



DOI 10.21178/2079–6080.2024.4.18
УДК 577.2.08

Эффективность выделения ДНК из органов и тканей дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) и березы повислой (*Betula pendula* Roth) различными методами

© И.В. Ромашкина^{1,2}, Е.В. Селиванова^{2,3}, А.А. Попова⁴,
В.Г. Лебедев², К.А. Шестибратов²

The extraction of DNA efficiency of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) and silver birch (*Betula pendula* Roth.) organs and tissues using different methods

I.V. Romashkina, E.V. Selivanova, A.A. Popova, V.G. Lebedev, K.A. Shestibratov (All-Russian Research Institute for Silviculture and Mechanization of Forestry, The Branch of the M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Pushchino Branch of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Russian Biotechnological University (BIOTECH University)”, Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Voronezh State University of Forestry and Technologies named after G.F. Morozov»)

Depending on the objectives of the study using molecular genetic methods of analysis, the first stage of the work is the selection of an effective protocol for DNA extraction. In the case of woody plants, the task is complicated by the presence of secondary substances in the organs and tissues, which not only complicate the production of pure DNA preparations, but also subsequently inhibit the polymerase chain reaction. The article presents the results of the efficiency of DNA extraction from organs and tissues of common oak and silver birch using different methods. The presence of DNA were checked using horizontal electrophoresis, measurements of the quantity and quality of DNA on a spectrophotometer, and a polymerase chain reaction was performed using three microsatellite primers. The amplification results were assessed using fragment analysis. It was found that if it's possible to use fresh leaves for DNA extraction it

is possible to use the classic CTAB method, but with the addition of 7 % PVP. In the case of herbarium leaf and trunk phloem for DNA extraction, then it is advisable to use the two-stage CTAB method with modifications (adding 0.2 % -mercaptoetanol and 7 % PVP, long-term incubation, introducing additional stages of DNA re-precipitation and purification). So, despite the complexity of the implementation, multi-stage nature, the use of a large number of solutions during the extraction, the two-stage CTAB protocol with modifications is the most effective for obtaining DNA of the appropriate quality for further genetic studies.

Key words: pedunculate oak, silver birch, DNA extraction, CTAB methods

Эффективность выделения ДНК из органов и тканей дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) и березы повислой (*Betula pendula* Roth.) различными методами

И.В. Ромашкина, Е.В. Селиванова, А.А. Попова, В.Г. Лебедев, К.А. Шестибратов

В зависимости от целей исследования с применением молекулярно-генетических методов анализа первым этапом работы является подбор эффективного протокола выделения ДНК. В случае с древесными растениями задача осложняется в связи с содержанием в органах и тканях веществ вторичной природы, таких как дубильные вещества и флавоноиды, которые не только затрудняют получение чистых препаратов ДНК, но и в последствии ингибируют проведение полимеразной цепной реакции. В статье представлены результаты эффективности выделения ДНК из органов и тканей дуба черешчатого и березы повислой разными методами. Присутствие тотальной ДНК проверяли с помощью горизонтального электрофореза, измерений количества и качества ДНК на спектрофотометре, а также проводили полимеразную цепную реакцию по трем микросателлитным праймерам. Результаты амплификации оценивали с помощью фрагментного анализа. Установлено, что при выделении ДНК из свежих листьев можно использовать классический метод СТАВ, но с добавлением 7 % ПВП. В случае использования гербарных листьев и флоэмы ствола для выделения ДНК целесообразно использовать двухэтапный метод СТАВ с модификациями (добавление 0,2 % меркаптоэтанола и 7 % ПВП, длительная инкубация, введение дополнительных стадий переосаждения и очистки ДНК). Таким образом, несмотря на сложность реализации, многоступенчатость, использование большого количества растворов при выделении, двухэтапный протокол СТАВ с модификациями является наиболее эффективным для получения ДНК соответствующего качества из гербарного материала и тканей ствола древесных растений для дальнейших генетических исследований.

Ключевые слова: дуб черешчатый, береза повислая, выделение ДНК, СТАВ-методы

Ромашкина Ирина Владимировна – вед. науч. сотр. ФБУ ВНИИЛМ, науч. сотр. группы лесной биотехнологии ФИБХ РАН, канд. биол. наук
E-mail: densiflora@mail.ru

Селиванова Екатерина Викторовна – инженер-исследователь группы лесной биотехнологии ФИБХ РАН, магистрант Пущинского филиала Российского биотехнологического университета
E-mail: ellesmera.alagesia@gmail.com

Попова Анна Александровна – и. о. зав. каф. Лесной генетики, биотехнологии и физиологии растений ВГЛТУ, д-р с-х. наук
E-mail: logachevaaa@rambler.ru

Лебедев Вадим Георгиевич – старший науч. сотр. группы лесной биотехнологии ФИБХ РАН, канд. биол. наук
E-mail: vglebedev@mail.ru

Шестибратов Константин Александрович – руководитель группы лесной биотехнологии
ФИБХ РАН, старший науч. сотр., канд. биол. наук
E-mail: schestibratov.k@yandex.ru

¹Филиал ГНЦ ФГБУН Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук
142290, Московская обл., г. Пушкино, проспект Науки, д. 6
Телефон: +7 (496) 773-17-19

²ФБУ Всероссийский научно-исследовательский институт лесоводства и механизации
лесного хозяйства
141202, Московская обл., г. Пушкино, ул. Институтская, д. 15
Телефон: +7 (495) 993-30-54

³Пушинский филиал ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет»
142290, Московская обл., г. Пушкино, проспект Науки, д. 3
Телефон: +7 (496) 773-18-57

⁴Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования «Воронежский государственный лесотехнический университет имени
Г.Ф. Морозова»
394087, Воронежская область, г. Воронеж, ул. Тимирязева, д. 8
Телефон: +7 (473) 253-84-11