear markers // Taxon. – 2010. – Vol. 59. – P. 351–366. doi:10.1002/tax.592002.
10. Douet J., Tourmente S. Transcription of the 5S rRNA heterochromatic genes is epigenetically controlled in *Arabidopsis thaliana* and *Xenopus laevis* // Heredity – 2007. – Vol. 99, No. 1. – P. 5–13. doi:10.1038/sj.hdy.6800964.
11. Fulnecek J., Lim K.Y., Leitch A.R. et al. Evolution and structure of 5S rDNA loci in allotetraploid *Nicotiana tabacum* and its putative parental species // Heredity. – 2002. – Vol. 88. – P. 19–25. doi: 10.1038/sj.hdy.6800001.
12. 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, No. 369. – P. 1–7. doi:10.1186/s13104-017-2653-2.
13. 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. doi: 10.1016/j.bse.2017.01.009.
14. Higgins D.G., Bleasby A.J., Fuchs R. CLUSTAL V: improved software for multiple sequence alignment // Comput. Appl. Biosci. – 1992. – Vol. 8. – P. 189–191. doi: 10.1093/bioinformatics/8.2.189.
15. 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.
16. 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. doi:10.1093/pcp/pcr177.
17. 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. doi:10.1111/boj.12452.
18. Navrotska D., Andreev I., Betekhtin A. et al. Assessment of the molecular cytogenetic, morphometric and biochemical parameters of *Deschampsia antarctica* from its southern range limit in maritime Antarctic // Polish Polar Res. – 2018. – Vol. 39, No. 4. – P. 525–548. doi: 10.24425/118759.
19. 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. doi: 10.1007/BF00020088.
20. 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.
21. Volkov A.R., Panchuk I.I. 5S rDNA of *Dactylis glomerata* (Poaceae): molecular organization and taxonomic application // The Bulletin of Vavilov Society of Geneticists and Breeders. – 2014. – Vol. 12, No. 1. – P. 3–11.
22. 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. doi: 10.1186/s12870-017-0978-6.
23. Wang H.Y., Wei B.Y., Xiao H.X. Development of 15 microsatellite markers in *Acer triflorum* (Aceraceae) and cross – amplification in congeneric species //

Appl. Plant Sci. – 2018. – Vol. 6. – P. 1-4. doi:10.1002/aps3.1166.

24. 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. doi: 10.1016/j.bse.2015.04.010.
25. 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.

References:

1. Panchuk II and Volkov RA. A Practical Course in Molecular Genetics. Chernivtsi, Ruta; 2007.
2. Panchuk II, Kasijanchuk RM, Volkov RA. Subrepeats in 5S rDNA as a molecular marker in populations of *Acer platanoides* L. *Factors in Experimental Evolution of Organisms.* 2019; 25: 80–85. doi: 10.7124/FEEO.v25.1143.
3. Rusak OO, Petrashchuk VI, Panchuk II, Volkov RA. 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; 14(2): 216-220.
4. Tynkevich YuO, Volkov RA. Novel structural class of 5S rDNA of *Rosa wichurana* Crep. *Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine.* 2014; 5: 143-148.
5. Tynkevich YO, Nevelska AO, Chorney II, Volkov RA. Organization and variability of the 5S rDNA intergenic spacer of *Lathyrus venetus*. *The Bulletin of Vavilov Society of Geneticists and Breeders of Ukraine.* 2015; 13(1): 81–87.
6. Bolsheva NL, Melnikova NV, Kirov IV et al. Evolution of blue-flowered species of genus *Linum* based on high-throughput sequencing of ribosomal RNA genes. *BMC Evol. Biol.* 2017; 17(2): 23-36. doi:10.1186/s12862-017-1105-x.
7. Cloix C, Tutois S. Analysis of 5S rDNA arrays in *Arabidopsis thaliana*: physical mapping and chromosome-specific polymorphisms. *Genom Res.* 2000; 10: 679-690. doi:10.1101/gr.10.5.679.
8. deJong PC, Gelderen DM, Oterdoom HJ. Taxonomy and reproductive biology of maples. Maples of the world. Portland: TimberPress; 1994.
9. Denk T, Grimm G. The oaks of western Eurasia: Traditional classifications and evidence from two nuclear markers. *Taxon.* 2010; 59(2): 351-366. doi:10.1002/tax.592002.
10. Douet J, Tourmente S. Transcription of the 5S rRNA heterochromatic genes is epigenetically controlled in *Arabidopsis thaliana* and *Xenopus laevis*. *Heredity.* 2007; 99(1): 5-13. doi:10.1038/sj.hdy.6800964.
11. Fulnecek J, Lim KY, Leitch AR et al. Evolution and structure of 5S rDNA loci in allotetraploid *Nicotiana tabacum* and its putative parental species. *Heredity.* 2002; 88:19-25. doi: 10.1038/sj.hdy.6800001.
12. 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; 10(369): 1-7. doi:10.1186/s13104-017-2653-2.
13. He YL, He Y, Gong LL 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; 71: 42-49. doi: 10.1016/j.bse.2017.01.009.
14. Higgins DG, Bleasby AJ, Fuchs R. CLUSTAL V: improved software for multiple sequence alignment. *Comput. Appl. Biosci.* 1992; 8: 189-191. doi: 10.1093/bioinformatics/8.2.189.
15. Ishchenko O, Panchuk I, Andreev I et al. Molecular Organization of 5S Ribosomal DNA of *Deschampsia antarctica*. *Cytology and Genetics.* 2018; 52(6): 416-421. doi:10.3103/s0095452718060105.
16. 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; 53(2): 267–276. doi:10.1093/pcp/pcr177.
17. 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; 182(1): 80–99. doi:10.1111/boj.12452.
18. Navrotska D, Andreev I, Betekhtin A et al. Assessment of the molecular cytogenetic, morphometric and biochemical parameters of *Deschampsia antarctica* from its southern range limit in maritime Antarctic. *Polish Polar Res.* 2018; 39(4): 525–548. doi: 10.24425/118759.
19. Rogers SO, Bendich AJ Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. *Plant Mol. Biol.* 1985; 5: 69 -76. doi: 10.1007/BF00020088.
20. Saini A, Jawali N. Molecular evolution of 5S rDNA region in *Vigna* subgenus *Ceratotropis* and its phylogenetic implications. *Plant Syst Evol.* 2009; 280: 187–206. doi: 10.1007/s00606-009-0178-4.
21. Volkov AR, Panchuk II. 5S rDNA of *Dactylis glomerata* (Poaceae): molecular organization and taxonomic application. *The Bulletin of Vavilov Society of Geneticists and Breeders.* 2014; 12(1): 3-11.
22. Volkov RA, Panchuk II, Borisjuk NV et al. Evolutional dynamics of 45S and 5S ribosomal DNA in ancient allohexaploid *Atropa belladonna*. *BMC Plant Biol.*; 2017; 17(1): 1-15. doi: 10.1186/s12870-017-0978-6.
23. Wang HY, Wei BY, Xiao HX. Development of 15 microsatellite markers in *Acer triflorum* (Aceraceae) and cross-amplification in congeneric species. *Appl. Plant Sci.* 2018; 6: 1-4. doi:10.1002/aps3.1166.
24. Ye JW, Gou XD, Wang SH 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; 60: 143-149. doi: 10.1016/j.bse.2015.04.010.
25. Zhao J, Xu Y, Xi L et al. Characterization of the chloroplast genome sequence of *Acer miaotaiense*: Comparative and phylogenetic analyses. *Molecules.* 2018; 23: 1740. doi:10.3390/molecules2307174.

ORGANIZATION OF 5S rDNA OF FIELD MAPLE (*ACER CAMPESTRE* L.)

O. O. Ishchenko, I. I. Panchuk, R. A. Volkov

In recent decades, molecular methods have been widely used to study plant speciation and taxonomy. The 5S rDNA, which belongs to the class of repeated sequences present in the genomes of all eukaryotes, represents a convenient model for studying the patterns of molecular evolution in plants. Each of 5S rDNA repeated units consist of a coding region and an intergenic spacer (IGS). The coding sequence is highly conserved in evolution, whereas the IGS can differ between related species and even between populations of the same species.

*The molecular organization of the 5S rDNA in representatives of genus *Acer* is still poorly explored. Accordingly, the aim of the study was to investigate the organization and variability of the 5S rDNA of the European species *Acer campestre*. Analysis of the obtained sequences showed, that the 5S rDNA clones of *A. campestre* are identical. The level of IGS sequence similarity between *A. campestre* and *A. platanoides* amounts to 96.1%, whereas the similarity between these species and *A. pseudoplatanus* is lower, namely – 81,9–82,4%. Therefore, *A. campestre* and *A. platanoides* can be considered as closely related species.*

*Only one class of 5S rDNA repeats is present in the genome of *A. campestre*. The potential external elements of the RNA polymerase III promoter localized in the IGS differ from those described early for representatives of other families of angiosperms.*

*Keywords: 5S rDNA, intergenic spacer, molecular evolution, repeated sequences, *Acer campestre* L., Sapindaceae*

Отримано редколегією 13.05.2019