

## 琼脂固体培养基培养蜜环菌菌索总 DNA 的提取

邓艳芹<sup>1,2</sup>, 李作洲<sup>1\*</sup>, 王传华<sup>3</sup>, 黄宏文<sup>1\*</sup>

(1. 中国科学院武汉植物园, 武汉 430074; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039;  
3. 三峡大学化学与生命科学学院, 湖北宜昌 443002)

**摘要:** 野外采集的蜜环菌 [*Armillaria mellea* (Vahl. ex Fr.) Quel] 在提取 DNA 前需要分离获得纯化的菌丝体。常规液体培养获得菌丝团的方法感杂率较高, 采集固体培养基表面 cellophane 膜上形成的菌丝则难以获得足量的 DNA 提取材料。蜜环菌细胞内含有大量多醌类物质, 也使得蜜环菌高质量 DNA 的提取存在一定的困难。本研究通过改进试验, 提供一个直接从琼脂固体培养基培养的蜜环菌菌索中提取高质量 DNA 的方法。其中样品的预先冻融处理方法可以促使蜜环菌菌索与琼脂分离; 而在裂解提取缓冲液裂解材料细胞后加入 1.25 mol/L KAc 溶液, 则有利于除去蜜环菌细胞内的多醌类物质以及残留的少量琼脂。通过琼脂糖电泳、紫外分光光度计对 DNA 浓度及 OD 值的测定、ISSR 引物的 PCR 扩增以及酶切产物的 PCR 扩增等方法的检测, 结果均表明该方法提取的 DNA 质量较好, 符合进一步进行分子生物学研究的要求。

**关键词:** 蜜环菌; 菌索; DNA 提取; 琼脂固体培养基; 多醌

中图分类号: Q523

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2007)04-0371-06

## DNA Extraction from Rhizomorph of *Armillaria mellea* Cultured by Solid Agar Medium

DENG Yan-Qin<sup>1,2</sup>, LI Zuo-Zhou<sup>1\*</sup>, WANG Chuan-Hua<sup>3</sup>, HUANG Hong-Wen<sup>1\*</sup>

(1. Wuhan Botanical Garden, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, China; 2. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China; 3. College of China Three Gorges University, Yichang, Hubei 443002, China)

**Abstract:** To obtain pure mycelia before DNA extraction, *Armillaria mellea* (Vahl. ex Fr.) Quel collected from the field need to be isolated. Traditional liquid culture purifying method has the disadvantage of low efficiency. Although pure mycelia can be collected from cellophane film on solid medium, it is difficult to obtain sufficient materials for DNA extraction. We therefore put forward a modified method that is extracting DNA from rhizomorph of *A. mellea* cultured by solid agar medium. The results show that agar around the rhizomorph materials can be mostly removed when samples were pretreated via freezing-melting. DNA extraction buffer mixed with KAc solution (1.25 mol/L) can effectively eliminate agar and other polysaccharid residuals. The quality of extracted DNA was then tested by a series of measures, including ultraviolet absorption test, agarose gel electrophoresis, amplification by using ISSR primers and digestion by restriction endonuclease *Mse* I. The results confirmed that the quality of extracted DNA using this modified method is very high, and proven to be suitable for further molecular analysis.

**Key words:** *Armillaria mellea*; Rhizomorph; DNA extraction; Solid agar culture; Polysaccharid

蜜环菌 [*Armillaria mellea* (Vahl. ex Fr.) Quel] 属于伞菌目口蘑科 (Tricholomataceae) 蜜环菌属 [*Armillaria* (Fr.) Staude], 是一个包含多个生物种 (bio-species) 的真菌类群, 常称为蜜环菌复合种 (*A. mellea* complexes)<sup>[1-3]</sup>。蜜环菌属真菌子实体形态变异较大, 寄主广泛, 具有根状菌索是其区别于其它属真菌的典型特征<sup>[4]</sup>。不同于其它担子菌类真菌的双核菌丝, 蜜环菌属真菌在营养体阶段呈现单

核双倍体化, 可能有利于其高度分化的菌索的功能发挥<sup>[5]</sup>, 使得其成为世界温带和寒温带森林林木根腐病或干基腐病的重要病原菌, 造成大量林木死亡腐烂, 带来了重大经济损失, 引起了病理学家的关注, 对蜜环菌的综合防治和有效生物控制是亟待解决的问题<sup>[6]</sup>。蜜环菌具有一定的药效<sup>[7]</sup>, 具有重要经济价值, 同时蜜环菌还是著名中药天麻和猪苓的共生菌和营养源<sup>[8]</sup>, 蜜环菌与天麻、猪苓间的共生

收稿日期: 2006-12-12, 修回日期: 2007-02-12。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30370145)。

作者简介: 邓艳芹 (1980-), 女, 硕士, 从事植物共生真菌分子生态学研究。

\* 通讯作者 (Author for correspondence. E-mail: hongwen@wbgeas.cn; lizz@rose.whiob.ac.cn)。