

# Base Pairing of Ribosomal RNA of *Coriaria* spp. Grown under Persimmon Fruit Trees

Yuzhu Wang<sup>1</sup>, Yan Sun<sup>1</sup>, Yan Zhao<sup>2</sup>, Mingjie Chen<sup>2</sup>, Ni Liu<sup>1</sup>, Lang Li<sup>1</sup>, Fanglun Zou<sup>3</sup>, Gaochao Pan<sup>1</sup>, Hanwu Long<sup>3\*</sup>, Fenglin Liao<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Guizhou Institute of Mountain Resources, Guiyang Guizhou

<sup>2</sup>Edible Fungi Institute of Agriculture Academy of Sciences in Shanghai, Shanghai

<sup>3</sup>Guizhou Institute of Biology, Guiyang Guizhou

Email: \*zfl636488@126.com, \*799393308@qq.com

Received: Jul. 1<sup>st</sup>, 2020; accepted: Jul. 17<sup>th</sup>, 2020; published: Jul. 24<sup>th</sup>, 2020

## Abstract

*Coriaria* has a strong mushroom flavor. In the market, its economic value is much higher than other *Lentinus edodes*. Planting *Coriaria* spp. under the sweet persimmon fruit forest has played an important role in increasing the economic income of farmers, but also promoting the poverty-stricken areas of farmers to get rid of poverty and become rich. Because of the unique biological characteristics of *Coriaria* spp. (only by using Tilia or sawdust of *Morus alba*), we cannot distinguish them by morphological taxonomy, so we can only distinguish them by molecular detection. The ribosomal RNA gene of strain hub034 18S ribosomal and strain yaasm366 18S ribosomal RNA gene were determined. The results showed that there were 714 - 746 base pairs in the ribosomal RNA gene of strain hub034 18S ribosomal. The 18S ribosomal RNA gene of strain yaasm366 contains 715 - 749 base pairs.

## Keywords

Persimmon, Planting, *Coriaria* spp., Ribosome, RNA, Base Pairing

# 甜柿果树林下种植的马桑菌核糖体RNA的碱基配对

王玉珠<sup>1</sup>, 孙燕<sup>1</sup>, 赵妍<sup>2</sup>, 陈明杰<sup>2</sup>, 刘妮<sup>1</sup>, 李浪<sup>1</sup>, 邹方伦<sup>3</sup>, 潘高潮<sup>1</sup>, 龙汉武<sup>3\*</sup>, 廖凤林<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>贵州省山地资源研究所, 贵州 贵阳

<sup>2</sup>上海市农业科学院食用菌研究所, 上海

<sup>3</sup>贵州省生物研究所, 贵州 贵阳

Email: \*zfl636488@126.com, \*799393308@qq.com

\*通讯作者。

收稿日期：2020年7月1日；录用日期：2020年7月17日；发布日期：2020年7月24日

## 摘要

马桑菌具有浓郁的香菇香味。在市场上它的经济价值比其他香菇要高很多，在甜柿果树林下种植马桑菌对增加农民的经济收入起到了重要的作用，同时也推动了贫困地区农民的脱贫致富。由于马桑菌生物学特性独特(只有用马桑树椴木或马桑树木屑才能种植出马桑菌)，采用形态分类学又不能将其区别，所以只能用分子检测来区分它们。文章测定了马桑菌Strain HUB034 18S ribosomal核糖体RNA gene和马桑菌Strain YAASM366 18S ribosomal RNA gene。其结果为：马桑菌Strain HUB034 18S ribosomal核糖体RNA gene含有714~746个碱基配对。马桑菌Strain YAASM366 18S ribosomal RNA gene含有715~749个碱基配对。

## 关键词

甜柿，种植，马桑菌，核糖体，RNA，碱基配对

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

马桑菌是一种生长在马桑树的枯枝上的野生菌经过驯化的品种，该菌具有浓郁的香菇香味[1] [2]。野生马桑菌的驯化栽培只能用马桑树椴木或马桑树粉碎成木屑栽培才能长出马桑菌子实体[3]。采用其它树种椴木或木屑栽培马桑菌，营养生长良好，但不能进行生殖生长。因此作者认为该马桑菌是否是香菇属中一新种？采用形态分类学的方法没有办法将它们区别，由于马桑菌的生物学特性与其他香菇品种生物学特性相差很大，因此作者对在甜柿下种植的马桑菌品种的核糖体 Strain HUB034 18S ribosomal 核糖体 RNA gene 和马桑菌 Strain YAASM366 18S ribosomal RNA gene 进行了测定。其目的是为下一步鉴定此马桑菌是否为香菇属中的新种，与香菇属中其他品种的核糖体进行对比，看它们在分子方面有无区别作前期准备工作。

## 2. 马桑菌 DNA 提取，PCR 扩增方法

**DNA 提取：**取适量样品用液氮充分研磨后快速盛入 1.5 ml 的 Eppendorf 管中，加入 700  $\mu$ L 的预热 CTAB (2%)提取缓冲液，65 $^{\circ}$ C 水浴 1 h 后 12,000 r/min 离心 20 min，取上清液加入等体积的苯酚、氯仿、异戊醇混合液(体积比为 25:24:1)充分混匀，慢慢摇晃 1 h 后 12,000 r/min 离心 20 min，取上清液转管至新的 1.5 mL 的 Eppendorf 管中，加入等体积的氯仿、异戊醇混合液(体积比为 24:1)慢慢摇晃 1 h 后 12,000 r/min 离心 20 min，取上清液转管，加入 2/3 体积预冷的异丙醇置于-20 $^{\circ}$ C 冰箱 30 min，8000 r/min 离心 5 min，弃上清液，沉淀用 75%的乙醇洗涤 2~3 次，晾干加入 30  $\mu$ L TE 溶液充分溶解，然后用 1.0%的琼脂糖凝胶检测 DNA 样品的浓度和质量，DNA 样品置于-20 $^{\circ}$ C 保存备用。

**PCR 扩增：**利用真菌通用引物 ITS1 和 ITS4 对样品进行 PCR 扩增，反应体系为 35  $\mu$ L，包括：2  $\times$  HiFiTaqPCRStarMix 17.5  $\mu$ L、引物 ITS1 和 ITS4 各 0.6  $\mu$ L、DNA 模板 1  $\mu$ L，用去离子水将体积补至 35  $\mu$ L。

反应程序为：94℃预变性 2 min，94℃变性 1 min，55℃退火 1 min，72℃延伸 1 min，34 个循环，72℃延伸 8 min，4℃保存。扩增得到的 PCR 产物经 1.0%琼脂糖凝胶电泳检测扩增结果。

产物送相关基因测序公司测序。

测定了马桑菌 Strain HUB034 18S ribosomal 核糖体 RNA gene 和马桑菌 Strain YAASM366 18S ribosomal RNA gene。测序结果如下：

Download

FASTA (complete sequence)

FASTA (aligned sequences)

GenBank (complete sequence)

Continue Cancel

GenBankGraphics Next Previous Descriptions

**Lentinula edodes strain HUB034 18S ribosomal 核糖体 RNA gene**, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: KT750944.1 Length: 759 Number of Matches: 1

Related Information

Range 1: 41 to 746 GenBankGraphics Next Match Previous Match First Match

Alignment statistics for match #1

| Score           | Expect | Identities    | Gaps       | Strand    | Frame |
|-----------------|--------|---------------|------------|-----------|-------|
| 1297 bits (702) | 0.0 () | 705/706 (99%) | 1/706 (0%) | Plus/Plus |       |

Features:

```

Query 10 TGGTGGTGGATTGTTGCTGGCCTTTGGGTATGTGCACATCCTCCTCCGATTCTATTTCAT 69
          |||
Sbjct 41 TGGTGGTGGATTGTTGCTGGCCTTTGGGTATGTGCACATCCTCCTCCGATTCTATTTCAT 100
Query 70 CCACCTGTGCACTTTTGTAGGAGTTCTTTCATCGGGTTTTTGAA-GGTGCTCATTATGA 128
          |||
Sbjct 101 CCACCTGTGCACTTTTGTAGGAGTTCTTTCATCGGGTTTTTGAAAGGTGCTCATTATGA 160
Query 129 GTTACTTGAAAAGACTAGTTGACAAGGCTTCTATGTTCTTATAAACCATTGAAGTATGTT 188
          |||
Sbjct 161 GTTACTTGAAAAGACTAGTTGACAAGGCTTCTATGTTCTTATAAACCATTGAAGTATGTT 220
Query 189 ATAGAATGATCTTGTATTGGGACTTATTGACCCTTTAAACTTAATACAACCTTCAGCA 248
          |||
Sbjct 221 ATAGAATGATCTTGTATTGGGACTTATTGACCCTTTAAACTTAATACAACCTTCAGCA 280
Query 249 ACGGATCTCTTGGCTCTCCCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAA 308
          |||
Sbjct 281 ACGGATCTCTTGGCTCTCCCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAA 340
    
```

```

Query 309 TTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCCCTCTGGTATTCCGG 368
|||||
Sbjct 341 TTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCCCTCTGGTATTCCGG 400
Query 369 AGGGCATGCCTGTTGAGTGCATTAATAATTCTCAACTTATAAGTTTTACTTATCAAAG 428
|||||
Sbjct 401 AGGGCATGCCTGTTGAGTGCATTAATAATTCTCAACTTATAAGTTTTACTTATCAAAG 460
Query 429 CTTGGATGTTGGAGGCTTGCAGGCGTTGTGAGCTCCTCTTAAATTGATTAGTGGGAACC 488
|||||
Sbjct 461 CTTGGATGTTGGAGGCTTGCAGGCGTTGTGAGCTCCTCTTAAATTGATTAGTGGGAACC 520
Query 489 CTGTTTTGTTAGTTCTAACCTTGGTGTGATAATTATCTACATTTTGGTGGAACTTACAA 548
|||||
Sbjct 521 CTGTTTTGTTAGTTCTAACCTTGGTGTGATAATTATCTACATTTTGGTGGAACTTACAA 580
Query 549 TAATAAAGCTCTATTGGTTGGGTTGTCATTTAGTTGCTCAATCTGTTCTATTCATT 608
|||||
Sbjct 581 TAATAAAGCTCTATTGGTTGGGTTGTCATTTAGTTGCTCAATCTGTTCTATTCATT 640
Query 609 GGAGCACAAGGGAAGTCCCGCTTTCTAACTGTCTTGATTGACTATATATAACTTATTGTC 668
|||||
Sbjct 641 GGAGCACAAGGGAAGTCCCGCTTTCTAACTGTCTTGATTGACTATATATAACTTATTGTC 700
Query 669 TTGACCTCAAATCAGGTAGGATTACCCGCTGAACTTAAGCATATCA 714
|||||
Sbjct 701 TTGACCTCAAATCAGGTAGGATTACCCGCTGAACTTAAGCATATCA 746

```

Download

FASTA (complete sequence)

FASTA (aligned sequences)

GenBank (complete sequence)

Continue Cancel

GenBankGraphics Next Previous Descriptions

**Lentinula edodes strain YAASM366 18S ribosomal RNA gene**, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: KT750950.1 Length: 751 Number of Matches: 1

Related Information

Range 1: 42 to 749 GenBankGraphics Next Match Previous Match First Match

Alignment statistics for match #1

| Score           | Expect | Identities    | Gaps       | Strand    | Frame |
|-----------------|--------|---------------|------------|-----------|-------|
| 1295 bits (701) | 0.0 () | 706/708 (99%) | 2/708 (0%) | Plus/Plus |       |

Features:

|       |     |   |     |
|-------|-----|---|-----|
| Query | 10  | TGGTGGTGGATTGTTGCTGGCCTTTGGGTATGTGCACATCCTCCTCCGATTCTATTTCAT  | 69  |
| Sbjct | 42  | TGGTGGTGGATTGTTGCTGGCCTTTGGGTATGTGCACATCCTCCTCCGATTCTATTTCAT  | 101 |
| Query | 70  | CCACCTGTGCACTTTTGTAGGAGTTCTTTCATCGGGTTTTGAA-GGTGCTCATTATGA    | 128 |
| Sbjct | 102 | CCACCTGTGCACTTTTGTAGGAGTTCTTTCATCGGGTTTTGAAAGGTGCTCATTATGA    | 161 |
| Query | 129 | GTTACTTGAAAAGACTAGTTGACAAGGCTTCTATGTTCTATAAACCAATTGAAGTATGTT  | 188 |
| Sbjct | 162 | GTTACTTGAAAAGACTAGTTGACAAGGCTTCTATGTTCTATAAACCAATTGAAGTATGTT  | 221 |
| Query | 189 | ATAGAATGATCTTGTTATTGGGACTTTATTGACCCTTTAAACTTAATACAACCTTTCAGCA | 248 |
| Sbjct | 222 | ATAGAATGATCTTGTTATTGGGACTTTATTGACCCTTTAAACTTAATACAACCTTTCAGCA | 281 |
| Query | 249 | ACGGATCTCTTGGCTCTCCCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAA  | 308 |
| Sbjct | 282 | ACGGATCTCTTGGCTCTCCCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAA  | 341 |
| Query | 309 | TTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCCCTCTGGTATTCCGG  | 368 |
| Sbjct | 342 | TTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCCCTCTGGTATTCCGG  | 401 |
| Query | 369 | AGGGCATGCCTGTTGAGTGCATTAAATTCTCAACTTATAAG-TTTTTACTTATCAAA     | 427 |
| Sbjct | 402 | AGGGCATGCCTGTTGAGTGCATTAAATTCTCAACTTATAAGTTTTTTACTTATCAAA     | 461 |
| Query | 428 | GCTTGGATGTTGGAGGCTTGCAGGCGTTTGTGAGCTCCTCTTAAATTGATTAGTGGGAAC  | 487 |
| Sbjct | 462 | GCTTGGATGTTGGAGGCTTGCAGGCGTTTGTGAGCTCCTCTTAAATTGATTAGTGGGAAC  | 521 |
| Query | 488 | CCTGTTTGTAGTTCTAACCTTGGTGTGATAATTATCTACATTTTGGTGGAAACCTTACA   | 547 |
| Sbjct | 522 | CCTGTTTGTAGTTCTAACCTTGGTGTGATAATTATCTACATTTTGGTGGAAACCTTACA   | 581 |
| Query | 548 | ATAATAAAGCTCTATTGGTTTGGGTTGTTGCATTTAGTTGCTCAATCTGTTCTATTTCAT  | 607 |
| Sbjct | 582 | ATAATAAAGCTCTATTGGTTTGGGTTGTTGCATTTAGTTGCTCAATCTGTTCTATTTCAT  | 641 |
| Query | 608 | TGGAGCACAAGGAAGTCCCGCTTCTAACTGTCTTGATTGACTATATATAACTTATTG     | 667 |
| Sbjct | 642 | TGGAGCACAAGGAAGTCCCGCTTCTAACTGTCTTGATTGACTATATATAACTTATTG     | 701 |
| Query | 668 | CTTGACCTCAAATCAGGTAGGATTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAA              | 715 |
| Sbjct | 702 | CTTGACCTCAAATCAGGTAGGATTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAA              | 749 |

### 3. 结果与讨论

测定马桑菌 Strain HUB034 18S ribosomal 核糖体 RNA gene 和马桑菌 Strain YAASM366 18S ribosomal

RNA gene。其结果为：马桑菌 Strain HUB034 18S ribosomal 核糖体 RNA gene 含有 714~746 个碱基配对。马桑菌 Strain YAASM366 18S ribosomal RNA gene 含有 715~749 个碱基配对。

由于野生马桑菌在驯化栽培过程中，只能用马桑树椴木或马桑树粉碎成木屑栽培才能长出马桑菌子实体，用其他壳叶树种椴木或木屑种植马桑菌都未能长出马桑菌子实体。因此作者认为通过测定马桑菌 Strain HUB034 18S ribosomal 核糖体 RNA gene 和马桑菌 Strain YAASM366 18S ribosomal RNA gene 与其他香菇属中的这一片段进行比对。看它们有无差异才能确定马桑菌是否是香菇属中的新种？对此有待于对其他香菇品种的核糖体 RNA 的测定后才能有所定论。

## 基金项目

课题任务书合同编号：黔科合 NZ[2015]3001-6；黔科合 NZ[2015]3001-5；黔科合支撑[2016] 2600 号；黔科合 SZ[2008]3018；贵州省基金项目(黔科合基础[2018]1147)。

## 参考文献

- [1] 邹方伦, 宋培浪, 王坡, 等. 中国贵州高等真菌原色图鉴[M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2009: 100-101.
- [2] 龙汉武, 潘高潮, 乔东生, 邹方伦, 孙燕. 贵州省一种野生马桑香菇香气成分分析[J]. 中国食用菌, 2019, 38(1): 107-108.
- [3] 龙汉武, 潘高潮, 乔东生, 孙燕, 邹方伦. 贵州一种生长在马桑树上的野生香菇的驯化栽培[J]. 农业科学, 2018, 8(6): 563-568.