

Оригинальная статья

DOI: <https://doi.org/10.34220/issn.2222-7962/2025.3/6>

УДК 630*577.2+581+575.1



Эффективность выделения ДНК из листьев дуба черешчатого (*Q. robur* L.) и хвои сосны обыкновенной (*P. sylvestris* L.)

Екатерина И. Трапезникова¹✉, katena.trapeznikova.02@mail.ru,  <https://orcid.org/0009-0003-7429-9551>
Сергей М. Матвеев¹, lisovod@bk.ru <https://orcid.org/0000-0001-8532-1484>

¹ФГБОУ ВО «Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г. Ф. Морозова», ул. Тимирязева, 8, г. Воронеж, 394087, Российская Федерация

Выделение высококачественной ДНК из тканей древесных растений, таких как дуб черешчатый (*Quercus robur* L.) и сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.), затруднено из-за высокого содержания вторичных метаболитов (полифенолов, полисахаридов), которые коэкстрагируются с нуклеиновыми кислотами и ингибируют последующие молекулярно-генетические анализы.

Целью данной работы являлась сравнительная оценка эффективности различных методов выделения ДНК (модифицированного СТАВ-протокола, СТАВ-протокола с доочисткой и двух коммерческих наборов: SKYSuper Plant Genomic DNA Kit и D-Plants) для получения препаратов, пригодных для дальнейших исследований.

Качество препаратов ДНК оценивали спектрофотометрически по соотношениям оптических плотностей A260/A280 (для оценки чистоты от белков) и A260/A230 (для оценки чистоты от полисахаридов и полифенолов), электрофоретически (для визуализации целостности ДНК и наличия примесей) и количественно. Функциональную пригодность проверяли с помощью ПЦР-амплификации.

Для хвои сосны обыкновенной набор D-Plants продемонстрировал стабильно высокое качество препаратов (A260/A280 = 1.87 ± 0.33; A260/A230 = 1.95 ± 0.09) и 100% эффективность ПЦР. Набор SKYSuper показал наибольший выход ДНК, но признаки деградации (A260/A280 > 2.0) и низкую эффективность ПЦР (<50%). Классический СТАВ-метод оказался самым экономичным, но требовал обязательной дополнительной очистки от полисахаридов. Для листьев дуба черешчатого только набор D-Plants позволил получить ПЦР-пригодную ДНК (80% эффективность), однако выход был крайне низким (0.15 мкг), что обусловило высокую стоимость получения 1 мкг ДНК. Остальные методы, включая СТАВ с доочисткой, не позволили получить функциональный препарат (0% эффективность ПЦР).

Набор D-Plants является оптимальным решением для задач, требующих высокого качества ДНК (ПЦР, секвенирование) для сосны. Для массового скрининга сосны предпочтительнее классический СТАВ-метод с последующей очисткой. Для дуба черешчатого ни один из методов не показал удовлетворительного результата, что указывает на необходимость применения специализированных протоколов, включающих этапы предварительной обработки РVP.

Ключевые слова: выделение ДНК, методы экстракции, дуб черешчатый, сосна обыкновенная, СТАВ-метод, доочистка колонками *Biolabmix*, *SKYSuper Plant Genomic DNA Kit*, *D-Plants*, полисахариды, полифенолы, оптическая плотность

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-16-20047, <https://rscf.ru/project/24-16-20047/>

Благодарности: авторы благодарят рецензентов за вклад в экспертную оценку статьи.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Трапезникова, Е. И. Эффективность выделения ДНК из листьев дуба черешчатого (*Q. robur* L.) и хвои сосны обыкновенной (*P. sylvestris* L.). / Е. И. Трапезникова, С. М. Матвеев // Лесотехнический журнал. – 2025. – Т. 15. – № 3 (59). – С. 82–100. – Библиогр.: с. 96–99 (22 назв.). – DOI: <https://doi.org/10.34220/issn.2222-7962/2025.3/6>

Поступила 01.06.2025. Пересмотрена 02.09.2025. Принята 15.09.2025. Опубликовано онлайн 25.09.2025.

Article

Efficiency of DNA extraction from the leaves of the common oak (*Q. robur* L.) and the needles of the Scots pine (*P. sylvestris* L.)

Ekaterina I. Trapeznikova ¹✉, katena.trapeznikova.02@mail.ru,  <https://orcid.org/0009-0003-7429-9551>
Sergey M. Matveev ¹, lisovod@bk.ru <https://orcid.org/0000-0001-8532-1484>

¹Voronezh State University of Forestry and Technologies named after G.F. Morozov, Timiryazeva str., 8, Voronezh, 394087, Russian Federation

Abstract

The extraction of high-quality DNA from tissues of woody plants, such as English oak (*Quercus robur* L.) and Scots pine (*Pinus sylvestris* L.), is challenging due to the high content of secondary metabolites (polyphenols, polysaccharides). These compounds co-extract with nucleic acids and inhibit downstream molecular genetic analyses. The aim of this work was a comparative evaluation of the efficiency of different DNA extraction methods (a modified CTAB protocol, a CTAB protocol with additional cleanup, and two commercial kits: the SKYSuper Plant Genomic DNA Kit and D-Plants) for obtaining DNA samples suitable for further research. The quality of the DNA preparations was assessed spectrophotometrically by the absorbance ratios A260/A280 (to assess protein contamination) and A260/A230 (to assess contamination by polysaccharides and polyphenols), electrophoretically (to visualize DNA integrity and the presence of impurities), and quantitatively. Functional suitability was tested via PCR amplification. For Scots pine needles, the D-Plants kit demonstrated consistently high quality of the preparations (A260/A280 = 1.87 ± 0.33; A260/A230 = 1.95 ± 0.09) and 100% PCR efficiency. The SKYSuper kit showed the highest DNA yield but also signs of degradation (A260/A280 > 2.0) and low PCR efficiency (<50%). The classic CTAB method was the most economical but required mandatory additional cleanup for polysaccharides. For English oak leaves, only the D-Plants kit yielded PCR-suitable DNA (80% efficiency), although the yield was very low (0.15 µg), resulting in a high cost per 1 µg of DNA. The other methods, including CTAB with cleanup, failed to produce a functional preparation (0% PCR efficiency). The D-Plants kit is the optimal solution for tasks requiring high-quality DNA (PCR, sequencing) for pine. For large-scale screening of pine, the classic CTAB method with subsequent cleanup is preferable. For English oak, none of the tested methods yielded a satisfactory result, indicating the need to develop specialized protocols including PVP pre-treatment steps.

Keywords: DNA extraction, extraction methods, *Quercus robur* (English oak), *Pinus sylvestris* (Scots pine), CTAB method, additional purification using Biolabmix columns, SKYSuper Plant Genomic DNA Kit, D-Plants, polysaccharides, polyphenols, optical density

Funding: The study was carried out with the support of a grant from the Russian Science Foundation No. 24-16-20047, <https://rscf.ru/project/24-16-20047/>.

Acknowledgments: Authors thanks the reviewers for their contribution to the peer review.

Conflict of interest: the authors declares no conflict of interest.

For citation: Trapeznikova E. I., Matveev S. M. (2025). Efficiency of DNA extraction from leaves of common oak (*Q. robur* L.) and needles of Scots pine (*P. sylvestris* L.). Forestry Engineering journal, Vol. 15, No. 3 (59), pp. 82-100 (in Russian). DOI: : <https://doi.org/10.34220/issn.2222-7962/2025.3/6>

Received 01.06.2025. Revised 02.09. 2025. Accepted 15.09.2025. Published online 25.09.2025.

Введение

В современных исследованиях лесных сообществ особое значение приобрели высокочувствительные молекулярно-генетические методы, такие как секвенирование нового поколения (NGS), ПЦР и AFLP-анализ. Эффективность этих методов критически зависит от качества ДНК, которая должна обладать высокой чистотой и целостностью, исключая любые проявления деградиационных процессов [1].

Однако выделение высококачественной ДНК из растительного материала сопряжено со значительными трудностями, обусловленными особенностями биохимического состава клеток. Вторичные метаболиты, полисахариды и полифенолы, высвобождающиеся в процессе гомогенизации тканей, выступают сильными ингибиторами молекулярно-биологических реакций. Они ко-преципитируют с нуклеиновыми кислотами, вызывают их фрагментацию и подавляют активность ферментов, что приводит к получению препаратов, непригодных для дальнейшего анализа [2, 3].

Стандартные протоколы выделения ДНК требуют трудоёмкой адаптации под конкретные виды растений, их ткани и фенологическое состояние, что особенно проблематично при массовых исследованиях [3]. Наиболее эффективным для трудных объектов остаётся модифицированный СТАВ-метод [4], включающий PVP-40 для связывания полифенолов [5] и β-меркаптоэтанол для ингибирования окисления и денатурации белков [6].

Однако классический СТАВ-метод отличается многоэтапностью, длительной инкубацией и использованием токсичных reagents, что снижает выход ДНК. Коммерческие наборы часто экономически нецелесообразны для крупных исследований [7]. Особые сложности возникают при работе с растениями, богатыми вторичными метаболитами (например, дубом), где полисахариды, полифенолы и пигменты коэкстрагируются с ДНК, образуя прочные комплексы и снижая качество препарата [5,8].

Для нейтрализации загрязнений традиционно применяют поливинилпирролидон (PVP) и β-меркаптоэтанол. PVP (оптимально 2%) связывает полифенолы через водородные связи с карбонильной группой, предотвращая их окисление и связывание

с ДНК. Повышение концентрации PVP нежелательно из-за увеличения вязкости буфера, затрудняющей пипетирование и разделение фаз, а также по экономическим соображениям [9,10].

β-Меркаптоэтанол действует как восстановитель, разрывая дисульфидные связи белков, инактивируя ДНКазы и полифенолоксидазы и предотвращая окисление полифенолов в хиноны. Однако его применение сопряжено с высокой токсичностью, риском ингибирования ПЦР и коррозии оборудования, что требует строгих мер безопасности [11].

Биохимический состав листьев дуба (*Quercus*) характеризуется высоким уровнем присутствия вторичных метаболитов фенольной природы, преимущественно флавоноидов и конденсированных танинов. Концентрация последних варьирует между различными видами дубов, достигая максимального значения в молодых листовых пластинках и постепенно уменьшаясь по мере старения листа [12]. Хвоя сосен (р. *Pinus*) также отличается повышенным содержанием полисахаридов и фенольных соединений, отрицательно сказывающихся на качестве выделяемой ДНК. Полисахариды склонны к совместному выпадению в осадок вместе с молекулами ДНК, ухудшая её последующую идентификацию и количественную оценку, а также затрудняя проведение процедур амплификации. Фенольные соединения вступают в прочные комплексы с ДНК после разрушения клеточных мембран, препятствуя полноценному извлечению высококачественного генетического материала [13].

Выбор оптимального метода экстракции требует комплексной оценки: качества получаемой ДНК, длительности протокола, стоимости реагентов, возможности автоматизации и пригодности для последующих молекулярно-генетических исследований [14].

Цель работы заключалась в сравнительном анализе эффективности методов сорбционной очистки (на примере коммерческих наборов) и органической экстракции (модифицированный метод СТАВ) для выделения геномной ДНК из листьев дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) и хвои сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.).

Материалы и методы

Биоэтика и безопасность

Меры безопасности при работе с хлороформом: Все манипуляции с хлороформом и смесью хлороформ-изоамиловый спирт (24:1) проводились в ламинарном шкафу с включенной вентиляцией. Использовались средства индивидуальной защиты: перчатки, лабораторный халат и защитные очки. Отработанные органические фазы собирались в специально маркированные емкости для последующей утилизации в соответствии с правилами техники безопасности.

Работа с бромистым этидием: Все манипуляции с гелями, содержащими бромистый этидий (БЭ), проводились в перчатках. Отработанные гели и растворы собирались в специально маркированный герметичный контейнер для последующей обезвреживания и утилизации в соответствии с установленными правилами.

Сбор и хранение биоматериала: В качестве биоматериала использовались листья дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) и хвоя сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.). Отбор проб проводили с десяти внешне здоровых взрослых деревьев каждого вида (биологические повторности, $n=10$). С каждого дерева было отобрано по две пробы (технические повторности). Листья и хвою собирали в стерильные пробирки, мгновенно замораживали в жидком азоте и хранили при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ до проведения экстракции ДНК.

Метод выделения ДНК с использованием СТАВ-буфера (Hexadecyltrimethyl ammonium bromide) был первоначально разработан в 1987 году Doyle J.J. и DOYLE J.L. [4]. Изначально методика использовалась преимущественно для выделения ДНК из растений, обладающих большим количеством вторичных метаболитов, таких как полисахариды и полифенолы. Сегодня традиционные процедуры с использованием СТАВ дополняются новыми модификациями, включая использование специализированных коммерческих наборов для доочистки, что делает процедуру более удобной и быстрой. Нарастающую популярность приобретают комбинированные (с использованием традиционных методов и коммерческих наборов методы), поэтому кроме

модификации СТАВ метода была использована доочистка препарата ДНК на колонках.

Была поставлена задача усовершенствовать протокол выделения ДНК, направленного на снижение концентрации РVP и исключение токсичного β -меркаптоэтанола без потери эффективности. Это сделает метод более безопасным, экологичным и экономичным, что актуально для крупномасштабных скрининговых исследований.

Для экстракции использовали ряд коммерческих методик и модификацию стандартного СТАВ-метода [4]. Всего протестировано 4 варианта экстракции ДНК: модифицированный СТАВ-метод, СТАВ-метод с доочисткой на колонках Biolabmix, наборы «SKY Super Plant Genomic DNA Kit» (SkyGen, Россия) (коммерческий набор 1) и «D-Plants» (Biolabmix, Россия) (коммерческий набор 2). Для каждого из десяти биологических образцов (дерева) каждого вида экстракция каждым методом проводилась в 3 технических повторностях.

После выделения препараты ДНК хранили при температуре $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ и использовали для дальнейших манипуляций.

Состав используемого СТАВ-буфера: (2% (масса / объем) ЦТАБ; 0.1 М Tris-HCl (pH 8.0); 1.4 М NaCl; 20 mM EDTA (pH 8.0); 2 % (масса / объем) РVP).

Ниже приводятся протоколы экстракции ДНК разными методами.

СТАВ-метод:

1. Навеску образца ткани 30 мг растирали с подогретым до $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ СТАВ-буфером в объеме 750 мкл с использованием ступки и пестика. Гомогенат переносили в 1,5 мл пробирку.
2. Инкубировали 40 минут при 65 градусах в твердотельном термостате, периодически помешивая
3. Отбрали надосадок, перенесли в новую пробирку, добавили равный объем смеси хлороформа и изоамилового спирта (24:1), центрифугировали 5 минут 13000 об/мин при охлаждении до $4\text{ }^{\circ}\text{C}$.
4. Добавляли равный объем хлороформа.

5. Повторили центрифугирование при тех же параметрах, отобрали надосажок, перенесли в новую пробирку
6. Добавили 500 мкл холодного изопропанола, тщательно перемешали, не допуская энергичного встряхивания.
7. Инкубировали пробы при -20°C ночь.
8. Центрифугировали 10 мин 13000 об/мин при 4°C
9. Надосажок удаляли и осадок дважды промывали 70% этиловым спиртом (500 мкл)
10. Осадок просушивали и растворяли в 50 мкл деионизированной воды. Выделенную ДНК хранили при -80°C и использовали для дальнейших манипуляций.

Выделение с использованием коммерческого набора 1

Гомогенизировали 30 мг пробы с 600 мкл Буфера ГПС, добавляли 10 мкл РНКазы А (10 мг/мл), помещали в 1,5 мл микроцентрифужную пробирку и инкубировали 15 минут в термостате при 65°C . Добавляли к образцу 150 мкл буфера ГПА, перемешивали на вортексе в течение 1 минуты и центрифугировали в течение 5 минут. Перенесли супернатант в Фильтрационную колонку ЦС (в 2,0 мл собирательной пробирке), центрифугировали 1 минуту, перенесли фильтрат в новую 1,5 мл микроцентрифужную пробирку. Добавили равный объем этанола (96 - 100%) к образцу. Переместили раствор вместе с осадком на колонку СР2 (в 2,0 мл собирательной пробирке). Центрифугировали в течение 1 минуты, слили супернатант. Добавили 550 мкл Буфера РД. Центрифугировали 1 минуту. Слили супернатант. Добавили 700 мкл Буфера ПВ, центрифугировали 1 минуту. Слили супернатант. Повторили промывку буфером ПВ. Центрифугировали пустую спин-колонку 2 минуты. Слили супернатант и инкубировали при комнатной температуре в течение 10 минут для полного высыхания мембраны. Поместили спин-колонку СР2 в новую 1,5 мл собирательную пробирку. Нанесли в центр мембраны колонки 50 - 100 мкл Буфера ТБ, инкубировали колонку 3-5 минут при комнатной температуре. Центрифугировали 2 минуты для сбора очищенной ДНК.

Выделение с использованием коммерческого набора 2:

Гомогенизировали 30 мг пробы с 750 мкл буфера для лизиса LB. Инкубировали 10 минут, 65°C . Центрифугировали лизат 5 мин, 12000 gcf. Отобрали супернатант и перенесли в чистую пробирку. Добавили 5 мкл РНКазы А. Инкубировали 10 мин, 37°C . Добавили равный объем буфера для нанесения на колонку ВВ. Инкубировали 1 минуту при комнатной температуре. Нанесли 800 мкл лизата на колонку. Центрифугировали 30 с, 12000 gcf. Удалили фильтрат. Нанесли на колонку 500 мкл буфера для промывки WB. Центрифугировали 30 с, 12000 gcf. Удалили фильтрат. Повторно нанесли на колонку 500 мкл буфера для промывки WB. Центрифугировали 30 с, 12000 gcf. Удалили фильтрат. Центрифугировали колонку 3 мин, 12000 gcf для полного удаления буфера WB. Перенесли колонку в новую микропробирку на 1.5-2 мл. Нанесли на центр фильтра колонки 100 мкл буфера для элюции EB. Инкубировали 3 мин при комнатной температуре. Центрифугировали 1 мин, 10000 gcf.

Доочистка ДНК на колонках:

Выделенную с использованием СТАВ-буфера ДНК очищали с использованием набора спин-колонок из коммерческого набора 2.

Добавили равный объем буфера для нанесения на колонку ВВ. Инкубировали 1 минуту при комнатной температуре. Нанесли 800 мкл лизата на колонку. Центрифугировали 30 с, 12000 gcf. Удалили фильтрат. Нанесли на колонку 500 мкл буфера для промывки WB. Центрифугировали 30 с, 12000 gcf. Удалили фильтрат. Повторно нанесли на колонку 500 мкл буфера для промывки WB. Центрифугировали 30 с, 12000 gcf. Удалили фильтрат. Центрифугировали колонку 3 мин, 12000 gcf для полного удаления буфера WB. Перенесли колонку в новую микропробирку на 1.5-2 мл. Нанесли на центр фильтра колонки 100 мкл буфера для элюции EB. Инкубировали 3 мин при комнатной температуре. Центрифугировали 1 мин, 10000 gcf.

Визуализацию препаратов ДНК проводили с помощью электрофореза в 2% агарозном геле ($1 \times \text{TBE}$, 0.2 мкг/мл бромистого этидия). Образцы (5 мкл) смешивали с 1 мкл нагрузочного буфера и разделяли при 100 В в течение 30 минут. Результаты визуализировали на УФ-трансиллюминаторе (312 нм).

Концентрацию ДНК измеряли на флуориметре Qubit 2.0 с набором dsDNA HS Assay Kit. Чистоту препаратов определяли спектрофотометрически на приборе Nanophotometer P330, оценивая соотношения A260/280 и A260/230. Приемлемыми считались образцы с соотношением A260/280 в диапазоне 1.8–2.0 и A260/230 \geq 2.0, что указывает на отсутствие значительных примесей белков и солей соответственно.

Количественную ПЦР участка гена GAPDH проводили на амплификаторе LightCycler 480 II (Roche Diagnostics, Швейцария). Реакционная смесь объёмом 25 мкл содержала: 5 мкл 5X qPCRmix-HS SYBR (Евроген, Россия), 1 мкл прямого и 1 мкл обратного праймеров (конечная концентрация 0.4 мкМ каждый), 2 мкл ДНК-матрицы и 16 мкл воды.

Реакцию проводили по следующему протоколу:

- 1) Инкубация при 95°C в течение 5 минут;
- 2) 38 циклов, каждый из которых включал:

1. Денатурацию при 95°C на протяжении 20 секунд;

2. Отжиг праймеров при 60°C на протяжении 30 секунд;

3. Элонгацию при 72°C в течение 30 секунд;

Использованы специфичные праймеры для консервативного участка гена GAPDH

Для сосны:

1. PsGAPDH-F, GGACAGTGGGAAGCATCAT
2. psGAPDH-R, AACCGAATACAGCAACAGA

Для дуба:

3. QrGAPDH-F, GGACCAATGGAGTTTGAG
4. QrGAPDH-R, CGTACTTGTCGTACCATG

Статистическая обработка данных:

Для каждого набора данных проводились:

1. Расчёт среднего арифметического (M)
2. Расчёт стандартного отклонения (SD) для

оценки вариабельности между биологическими повторностями

3. Расчёт стандартной ошибки среднего (SEM) для оценки точности предсказания генерального среднего

4. Проверка нормальности распределения: осуществлялась с помощью теста Шапиро-Уилка при уровне значимости $\alpha = 0,05$.

5. Проверка гомогенности дисперсий: выполнялась с использованием теста Левена.

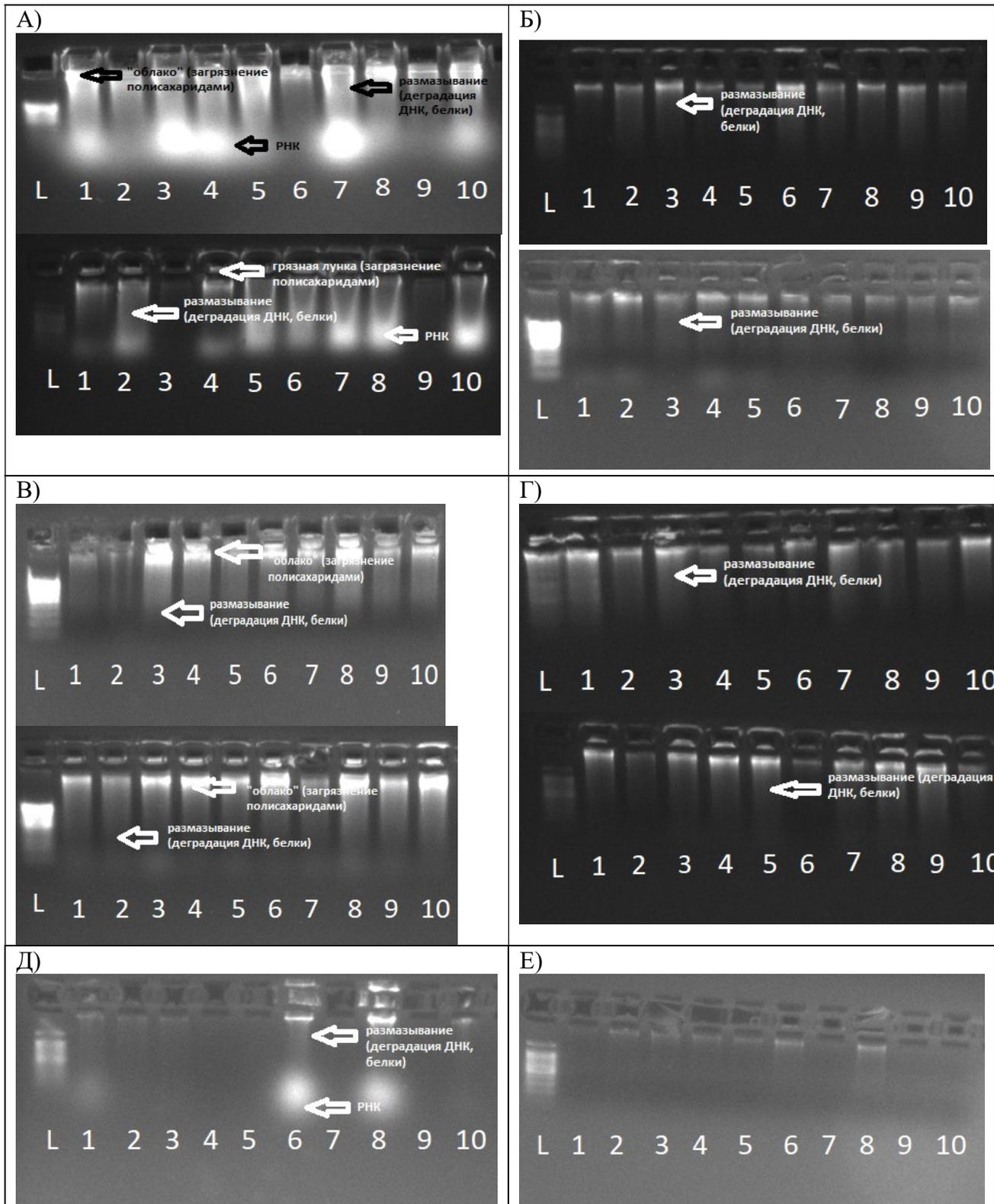
6. Сравнение нескольких групп: при нормальном распределении и гомогенности дисперсий применялся однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с последующим пост-хок тестом Тьюки для множественных сравнений.

Различия между группами считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Статистический анализ проводился с использованием программы Stadia 6.0.

Результаты

Анализ электрофореграмм (Рисунок 1) показал, что для сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) наиболее чистые препараты получены при использовании коммерческого набора D-Plants, а также при дополнительном этапе очистки ДНК на колонках. Без дополнительной очистки наблюдалось выраженное загрязнение полисахаридами, признаки деградации ДНК, наличие белков ("размазывание" дорожек геля) и контаминация РНК. При выделении ДНК из сосны коммерческим набором 1 было выявлено загрязнение полисахаридами, признаки деградации ДНК и наличие белков ("размазывание" дорожек геля).

Для дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) наивысшее качество продемонстрировали методы с доочисткой на колонках и с использованием коммерческого набора 2. Электрофореграмма образцов, выделенных без доочистки и с помощью коммерческого набора 1, выявляла большее количество загрязнений: признаки деградации ДНК, наличие белков ("размазывание" дорожек геля) и контаминация РНК. Без дополнительной очистки так же наблюдалось выраженное загрязнение полисахаридами.



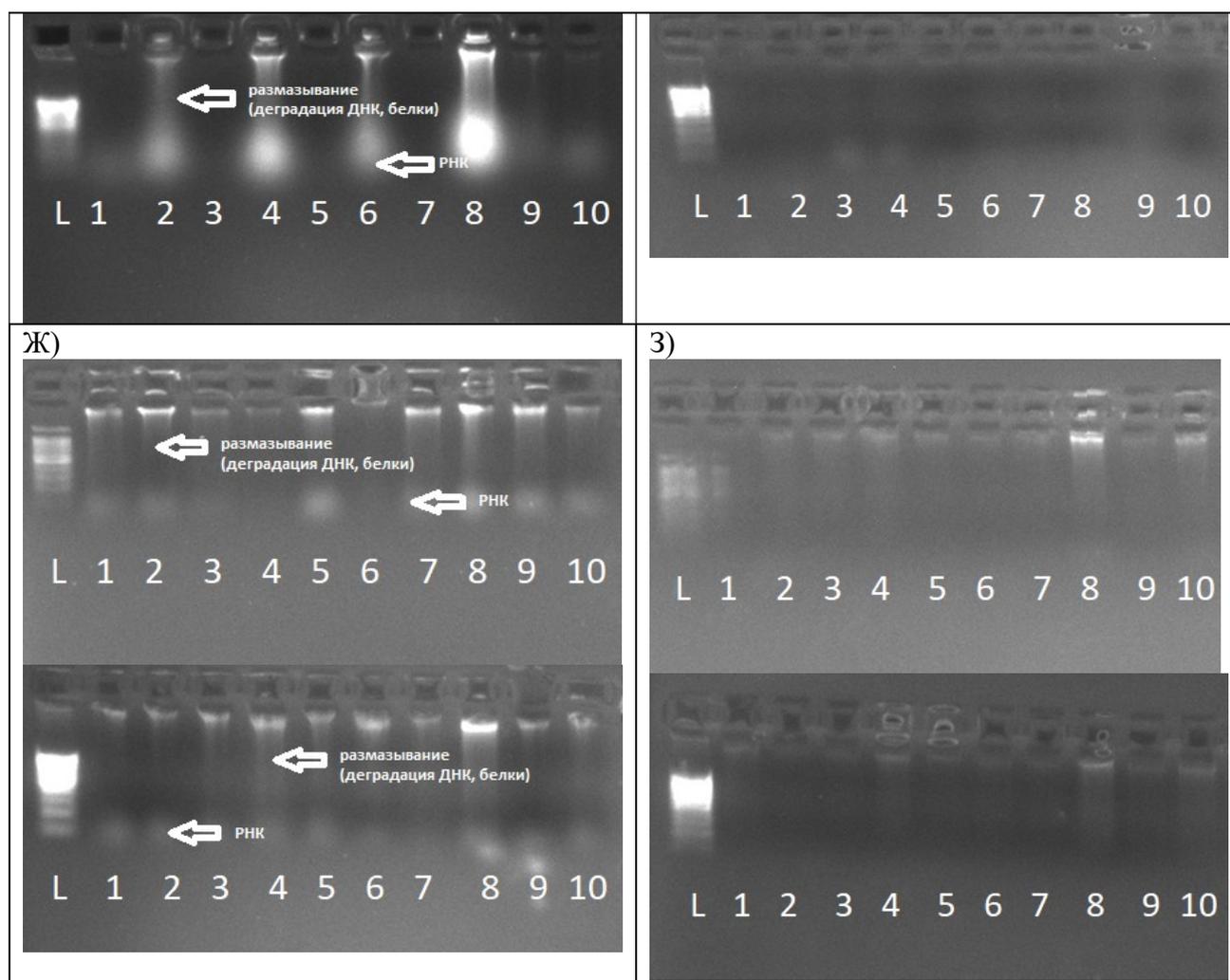


Рис.1 Электрофореграммы образцов ДНК: сосна А-Г, дуб Д-3, выделенных а) модификация СТАВ-буфера; б) доочистка на колонках; в) Коммерческий набор 1; г) Коммерческий набор 2; д) модификация СТАВ-буфера; е) доочистка на колонках; ж) Коммерческий набор 1; з) Коммерческий набор 2. L – маркер молекулярного веса.

Таблица 1

Концентрация ДНК нг/мкл в образцах, полученных из листьев дуба и хвои сосны

Об- ра- зец, по- рода	СТАВ-метод			СТАВ-метод с до- очисткой колон- ками			Коммерческий набор 1			Коммерческий набор 2		
	Сред нее	SD	SEM	Сред нее	SD	SEM	Сред нее	SD	SEM	Сред нее	SD	SEM
Су- хая хвоя сосн ы	72,19	±1,6 9	±0,5 3	43	±1,5 6	±0,4 9	98,80	±2,1 3	±0,6 7	81,88	±2,2 9	±0,7 2

Свежие листья дуба	7,66	±1,19	±0,37	2,41	±0,58	±0,18	6,29	±0,84	±0,26	2,92	±0,61	±0,19
--------------------	------	-------	-------	------	-------	-------	------	-------	-------	------	-------	-------

Концентрация препаратов ДНК представлена в Таблице 1.

Для сосны наивысшую концентрацию ДНК обеспечил коммерческий набор 1, продемонстрировав статистически значимое преимущество перед методом с доочисткой ($p = 0,003$). Также высокие показатели концентрации были достигнуты при использовании СТАВ-метода и коммерческого набора 2. При этом метод с доочисткой показал достоверно более низкую концентрацию по сравнению со всеми другими протоколами ($p < 0,001$). Статистически значимых различий между эффективностью базового СТАВ-метода и коммерческого набора 2 не выявлено ($p = 0,087$).

Для дуба наименее эффективными оказались метод с доочисткой и коммерческий набор 2, которые показали достоверно более низкую концентрацию ДНК по сравнению с базовым СТАВ-методом ($p < 0,001$). При этом не было выявлено значимых различий между эффективностью СТАВ-метода и коммерческого набора 1 ($p = 0,312$). Оба этих метода продемонстрировали статистически значимое преимущество по сравнению с методом с доочисткой ($p = 0,047$).

Оценку оптической плотности ДНК проводили спектрофотометрически по соотношениям A260/A280 и A260/A230 (таблица 2). Оптимальными считались значения 1,8-2,0 для A260/A280 и 1,9-2,2 для A260/A230 [15].

Анализ соотношения A260/A280: Для сосны базовый СТАВ-метод показал низкое значение (1,15), указывающее на белковую контаминацию. Все методы с очисткой обеспечили приемлемые значения: СТАВ+доочистка (1,85), коммерческий набор 2 (1,87) и коммерческий набор 1 (2,01). Для дуба наблюдалась аналогичная картина: базовый СТАВ (1,25) показал низкое качество, тогда как СТАВ+доочистка (1,79) и коммерческий набор 2 (1,84) соответствовали норме. Коммерческий набор 1 показал завышенное значение (2,25), свидетельствующее о возможной деградации ДНК.

Анализ соотношения A260/A230: Для сосны СТАВ-метод (0,99) показал сильное загрязнение солями и органическими соединениями. СТАВ+доочистка (1,89), коммерческий набор 2 (1,95) и коммерческий набор 1 (2,14) показали нормальную чистоту. Для дуба базовый СТАВ (0,94) также демонстрировал низкое качество, в то время как СТАВ+доочистка (1,95) и коммерческий набор 2 (1,98) показали значения, близкие к оптимальным. Коммерческий набор 1 показал повышенное значение (2,36), что может указывать на остаточную контаминацию.

Статистический анализ подтвердил значительное превосходство методов с очисткой над базовым СТАВ-методом по обоим показателям ($p < 0,001$). Коммерческий набор 2 продемонстрировал наименьший разброс значений ($SD = 0,05$), свидетельствующий о стабильности метода.

Естественные науки и лес

Таблица 2

Соотношения 260/280 и 260/230 для ДНК, выделенной из различных образцов дуба и сосны

Об- ра- зец	СТАВ-метод			СТАВ-метод с до- очисткой колон- ками Biolabmix			Коммерческий набор 1			Коммерческий набор 2		
	Сред нее	SD	SE M	Сред нее	SD	SE M	Сред нее	SD	SEM	Сред нее	SD	SE M
A260/280 (1,8-2,2)												
Су- хая хвоя сосн ы	1,15	±0,3 4	±0,1 1	1,85	±0,4 9	±0,1 5	2,01	±0,82	±0,26	1,87	±0,3 3	±0,1
Све- жие ли- стья дуба	1,25	±0,4 7	±0,1 5	1,79	±0,3 9	±0,1 2	2,25	±0,37	±0,12	1,84	±0,1	±0,0 3
A260/230 (1,9-2,2)												
Су- хая хвоя сосн ы	0,99	±0,4 2	±0,1 3	1,89	±0,2 9	±0,0 9	2,14	±0,07	±0,02	1,95	±0,0 9	±0,0 3
Све- жие ли- стья дуба	0,94	±0,3 3	±0,1	1,95	±0,3 5	±0,1 1	2,36	±0,00 1	±0,000 3	1,98	±0,0 5	±0,0 2

Базовый СТАВ-метод не обеспечивает полной очистки от примесей РНК и полисахаридов в образцах дуба черешчатого, что отражается в низких значениях оптической плотности ($A_{260/280} = 1,25$; $A_{260/230} = 0,94$). Хотя использование колоночной очистки позволяет получить ДНК высокой чистоты ($A_{260/280} = 1,79$; $A_{260/230} = 1,95$), это приводит к значительному снижению выхода препарата.

Для сосны обыкновенной наивысшие количественные показатели были достигнуты при использовании коммерческих наборов 1 и 2. При этом коммерческий набор 1 показал признаки возможной деградации ДНК ($A_{260/280} = 2,01$; $A_{260/230} = 2,14$), тогда как коммерческий набор 2 продемонстрировал оптимальные значения ($A_{260/280} = 1,87$; $A_{260/230} = 1,95$). Для дуба наилучшие количественные и каче-

ственные характеристики продемонстрировал коммерческий набор 2 ($A_{260}/_{280} = 1,84$; $A_{260}/_{230} = 1,98$).

Статистический анализ подтвердил значительное превосходство всех методов с очисткой над базовым СТАВ-методом по показателям $A_{260}/_{280}$ и $A_{260}/_{230}$ ($p < 0,001$). Коммерческий набор 2 продемонстрировал наименьший разброс значений ($SD = 0,05$), что свидетельствует о стабильности этого метода.

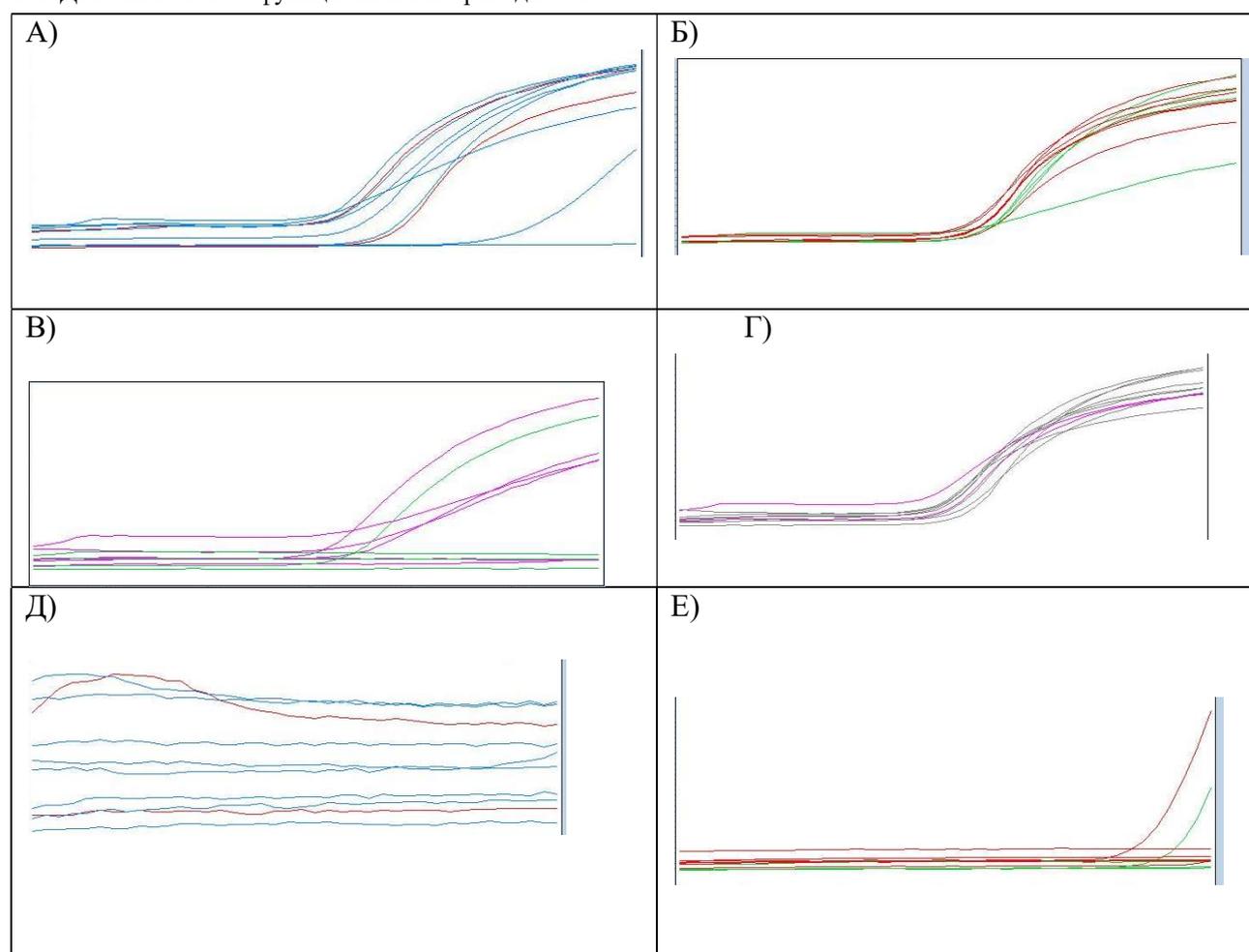
Таким образом, выбор оптимального метода выделения ДНК требует учёта баланса между качеством и количеством получаемого препарата. Для большинства применений коммерческий набор 2 демонстрирует наилучшее сочетание выхода и чистоты ДНК, в то время как базовый СТАВ-метод требует обязательной дополнительной очистки для получения пригодных для дальнейших исследований образцов.

Критическим критерием качества выделенной ДНК является её функциональная пригодность

для последующих молекулярно-генетических исследований. Проведенная ПЦР-амплификация консервативного участка гена GAPDH выявила существенные различия в эффективности различных методов выделения (рис. 2).

Для образцов ДНК сосны успешная амплификация в 100% образцов наблюдалась при использовании СТАВ-метода с доочисткой и коммерческого набора 2. Для образцов, полученных коммерческим набором 1, эффективность амплификации составила менее 50%. Образцы, выделенные базовым СТАВ-методом, показали эффективность амплификации на уровне 80%.

Для образцов ДНК дуба амплификация оказалась unsuccessful для образцов, полученных базовым СТАВ-методом, методом с доочисткой и коммерческим набором 1. Эффективная амплификация наблюдалась только для образцов, выделенных коммерческим набором 2, с эффективностью 80%.



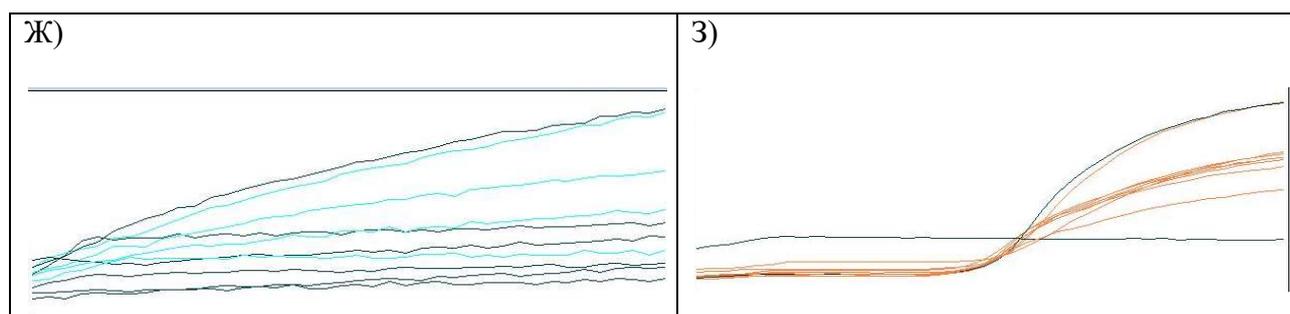


Рис. 2. Кривые амплификации продукта GAPDH с использованием ДНК сосна А-Г, дуб Д-З, выделенных а) модификация СТАВ-буфера; б) доочистка на колонках; в) SKYSuper Plant Genomic DNA Kit; г) D-Plants; д) модификация СТАВ-буфера; е) доочистка на колонках; ж) SKYSuper Plant Genomic DNA Kit; з) «D-Plants».

удовлетворительной эффективностью амплификации (<80%) исключены из анализа как не имеющие практической ценности для молекулярно-генетических исследований.

Так же была проведена оценка длительности протокола выделения и анализ экономических затрат на материалы и реагенты. (табл.3). Методы с не-

Таблица 3.

Оценка времени и средств, затраченных на выделение 20 образцов.

Метод	СТАВ-метод	СТАВ-метод с доочисткой колонками Biolab-mix	Коммерческий набор 2
Длительность протокола выделения	3 часа+инкубация в течении ночи (12 часов)	3, часа+инкубация в течении ночи (12 часов)	2 часа
Экономические затраты на выделение 20 образцов	420	4350	3950

Наиболее быстрыми методами выделения ДНК являются коммерческие наборы, позволяющие выделить ДНК за 2 часа, что существенно меньше по сравнению с использованием СТАВ-метода. Это

преимущество делает коммерческие наборы особенно привлекательными для лабораторий, работающих с большими объемами образцов.

Так же была оценена стоимость получения 1 мкг качественной ДНК (табл.4).

Таблица 4. Стоимость получения 1 мкг качественной ДНК

Метод	Стоимость 1 выделения (руб.)	Средний выход ДНК (мкг) из 30 мг образца		Эффективность ПЦР (%)		Стоимость 1 мкг качественной ДНК (руб)	
		Сосна	Дуб	Сосна	Дуб	Сосна	Дуб
СТАВ	21	3,6	0,383	80%	0%	7,29	-

СТАВ с до- очисткой	217,5	2,15	0,12	100%	0%	101,16	-
Коммерче- ский набор 2	197,5	4,1	0,15	100%	80%	48,1	1690,9

Стоимость 1 мкг качественной ДНК рассчитана по формуле: Стоимость 1 выделения / (Средний выход ДНК × (Эффективность ПЦР / 100))

Для дуба методы на основе СТАВ и коммерческий набор 1 показали нулевую эффективность амплификации, что исключает возможность расчета стоимости функциональной ДНК и делает эти методы непригодными для практического применения. Единственным эффективным методом для данного вида оказался коммерческий набор 2, однако его использование сопряжено с экстремально высокой стоимостью (1690,9 руб./мкг), обусловленной низким выходом ДНК (0,15 мкг) при значительной стоимости реактивов.

Базовый СТАВ-метод демонстрирует наилучшую экономическую эффективность с стоимостью получения 1 мкг ПЦР-пригодной ДНК всего 7,29 рубля при 80% эффективности амплификации, что делает его оптимальным выбором для массовых скрининговых исследований с большими партиями образцов. Вторым практичным решением является коммерческий набор 2, который обеспечивает 100% эффективность амплификации при стоимости 48,1 рубля за 1 мкг качественной ДНК, представляя оптимальный баланс между надежностью и экономической эффективностью.

Обсуждение

Результаты подтверждают, что дополнительная очистка ДНК на колонках является высокоэффективным способом повышения чистоты препарата, что критически важно для последующих анализов (например, ПЦР, секвенирование) [16]. Это подтверждается улучшением ключевых спектрофотометрических соотношений (A260/A230 и A260/A280), указывающих на удаление полисахаридов/полифенолов и белков, соответственно. Подобный подход доочистки или использования наборов на основе колонок используется при выделении из

зрелых листьев древесных растений, богатых вторичными соединениями [17]. Однако это достижение сопровождается неприемлемо высокими потерями выхода ДНК (до 40% для сосны и 68% для дуба), что ставит под сомнение практическую целесообразность такого подхода для многих исследований. Для работ, требующих большого количества ДНК (например, полногеномное секвенирование), такие потери могут быть критичными.

Для анализов, требующих высокой чистоты ДНК (NGS, клонирование, некоторые типы ПЦР), очистка на колонках оправдана, несмотря на количественные потери.

Проведенный экономический анализ выявил существенные различия в стоимости получения 1 мкг качественной ПЦР-пригодной ДНК (Таблица 4). Для сосны обыкновенной наименьшую стоимость обеспечил классический СТАВ-метод (7,29 руб./мкг), тогда как коммерческие наборы увеличивали стоимость в 7-20 раз. Для дуба черешчатого ситуация оказалась критической: большинство методов показали 0% эффективность ПЦР, а единственный пригодный метод (коммерческий набор 2) продемонстрировал экстремально высокую стоимость (1690,9 руб./мкг), что делает его экономически нецелесообразным.

Экономический анализ выявляет еще одну проблему: стоимость выделения ДНК коммерческими наборами в 10-17 раз превышает стоимость классического СТАВ-метода. Для лабораторий с ограниченным бюджетом и исследований, требующих обработки сотен образцов, это делает коммерческие наборы экономически нецелесообразными.

Сравнительный анализ выявил, что наиболее сбалансированные результаты по совокупности параметров (качество, выход и воспроизводимость) продемонстрировал коммерческий набор 2.

Ключевым преимуществом этого набора для сосны стала эффективная минимизация загрязнения

полисахаридами при сохранении удовлетворительного выхода ДНК. Для дуба, известного высоким содержанием интерферирующих соединений (полифенолы, полисахариды), оптимальными методами стали выделение коммерческим набором 2 и СТАВ-метод с последующей доочисткой на колонках.

Данные подходы обеспечили наилучший баланс чистоты и выхода ДНК по сравнению с другими протестированными вариантами. В отличие от коммерческого набора 1, который показал максимальную концентрацию ДНК, но одновременно — признаки дегградации ДНК ($A_{260}/A_{280} > 2$) и загрязнения на электрофореграммах, коммерческий набор 2 обеспечил стабильно высокое качество препаратов.

Оба набора значительно ускоряют процесс выделения по сравнению с традиционным СТАВ-методом, что имеет преимущество для обработки больших партий образцов. коммерческий набор 2 показал себя как надежный метод для обоих видов.

Однако применение коммерческого набора 2 имеет и существенные ограничения:

1. Высокая стоимость (в 9,4 раза дороже СТАВ-метода).
2. Снижение выхода ДНК (в 2–3 раза для дуба).
3. Экономическая нецелесообразность при массовых исследованиях.

Низкая стоимость СТАВ-метода остается ключевым фактором, особенно для лабораторий с ограниченным бюджетом или при работе с очень большим количеством образцов, где стоимость реагентов становится определяющей. Использование комбинированных методов набирает популярность, так как позволяет сочетать экономичность классического метода со стандартизированной очисткой получаемого препарата ДНК [18,19]. Данное исследование подтверждает эффективность такого подхода для дуба черешчатого.

Таким образом, коммерческий набор 2 является надежным решением для задач, требующих высокого качества ДНК (ПЦР, секвенирование), но его применение должно быть взвешенным с учетом бюджета и требуемого количества DNA. Для круп-

ных проектов более оправдано использование оптимизированного СТАВ-метода с выборочной очисткой образцов.

Таким образом, в настоящее время из-за видоспецифичности и тканевых особенностей биологического материала, не существует универсального метода выделения ДНК готового к использованию без модификаций. Оптимальный выбор всегда зависит от конкретной исследовательской задачи, вида растения и доступных ресурсов. Комбинированные подходы, использующие сильные стороны разных методов, представляются особенно перспективным направлением.

На сегодняшний день наиболее перспективными признаны следующие направления:

1. Модифицированные СТАВ-протоколы, в которых стандартные буферы оптимизированы за счет повышенных концентраций поливинилпирролидона (PVP-40 до 4%) и β -меркаптоэтанола (до 4%) для эффективной нейтрализации полифенолов и предотвращения окисления [20, 21].

2. Методы на основе магнитных частиц, обеспечивающие селективное связывание нуклеиновых кислот и автоматизацию процесса, что минимизирует контаминацию и повышает чистоту конечного продукта [22].

3. Комбинированные подходы, интегрирующие этапы предварительной обработки образцов с последующей очисткой современными коммерческими наборами.

Для особо сложных объектов, таких как ткани дуба, характеризующиеся экстремально высоким содержанием полифенолов, ключевым этапом становится предварительная инкубация образца с PVP для специфического связывания мешающих соединений до начала лизиса клеток [20,21].

Заключение

Проведенное сравнительное исследование методов выделения ДНК из тканей сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) позволяет сделать следующие основные выводы, согласующиеся с полученными результатами:

1. Для сосны обыкновенной оптимальные результаты, обеспечивающие баланс между количеством, чистотой и функциональной пригодностью ДНК, продемонстрировали:

1. Классический СТАВ-метод показал наилучшую экономическую эффективность (стоимость 1 мкг качественной ПЦР-пригодной ДНК составила 7,29 руб.) и приемлемый выход (3,6 мкг), что делает его предпочтительным для массовых скрининговых исследований.

2. Коммерческий набор 2 подтвердил высокую воспроизводимость и стабильность (наименьшее SD по показателю $A260/230 = 0,09$), обеспечив чистые препараты ДНК ($A260/280 = 1,87$; $A260/230 = 1,95$), пригодные для ПЦР (100% эффективность амплификации). Это делает его рекомендуемым методом для задач, требующих высокого качества ДНК, таких как секвенирование.

2. Для дуба черешчатого, крайне сложного объекта из-за высокого содержания полифенолов:

1. Большинство протестированных методов оказались непригодны для получения ПЦР-пригодной ДНК (0% эффективность амплификации).

2. Единственным методом, позволившим получить функциональную ДНК, стал коммерческий набор 2 (80% эффективность амплификации). Однако экстремально низкий выход ДНК (0,15 мкг) и высокая стоимость набора привели к крайне высокой стоимости получения 1 мкг качественной ДНК (1690,9 руб.), что ставит под сомнение его практическую и экономическую целесообразность для рутинной работы с данным видом. Данный результат указывает на необходимость разработки и апробации

специализированных протоколов для дуба, включающих этап предварительной обработки PVP [20, 21].

Для ПЦР-анализа сосны: рекомендуется классический СТАВ-метод как наиболее экономичный и эффективный.

Для анализа, требующего высокой чистоты ДНК (NGS, клонирование): для сосны рекомендован коммерческий набор 2; для дуба необходим поиск и оптимизация альтернативных методов.

Доочистка на колонках является эффективным инструментом для повышения чистоты препаратов (значимое улучшение соотношений $A260/280$ и $A260/230$, $p < 0.001$), но приводит к значительным потерям выхода ДНК (до 40-68%), что ограничивает её применение случаями, когда количество материала не является лимитирующим фактором.

Таким образом, выбор оптимального метода выделения ДНК должен основываться на балансе между необходимым уровнем чистоты и экономическим фактором, принимая во внимание дальнейшее назначение препарата ДНК.

Заявление о конфликте интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Исследование проводилось с целью объективного сравнения коммерческих и лабораторных методов, производители коммерческих наборов не оказывали влияния на дизайн исследования, интерпретацию результатов или выводы.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-16-20047, <https://rscf.ru/project/24-16-20047/>.

Список литературы

1. Галактионова У.А., Большаков В.Н., Тиходеева М.Ю., Тиходеев О.Н. Специфические проблемы при выделении геномной ДНК из растений: пути решения. Ботанический журнал. 2023; 108 (6): 603–614. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?edn=zllhzc>

2. Лубенникова М.В., Афанасьев В.А., Афанасьев К.А. Выделение ДНК – важный этап молекулярно-генетического исследования. Электронный научно-методический журнал Омского ГАУ. 2020; 2 (21). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=43154546> (дата обращения: 13.09.2025).

3. De Silva S., Bentz P.C., Cagliero C. et al. Ionic liquid-assisted seed genomic DNA extraction for advanced sequencing applications. Plant Methods. 2025; 21: 97. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13007-025-01417-1>

4. Гучетль С.З., Золотавина М.Л., Григорьян А.А., Головатская А.В. Исследование качества ДНК для полимеразной цепной реакции, экстрагированной разными способами из подсолнечника. Масличные культуры.

2021; 1 (185). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/issledovanie-kachestva-dnk-dlya-polimeraznoy-tsepnoy-reaktsii-ekstragirovannoy-raznymi-sposobami-iz-podsolnechnika> (дата обращения: 16.09.2025).

5. Li Z., Parris S., Sasaki C.A. A simple plant high-molecular-weight DNA extraction method suitable for single-molecule technologies. *Plant Methods*. 2020; 16: 38. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13007-020-00582-9>

6. Kiss T., Karácsony Z., Gomba-Tóth A. et al. A modified CTAB method for the extraction of high-quality RNA from mono- and dicotyledonous plants rich in secondary metabolites. *Plant Methods*. 2024; 20: 62. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13007-024-01198-z>

7. Li Z., Parris S., Sasaki C.A. A simple plant high-molecular-weight DNA extraction method suitable for single-molecule technologies. *Plant Methods*. 2020; 16: 38. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13007-020-00582-9>

8. Heikrujam J., Kishor R., Mazumder P.B. The chemistry behind plant DNA isolation protocols. London: IntechOpen; 2020. DOI: <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.92206>

9. Бадыкова Л.А., Мударисова Р.Х., Колесов С.В. Особенности структуры и свойств гидроксипропилцеллюлозы, синтезируемой в присутствии оксида этилена и серной кислоты. *Химическая физика*. 2020; 39 (1): 88. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/dubyaschaya-sposobnost-okislennoy-gidroksietilsellyulozy>

10. Marín D.V., Castillo D.K., López-Lavalle L.A.B., Chalarca J.R., Pérez C.R. An optimized high-quality DNA isolation protocol for *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae). *MethodsX*. 2021; 8: 101255. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mex.2021.101255>

11. Schenk J.J., Becklund L.E., Carey S.J., Fabre P.P. What is the "modified" CTAB protocol? Characterizing modifications to the CTAB DNA extraction protocol. *Applications in Plant Sciences*. 2023; 11: e11517. DOI: <https://doi.org/10.1002/aps3.11517>

12. Попова А.А., Гродецкая Т.А., Молчанов В.В., Евлаков П.М. Подбор и оптимизация методов экстракции ДНК из различного растительного материала. *Вестник Поволжского государственного технологического университета. Серия: Лес. Экология. Природопользование*. 2022; 1 (49): 58–71. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/podbor-i-optimizatsiya-metodov-ekstraksii-dnk-iz-razlichnogo-rastitelnogo-materiala>

13. Петюренко М.Ю., Камалова И.И., Сердюкова А.П. Экстракция суммарной ДНК из *Pinus sylvestris* L. при оценке полиморфизма с использованием SSR- и RAPD-маркеров. *Труды Санкт-Петербургского научно-исследовательского института лесного хозяйства*. 2021: 13–25. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=47147777>

14. Попова А.С., Старухина А.О., Зайцев В.Г. Сравнительный анализ методов ускоренного выделения ДНК из растительного материала. *Научно-агрономический журнал*. 2021; 2 (113): 67–73. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/sravnitelnyy-analiz-metodov-uskorennoy-vydeleniya-dnk-iz-rastitelnogo-materiala>

15. Файзуллина Р.М., Гафурова Р.Р., Маркелов В.А., Викторов В.В., Данилко К.В. Опыт использования и оценка эффективности коммерческого набора для экстракции геномной ДНК из цельной размороженной крови. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2022; 17 (5): 101. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/opyt-ispolzovaniya-i-otsenka-effektivnosti-kommercheskogo-nabora-dlya-ekstraksii-genomnoy-dnk-iz-tselnoy-razmorozhennoy-krovi>

16. Guillardín L., MacKay J.J. Comparing DNA isolation methods for forest trees: quality, plastic footprint, and time-efficiency. *Plant Methods*. 2023; 19: 111. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13007-023-01086-y>

17. Langsiri N., Meyer W., Irinyi L., Worasilchai N., Pombubpa N., Wongsurawat T., Jenjaroenpun P., Luangsa-Ard J.J., Chindamporn A. Optimizing fungal DNA extraction and purification for Oxford Nanopore untargeted shotgun metagenomic sequencing from simulated hemoculture specimens. *mSystems*. 2025; 10: e0116624. DOI: <https://doi.org/10.1128/msystems.01166-24>

18. Terzi Aksoy B., Ateş Sönmezöglü Ö. Comparison of modified DNA isolation methods for the detection of GMO in processed foods. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*. 2022; 5 (3): 546–561. DOI: <https://doi.org/10.38001/ijlsb.1166275>

19. Лубенникова М.В., Афанасьев В.А., Афанасьев К.А. Выделение ДНК — важный этап молекулярно-генетического исследования. *Электронный научно-методический журнал Омского ГАУ*. 2020; 2 (21). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=43154546>

20. Dar G.J., Nazir R., Wani S.A., Farooq S., Aziz T., Albekairi T.H. Optimizing a modified cetyltrimethylammonium bromide protocol for fungal DNA extraction: insights from multilocus gene amplification. *Open Life Sciences*. 2025; 20: 20221006. DOI: <https://doi.org/10.1515/biol-2022-1006>

21. Schenk J.J., Becklund L.E., Carey S.J., Fabre P.P. What is the "modified" CTAB protocol? Characterizing modifications to the CTAB DNA extraction protocol. *Applications in Plant Sciences*. 2023; 11. DOI: <https://doi.org/10.1002/aps3.11517>

22. Ye X., Lei B. The current status and trends of DNA extraction. *BioEssays*. 2023; 45: e2200242. DOI: <https://doi.org/10.1002/bies.202200242>

References

1. Galaktionova U.A., Bolshakov V.N., Tikhodeeva M.Yu., Tikhodeev O.N. Spetsificheskie problemy pri vydelenii genomnoy DNK iz rasteniy: puti resheniya [Specific problems in the isolation of genomic DNA from plants: solutions]. *Botanicheskii zhurnal = Botanical Journal*. 2023;108(6):603–614. (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?edn=zllhzc>

2. Lubennikova M.V., Afanasyev V.A., Afanasyev K.A. Vydelenie DNK – vazhnyy etap molekulyarno-geneticheskogo issledovaniya [DNA extraction is an important stage of molecular genetic research]. *Elektronnyi nauchno-metodicheskii zhurnal Omskogo GAU = Electronic Scientific and Methodological Journal of Omsk SAU*. 2020;2(21). (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=43154546>

3. De Silva S., Bentz P.C., Cagliero C. et al. Ionic liquid-assisted seed genomic DNA extraction for advanced sequencing applications. *Plant Methods*. 2025;21:97. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13007-025-01417-1>

4. Guchetl S.Z., Zolotavina M.L., Grigoryan A.A., Golovatskaya A.V. Issledovanie kachestva DNK dlya polimeraznoy tsepnoy reaktsii, ekstragirovannoy raznymi sposobami iz podsolnechnika [Study of the quality of DNA for polymerase chain reaction extracted by different methods from sunflower]. *Maslichnye kultury = Oil Crops*. 2021;1(185). (In Russ.). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/issledovanie-kachestva-dnk-dlya-polimeraznoy-tsepnoy-reaktsii-ekstragirovannoy-raznymi-sposobami-iz-podsolnechnika>

5. Li Z., Parris S., Saski C.A. A simple plant high-molecular-weight DNA extraction method suitable for single-molecule technologies. *Plant Methods*. 2020;16:38. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13007-020-00582-9>

6. Kiss T., Karácsony Z., Gomba-Tóth A. et al. A modified CTAB method for the extraction of high-quality RNA from mono- and dicotyledonous plants rich in secondary metabolites. *Plant Methods*. 2024;20:62. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13007-024-01198-z>

7. Li Z., Parris S., Saski C.A. A simple plant high-molecular-weight DNA extraction method suitable for single-molecule technologies. *Plant Methods*. 2020;16:38. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13007-020-00582-9>

8. Heikrujam J., Kishor R., Mazumder P.B. The chemistry behind plant DNA isolation protocols. London: IntechOpen; 2020. DOI: <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.92206>

9. Badykova L.A., Mudarisova R.Kh., Kolesov S.V. Osobennosti struktury i svoystv gidroksietiltellyulozy, sintetiziruemoy v prisutstvii oksida etilena i sernoy kisloty [Features of the structure and properties of hydroxyethyl cellulose synthesized in the presence of ethylene oxide and sulfuric acid]. *Khimicheskaya fizika = Chemical Physics*. 2020;39(1):88. (In Russ.). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/dubyaschaya-sposobnost-okislennoy-gidroksietiltellyulozy>

10. Marín D.V., Castillo D.K., López-Lavalle L.A.B., Chalarca J.R., Pérez C.R. An optimized high-quality DNA isolation protocol for Spodoptera frugiperda J.E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae). *MethodsX*. 2021;8:101255. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mex.2021.101255>

11. Schenk J.J., Becklund L.E., Carey S.J., Fabre P.P. What is the "modified" CTAB protocol? Characterizing modifications to the CTAB DNA extraction protocol. *Applications in Plant Sciences*. 2023;11:e11517. DOI: <https://doi.org/10.1002/aps3.11517>

12. Popova A.A., Grodeckaya T.A., Molchanov V.V., Evlakov P.M. Podbor i optimizatsiya metodov ekstraktsii DNK iz razlichnogo rastitelnogo materiala [Selection and optimization of DNA extraction methods from various plant

materials]. Vestnik Povolzhskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo universiteta. Seriya: Les. Ekologiya. Prirodopolzovanie = Bulletin of the Volga State University of Technology. Series: Forest. Ecology. Nature Management. 2022;1(49):58–71. (In Russ.). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/podbor-i-optimizatsiya-metodov-ekstraktsii-dnk-iz-razlichnogo-rastitelnogo-materiala>

13. Petyurenko M.Yu., Kamalova I.I., Serdyukova A.P. Ekstraktsiya summarnoy DNK iz Pinus sylvestris L. pri otsenke polimorfizma s ispolzovaniem SSR- i RAPD-markerov [Extraction of total DNA from Pinus sylvestris L. for polymorphism assessment using SSR and RAPD markers]. Trudy Sankt-Peterburgskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta lesnogo khozyaystva = Proceedings of the Saint Petersburg Forestry Research Institute. 2021:13–25. (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=47147777>

14. Popova A.S., Starukhina A.O., Zaitsev V.G. Sravnitelnyy analiz metodov uskorennoy vydeleniya DNK iz rastitelnogo materiala [Comparative analysis of methods for accelerated DNA extraction from plant material]. Nauchno-agronomicheskii zhurnal = Scientific Agronomic Journal. 2021;2(113):67–73. (In Russ.). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/sravnitelnyy-analiz-metodov-uskorennoy-videleniya-dnk-iz-rastitelnogo-materiala>

15. Fayzullina R.M., Gafurova R.R., Markelov V.A., Viktorov V.V., Danilko K.V. Opyt ispolzovaniya i otsenka effektivnosti kommercheskogo nabora dlya ekstraktsii genomnoy DNK iz tselnoy razmorozhennoy krovi [Experience of use and evaluation of the effectiveness of a commercial kit for genomic DNA extraction from whole thawed blood]. Meditsinskiy vestnik Bashkortostana = Medical Bulletin of Bashkortostan. 2022;17(5):101. (In Russ.). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/opyt-ispolzovaniya-i-otsenka-effektivnosti-kommercheskogo-nabora-dlya-ekstraktsii-genomnoy-dnk-iz-tselnoy-razmorozhennoy-krovi>

16. Guillardín L., MacKay J.J. Comparing DNA isolation methods for forest trees: quality, plastic footprint, and time-efficiency. Plant Methods. 2023;19:111. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13007-023-01086-y>

17. Langsiri N., Meyer W., Irinyi L., Worasilchai N., Pombubpa N., Wongsurawat T., Jenjaroenpun P., Luangsa-Ard J.J., Chindamporn A. Optimizing fungal DNA extraction and purification for Oxford Nanopore untargeted shotgun metagenomic sequencing from simulated hemoculture specimens. mSystems. 2025;10:e0116624. DOI: <https://doi.org/10.1128/msystems.01166-24>

18. Terzi Aksoy B., Ateş Sönmezoğlu Ö. Comparison of modified DNA isolation methods for the detection of GMO in processed foods. International Journal of Life Sciences and Biotechnology. 2022;5(3):546–561. DOI: <https://doi.org/10.38001/ijlsb.1166275>

19. Lubennikova M.V., Afanasyev V.A., Afanasyev K.A. Vydelenie DNK — vazhnyy etap molekulyarno-geneticheskogo issledovaniya [DNA extraction is an important stage of molecular genetic research]. Elektronnyi nauchno-metodicheskii zhurnal Omskogo GAU = Electronic Scientific and Methodological Journal of Omsk SAU. 2020;2(21). (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=43154546>

20. Dar G.J., Nazir R., Wani S.A., Farooq S., Aziz T., Albekairi T.H. Optimizing a modified cetyltrimethylammonium bromide protocol for fungal DNA extraction: insights from multilocus gene amplification. Open Life Sciences. 2025;20:20221006. DOI: <https://doi.org/10.1515/biol-2022-1006>

21. Schenk J.J., Becklund L.E., Carey S.J., Fabre P.P. What is the "modified" CTAB protocol? Characterizing modifications to the CTAB DNA extraction protocol. Applications in Plant Sciences. 2023;11. DOI: <https://doi.org/10.1002/aps3.11517>

22. Ye X., Lei B. The current status and trends of DNA extraction. BioEssays

Сведения об авторах

✉ Трапезникова Екатерина Игоревна – ассистент кафедры Лесной генетики, биотехнологии и физиологии растений, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г.Ф. Морозова», ул. Тимирязева, 8, г. Воронеж, Российская Федерация, 394087, ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-7429-9551>, e-mail: katena.trapeznikova.02@mail.ru

Матвеев Сергей Михайлович – доктор биол. наук, профессор, заведующий кафедрой лесоводства, лесной таксации и лесоустройства, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г.Ф. Морозова», г. Воронеж, 394087, Российская Федерация, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8532-1484>, e-mail: lisovod@bk.ru

Information about the authors

✉ *Ekaterina I. Trapeznikova* – assistant at the Department of Forest Genetics, Biotechnology and Plant Physiology, Voronezh State University of Forestry and Technologies named after G.F. Morozov, Timiryazeva str., 8, Voronezh, Russian Federation, 394087, ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-7429-9551>, e-mail: katena.trapeznikova.02@mail.ru

Sergey M. Matveev - doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Forestry, Forest Inventory and Management, Voronezh State University of Forestry and Technologies named after G.F. Morozov, Timiryazev str., 8, Voronezh, Russian Federation, 394087, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8532-1484>, e-mail: lisovod@bk.ru

✉ – Для контактов/Corresponding author