

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การจำแนกราเอคโตไมคอร์ไรซาของไม้วงศ์ยางในป่าเต็งรังโดยใช้ลำดับเบสของ Internal Transcribed Spacer (ITS) และ Mitochondrial Large Subunit Ribosomal DNA
หน่วยกิตของวิทยานิพนธ์	12 หน่วย
โดย	นางสาวทัศนีย์ ยุทธสิทธิ์โยธิน
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. ทวีรัตน์ วิจิตรสุนทรกุล ดร. ศันสนลักษณ์ รัชฎาวงศ์
ระดับการศึกษา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา	2544

บทคัดย่อ

ไม้วงศ์ยางเป็นไม้ที่พบในป่าเขตร้อนมีลำต้นตั้งตรงและสูงใหญ่จึงมีการนำมาใช้ในการก่อสร้างบ้านเรือนและเฟอร์นิเจอร์ทำให้ถูกตัดโค่นลงเป็นอย่างมาก ดังนั้นการปลูกสร้างป่าไม้อย่างจึงได้รับความสนใจมากขึ้น ไม้ในวงศ์นี้เป็นไม้ที่มีราเอคโตไมคอร์ไรซาอาศัยอยู่ร่วมกับรากพืชแบบพึ่งพาอาศัยกัน (symbiosis) พืชจะได้รับสารอาหารต่างๆ จากรากทำให้พืชเจริญเติบโตได้ดี การนำราเอคโตไมคอร์ไรซามาใช้ในการปลูกสร้างป่าจำเป็นต้องศึกษาประสิทธิภาพของราซึ่งจะขึ้นอยู่กับชนิดและรูปแบบความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตทั้งสอง ดังนั้นจึงต้องมีการสำรวจความหลากหลายของราเอคโตไมคอร์ไรซาที่อาศัยอยู่ร่วมกับรากพืชในธรรมชาติ การจำแนกชนิดของราเอคโตไมคอร์ไรซาที่อาศัยอยู่ร่วมกับรากพืชยังมีข้อจำกัด เนื่องจากโดยทั่วไปมักจะใช้วิธีการจำแนกชนิดจากรูปร่าง (morphology) ของรากพืชที่มีราเอคโตไมคอร์ไรซาอาศัยร่วมด้วยและดอกเห็ดที่ขึ้นบริเวณโคนต้น รวมทั้งการทดสอบความสามารถของราในห้องทดลองซึ่งต้องการผู้ที่มีความชำนาญ การพัฒนาเทคนิคทางอนุพันธุศาสตร์ช่วยให้การศึกษานี้เป็นไปได้รวดเร็วขึ้น งานวิจัยนี้เป็นการนำเอาเทคนิคทางอนุพันธุศาสตร์มาใช้ในการจำแนกชนิดของราเอคโตไมคอร์ไรซาของไม้วงศ์ยางในป่าเต็งรังโดยการใช้เทคนิค PCR ในการเพิ่มปริมาณ ribosomal DNA ส่วนที่เรียกว่า internal transcribed spacer (ITS) ซึ่งได้แก่ ITS1 5.8SrDNA และ ITS2 และ mitochondrial large subunit (mt LrDNA) แล้วนำไปหาลำดับเบสเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการเปรียบเทียบความเหมือน (identity) ของตัวอย่างราเอคโตไมคอร์ไรซาที่อาศัยร่วมกับรากพืชกับตัวอย่างเห็ดที่พบในป่าเต็งรัง รวมทั้งเห็ดเอคโตไมคอร์ไรซาจากฐานข้อมูล จากการศึกษาราเอคโตไมคอร์ไรซาที่อาศัยร่วมกับรากพืชไม้วงศ์ยางในป่าเต็งรังในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียง

เฉียงเหนือทั้งสิ้น 38 ตัวอย่าง จากสถานที่ 3 แห่งคือ สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ จังหวัดเชียงใหม่ อุทยานแห่งชาติตาลุง จังหวัดแม่ฮ่องสอน และบริเวณสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อม สะแกราชและวัดเขาตะกรุด จังหวัดนครราชสีมา เมื่อเปรียบเทียบลำดับเบสของ ITS และ mt LrDNA โดยตรงจากตัวอย่างรากไม้ในวงศ์ยางที่มีราเอคโตไมคอร์ไรซาอาศัยอยู่ร่วมกับเห็ด ที่เก็บในสถานที่เดียวกันและลำดับเบสที่มีอยู่ในฐานข้อมูลรวมทั้งเปรียบเทียบโดยการสร้าง phylogenetic tree ของลำดับเบส ITS พบว่าราในกลุ่ม Thelephoroid (*Thelephora* spp. และ *Tomentella* spp.) และวงศ์ *Russulaceae* (*Russula* spp. *Lactarius* spp. และ *Gymnomyces* sp.) เป็น ราเอคโตไมคอร์ไรซาที่พบเป็นส่วนใหญ่ ราทั้งสองกลุ่มนี้สามารถพบได้ในทุกพื้นที่ที่ทำการเก็บ ตัวอย่างและบางชนิดเป็นราที่สามารถอาศัยร่วมกับรากไม้วงศ์ยางได้หลายชนิด (broad host range) นอกจากนี้ยังพบราเอคโตไมคอร์ไรซาที่เป็นราในวงศ์ *Cortinariaceae* กลุ่ม Cortinaroid และ *Inocybe* spp.) และราเอคโตไมคอร์ไรซาในวงศ์ *Sclerodermataceae* (*Scleroderma* sp. และ *Pisolithus* spp.) ในบางพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างด้วย

คำสำคัญ (Keywords) : เอคโตไมคอร์ไรซา / ไม้วงศ์ยาง / ป่าเต็งรัง / Internal transcribed spacer/
Mitochondrial large subunit ribosomal DNA

Thesis Title	Identification of Ectomycorrhizal Fungi of <i>Dipterocarpaceae</i> in Dry Dipterocarp Forests Based on Sequences of Internal Transcribed Spacer (ITS) and Mitochondrial Large Subunit Ribosomal DNA
Thesis Credits	12
Candidate	Miss Tassanee Yuttasityotin
Supervisors	Dr. Taweerat Vichitsoonthonkul Dr. Sansanarak Ratchadawong
Degree of Study	Master of Science
Division	Biotechnology
Academic Year	2001

Abstract

The family *Dipterocarpaceae* forms a dominant family in tropical forests. Since the structures of the plants are uniform and their wood is hard, many species have been exploited in general construction. In the last few decades, dipterocarp forests had been overlogged and degraded, thus planting dipterocarps has gained much attention. Dipterocarps are unusual among tropical trees in being associated with ectomycorrhizal fungi. Ectomycorrhizal fungi are the mutually beneficial symbioses of fungi and fine roots, and are responsible for the uptake of nutrients that support the tree growth. The potential use of ectomycorrhiza in reforestation depends upon the knowledge of biological diversity and symbiotic range between these two organisms. Therefore, the species of ectomycorrhizal fungi in the forest have essentially been identified. Prior to development of molecular techniques, the study of symbiotic relationship between these two organisms was difficult because of no simple way to identify each species. Molecular methods have facilitated this study. In this work, indigenous symbiotic fungi in ectomycorrhizae in dry dipterocarp forests were identified by amplification of internal transcribed spacer (ITS) consisting of ITS1, 5.8SrDNA, and ITS2 and a portion of mitochondrial large subunit of ribosomal DNA (mt LrDNA) using PCR technique. The sequences of the PCR products were evaluated to identify the genera of ectomycorrhizae. Thirty eight samples of ectomycorrhizal roots were collected from three dipterocarp forests in the north and north-east of

Thailand, *i.e.*, Queen Sirikit Botanic Garden in Chiangmai province, Sarawin Natural Park in Maehongson province, Sakaerat Environmental Research Center, and Takrut Rang mountain in Nakornratchasima province. Phylogenetic analyses and comparison of the DNA sequences from ectomycorrhizae and mushrooms (both in collections and available databases) were performed to identify mycorrhizal fungi. The results revealed that the most abundant of fungi were in group Thelephoroid (*Thelephora* spp. and *Tomentella* spp.) and Family *Russulaceae* (*Russula* spp., *Lactarius* spp., and *Gymnomyces* sp.). Some species of these fungi showed broad host range and distributed in all three dry dipterocarp forests. Only few species of Family *Cortinariaceae* (Cortinaroid and *Inocybe* spp.) and Family *Sclerodermataceae* (*Scleroderma* sp. and *Pisolithus* spp.) were also found in some ectomycorrhizal roots.

Keywords : Ectomycorrhizal fungi / *Dipterocarpaceae* / Dry dipterocarp forests / Internal transcribed spacer / Mitochondrial large subunit ribosomal DNA