

ณัฐวิภา สุวรรณาศรัย : การศึกษาอนุกรมวิธานเชิงโมเลกุลของเชื้อราในกลุ่ม
XYLARIACEAE (MOLECULAR TAXONOMIC STUDIES OF SELECTED
MEMBERS OF THE XYLARIACEAE (FUNGI)) อาจารย์ที่ปรึกษา :
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรสิทธิ์ รอดทอง, 352 หน้า. ISBN 974-533442-1

การศึกษาเพื่อการระบุและจัดจำแนกชนิดของเชื้อราในกลุ่ม Xylariaceae โดยใช้ข้อมูลทางชีววิทยาโมเลกุลนี้เพื่อช่วยแก้ปัญหาที่ไม่สามารถระบุและจัดจำแนกชนิดของเชื้อราที่มีลักษณะทางสัณฐานที่ใกล้เคียงกันมากและชนิดที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ โดยได้ศึกษาตัวอย่างเชื้อราจากแหล่งอ้างอิงจำนวน 31 ตัวอย่าง และแหล่งธรรมชาติจำนวน 338 ตัวอย่าง จาก 14 พื้นที่ใน 11 จังหวัดของประเทศไทย ซึ่งจากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานและทางเคมีเพื่อระบุชนิดของเชื้อราจากแหล่งธรรมชาติพบว่ามีความผันแปรสูงของลักษณะทางสัณฐานและมีข้อจำกัดในการศึกษาแผนภูมิของสารทุติยภูมิ ทำให้ไม่สามารถระบุและจัดจำแนกชนิดของตัวอย่างประมาณร้อยละ 30 (จาก 338 ตัวอย่าง) จากนั้นได้ศึกษาโดยใช้เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลโดยหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 18S rDNA ซึ่งพบว่ามีขนาดประมาณ 2,000 ถึง 2,200 คู่เบส และ/หรือส่วน Internal transcribed spacer (ITS) 1 และ 2 รวมทั้ง 5.8S rDNA (ITS1-5.8S-ITS2) ซึ่งพบว่ามีขนาดประมาณ 500 ถึง 900 คู่เบส เมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ภายในกลุ่มของเชื้อราที่ศึกษาและจากฐานข้อมูล GenBank พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราที่ศึกษาแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันและสามารถระบุชนิดของตัวอย่างเชื้อราที่มีปัญหาได้อย่างชัดเจน และเมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาจัดแนวความสัมพันธ์ที่เหมาะสม พบความผันแปรสูงที่สุดในส่วน ITS1 ซึ่งเป็นประโยชน์ในการออกแบบ primers และ probes ที่จำเพาะต่อเชื้อ จากการศึกษความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในรูปของ Phylogenetic tree ของเชื้อราที่ศึกษา พบว่าสามารถอธิบายความสัมพันธ์ของเชื้อราแต่ละชนิดได้และสามารถยืนยันผลของการพบเชื้อราชนิดใหม่ได้อย่างชัดเจน ทั้งนี้พบว่าเชื้อราที่ได้จากแหล่งธรรมชาติทั้งสิ้นมี 9 สกุล (*Astrocystis*, *Biscogniauxia*, *Camillea*, *Daldinia*, *Hypoxylon*, *Kretzschmaria*, *Nemania*, *Rosellinia* และ *Xylaria*) 59 ชนิด ซึ่งรวมชนิดใหม่ 9 ชนิด คือ *Biscogniauxia* 1 ชนิด *Hypoxylon* 5 ชนิด และ *Xylaria* 3 ชนิด ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ยังเป็นข้อมูลสำคัญในการสร้างฐานข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราในกลุ่ม Xylariaceae ในประเทศไทย

สาขาวิชาจุลชีววิทยา
ปีการศึกษา 2548

ลายมือชื่อนักศึกษา ณัฐวิภา สุวรรณาศรัย
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ศาสตราจารย์ ดร. รอดทอง
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม Assoc. Prof. Dr. Whalley
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม Dr. Mr.

NUTTIKA SUWANNASAI : MOLECULAR TAXONOMIC STUDIES OF
SELECTED MEMBERS OF THE XYLARIACEAE (FUNGI). THESIS
ADVISOR : ASST. PROF. SUREELAK RODTONG, Ph.D. 352 PP.
ISBN 974-533442-1

XYLARIACEAE/NUCLEOTIDE SEQUENCE/PHYLOGENY/INTERNAL
TRANSCRIBED SPACER REGIONS

Species identification and classification of the fungi in the family Xylariaceae based on their molecular data were studied for resolving undescribed species, which were closely related in their morphological characteristics, and some were uncultured specimens. In this study, thirty one specimens from reference sources and three hundred and thirty eight specimens from natural habitats of 14 localities in different 11 provinces of Thailand were examined. Morphological and chemical characterisation results showed high morphological variations and limitations in their secondary metabolite profiles. Approximately 30 % of all collected specimens could not be identified. The molecular technique was then performed. Nucleotide sequences of 18S rDNA having approximately 2,000 to 2,200 bp, and/or the internal transcribed spacer (ITS) 1 and 2 regions including 5.8S rDNA (ITS1-5.8S-ITS2) having approximately 500 to 900 bp, were achieved. The comparison of these nucleotide sequences within specimens examined and sequences from GenBank database exhibited clearly separations among xylariaceous species and these sequences can be used to identify the problem fungi. When the whole ITS sequences were aligned, they revealed the greatest variation in ITS1 region, which was suitable to design specific

primers and probes for these particular strains. The phylogenetic trees showed clear relationships within xylariaceous species and also could be used to confirm results of the finding of new species. From this study, the xylariaceous fungi were identified as belonging to nine genera; *Astrocystis*, *Biscogniauxia*, *Camillea*, *Daldinia*, *Hypoxylon*, *Kretzschmaria*, *Nemania*, *Rosellinia* and *Xylaria*, and were represented by fifty nine species, including nine new species, which one, five, and three species belonged to *Biscogniauxia*, *Hypoxylon*, and *Xylaria* respectively. In addition, these molecular data are valuable for the creation of the DNA sequence database of the xylariaceous fungi found in Thailand.

School of Microbiology

Academic Year 2005

Student's Signature Nutlika Suwanrasai

Advisor's Signature Suradek Rattong

Co-advisor's Signature Aswaleey

Co-advisor's Signature S. Thiruvirun