



DOI 10.21178/2079–6080.2021.2.13
УДК 575.174.015.3:582.475

Экстракция суммарной ДНК из *Pinus sylvestris* L. при оценке полиморфизма – с использованием SSR- и RAPD-маркеров

© М.Ю. Петюренко, И.И. Камалова, А.П. Сердюкова

Extraction of total DNA from *Pinus sylvestris* L. for assessment of polymorphism – using SSR- and RAPD-markers

M.Yu. Peturenko, I.I. Kamalova, A.P. Serdyukova (All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology)

The article demonstrates the efficiency of genomic DNA extraction from the needles of *Pinus sylvestris* L. using the commercial *diaGene* kit as an alternative to the traditional method with CTAB buffer for polymorphism assessment using RAPD and SSR markers. The study included 8 samples of vegetative tissues of *Pinus sylvestris* L. from the southern border of the range in the Central Federal District (Kantemirovsky District, Voronezh Region). DNA obtained during isolation, both using the column method and using the CTAB buffer, was quantified and tested using a PCR reaction. A spectrophotometric study of the purity of the obtained samples showed that the absorption ratio at A260 /A280 for the column method was on average 1.68 versus 2.17, which indicates a higher DNA purity relative to the standard isolation method. It has been shown that the use of the CTAB-buffer protocol gives a higher yield of nucleic acid from the vegetative tissue of *Pinus sylvestris* L. compared to the commercial *diaGene* kit. Molecular genetic analysis of four EST-SSRs of nuclear microsatellite loci and two RAPD-markers in eight samples of *Pinus sylvestris* L. showed the presence of amplification products with EST-SSRs loci. All investigated DNA samples were characterized in accordance with the literature data and were reproducible for two methods of DNA extraction (the sizes of amplification fragments with EST-SSRs loci correspond to the data of the original source). It has been shown that this method of nucleic acid isolation can be used to assess the genetic variability of SSR-loci polymorphism in population and other molecular genetic studies of *Pinus sylvestris* L.

Keywords: *Pinus sylvestris* L., DNA extraction, CTAB, polymerase chain reaction (PCR), microsatellite loci, SSR-markers, RAPD-primer

Экстракция суммарной ДНК из *Pinus sylvestris* L. при оценке полиморфизма – с использованием SSR- и RAPD-маркеров

М.Ю. Петюренко, И.И. Камалова, А.П. Сердюкова

В статье показана эффективность экстракции геномной ДНК из хвои *Pinus sylvestris* L. с использованием коммерческого набора *diaGene* как альтернативы традиционного метода со СТАВ-буфером для оценки полиморфизма с использованием RAPD- и SSR-маркеров. В исследование были включены 8 образцов вегетативных тканей *Pinus sylvestris* L. с южной границы ареала в ЦФО (Кантемировский р-н Воронежской обл.). ДНК, полученная при выделении, как с помощью колоночного метода, так и с помощью СТАВ-буфера, была определена количественно и протестирована с помощью ПЦР-реакции. Спектрофотометрическое исследование чистоты полученных образцов показало, что соотношение поглощения при A260/A280 для колоночного метода было равно в среднем 1,68 против 2,17, что свидетельствует о более высокой чистоте ДНК относительно стандартного метода выделения. Показано, что использование протокола со СТАВ-буфером даёт более высокий выход нуклеиновой кислоты из вегетативной ткани *Pinus sylvestris* L. по сравнению с коммерческим набором *diaGene*. Молекулярно-генетический анализ четырёх EST-SSRs ядерных микросателлитных локусов и двух RAPD-маркеров у восьми образцов *Pinus sylvestris* L. показал наличие продуктов амплификации с EST-SSRs локусами. Все исследованные образцы ДНК характеризовались в соответствии с литературными данными и были воспроизводимы для двух методик выделения ДНК (размеры фрагментов амплификации с EST-SSRs локусами соответствуют данным оригинального источника). Показано, что колоночный способ выделения нуклеиновой кислоты может быть использован при оценке генетической изменчивости SSR-локусов в популяционных и других молекулярно-генетических исследованиях *Pinus sylvestris* L.

Ключевые слова: *Pinus sylvestris* L., экстракция ДНК, СТАВ, полимеразная цепная реакция (ПЦР), микросателлитные локусы, SSR-маркер, RAPD-маркер

Петюренко Марта Юрьевна – канд. с.-х. наук, научный сотрудник лаборатории биохимии, молекулярной генетики и физиологии растений

E-mail: forestgenetic@mail.ru

Камалова Ирина Ивановна – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией биохимии, молекулярной генетики и физиологии растений

E-mail: kamairi@yandex.ru

Сердюкова Алина Петровна – младший научный сотрудник лаборатории экологической генетики

E-mail: ali.serdyukova@yandex.ru

ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии»

394087, Воронеж, ул. Ломоносова, 105

Тел.: 8 (473) 253-71-89

E-mail: ilgis@lesgen.vrn.ru