

169578

ศศิษฐา ประเสริฐกุล : ความหลากหลายทางพันธุกรรมของเห็ดโคน *Termitomyces sp.* บนพื้นฐานของการวิเคราะห์ลำดับพันธุกรรมบริเวณไอทีเอส (GENETIC DIVERSITY OF TERMITE MUSHROOM *Termitomyces sp.* BASED ON ITS SEQUENCE ANALYSIS) อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ. มุกดา คูศิริบุญ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : อาจารย์ ดร. ปิยะศักดิ์ ชุ่มพฤษ์ 25 หน้า. ISBN 974-53-1818-3.

สำรวจและเก็บตัวอย่างเห็ดโคน *Termitomyces sp.* จากแหล่งที่พบเห็ดโคนมาก และมีชื่อเสียงในจังหวัดกาญจนบุรี และบุรีรัมย์ รวม 18 พื้นที่ พร้อมศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา ประกอบการศึกษาทางชีววิทยาโมเลกุลจากลำดับสารพันธุกรรมพบว่าสามารถแบ่งตัวอย่างออกเป็น 5 กลุ่มย่อย ได้แก่ *Termitomyces clypeatus* R. Heim *Termitomyces aurantiacus* *Termitomyces entolomoides* *Termitomyces striatus* และ *Termitomyces globulus* เมื่อนำตัวอย่างมาสกัดดีเอ็นเอโดยวิธี CTAB ได้ดีเอ็นเอบริสุทธิ์ที่มีค่าสัดส่วน OD 260/280 อยู่ในช่วง 1.7-1.9 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในบริเวณ ITS โดยใช้คู่ไพรเมอร์ ITS 4 และ ITS 5 ได้ผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอขนาดประมาณ 638.94 นิวคลีโอไทด์ ใน 17 จาก 18 ตัวอย่าง และได้ดีเอ็นเอขนาด 948 นิวคลีโอไทด์ 1 ตัวอย่าง ที่ได้จากจังหวัดบุรีรัมย์ ชิ้นส่วนดีเอ็นเอดังกล่าวเมื่อนำไปโคลนเข้าสู่พลาสมิด pCR II ด้วยเทคนิค TA Cloning สามารถคัดเลือกแบคทีเรียตัวงานยาปฏิชีวนะได้ไม่น้อยกว่า 60 โคลนีต่อชนิดตัวอย่าง ซึ่งสามารถตรวจสอบชิ้นดีเอ็นเอที่โคลนได้จากการตรวจสอบพลาสมิดด้วยชุดตรวจสอบ Direct two view การสกัด DNA small scale plasmid preparation และการเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR ได้ตัวอย่างละ 3 โคลนี เมื่อนำไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์พบว่าดีเอ็นเอบริเวณ ITS ในกลุ่มแรกมีขนาด 623-646 นิวคลีโอไทด์ และในกลุ่มที่ 2 มีขนาด 948 นิวคลีโอไทด์ ผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์รวมพบว่าลำดับที่พบในเห็ดโคนของประเทศจับกลุ่มและมีความแตกต่างจากของเห็ดที่พบในต่างประเทศ เมื่อนำไปวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม พบว่าเห็ดโคนตัวอย่างที่ศึกษามีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในกลุ่มย่อย 5 กลุ่มและแตกต่างทางพันธุกรรมจากตัวอย่างที่รายงานในต่างประเทศโดยมีผลการวิเคราะห์ตัวอย่าง *T. entolomoides* และ *T. clypeatus* สอดคล้องกับการจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา ขณะที่ผลการวิเคราะห์ทาง phylogenetic ในตัวอย่าง *T. globulus* *T. striatus* และ *T. aurantiacus* ซึ่งไม่สอดคล้องกับการจำแนกทางสัณฐานวิทยา อย่างไรก็ดี เมื่อพิจารณาในกลุ่มเห็ดโคนที่ศึกษาพบว่าเห็ดโคนจากบุรีรัมย์มีความแตกต่างทางพันธุกรรมกับเห็ดโคนจากจังหวัดกาญจนบุรี

4472520323 : MAJOR GENETICS

KEY WORD : ITS/ TERMITOMYCES/ TERMITE/ SEQUENCE

SAJISTA PRASERTKUL : GENETIC DIVERSITY OF TERMITE MUSHROOM

Termitomyces sp. BASED ON ITS SEQUENCE ANALYSIS. THESIS ADVISOR :

ASSOC.PROF. MUKDA KUHIRUN. THESIS COADVISOR : PIYASAK

CHAUMPLUK, Ph.D., 121 pp. ISBN : 974-53-1818-3.

Termite mushroom (*Termitomyces* sp) were surveyed and collected from 18 areas in Kanchanaburi and Burirum province where large populations of termite mushroom were found. Morphological studies confined samples into 5 subgroups: *Termitomyces clypeatus* R. Heim *Termitomyces aurantiacus* *Termitomyces entolomoides* *Termitomyces striatus* and *Termitomyces globules*. Further studies on nucleotide sequence was carried out. DNA were extracted from gills using CTAB method and DNA yields with their OD260/OD280 ratio varied in the range of 1.7 to 1.9. The amplification of DNA using ITS4 and ITS5 specific to ITS regions of SSU rDNA resulted in amplified products of approximately 638 nucleotides to 17 out of 18 samples from Kanchanaburi and 948 nucleotides in 1 sample from Burirum. DNA fragments were then cloned into pCRII plasmid using TA cloning strategy. And colonies resistant to antibiotic were selected from at least 60 colonies per samples. The cloned DNAs were investigated for their accurate inserted fragments via Genome Direct to View Kit, small scale plasmid preparation and PCR amplification using ITS4 and ITS5 primers. Three clones each per samples were then analyzed for their nucleotide sequence using dye termination method. It was found that DNA sequence from the first and second group are 623-646 nucleotides and 948 nucleotides respectively. DNA sequence comparison via sequence alignment revealed a distinguish sequence characteristic when compared with the foreign termite mushroom but similar among the samples. Phylogenetic relationships when analyzing using PAUP revealed 5 subgroup discrimination which distantly separated from foreign samples. The relationships of *T. entolomoides* and *T. clypeatus* were arranged in correlation with the identification using morphological study where as the others were not, however it was found that termite mushroom from Burirum were genetically in distance from those of Kanchanaburi.

Department.....Botany.....

Student's signature.....

Field of study.....Genetics.....

Advisor's signature.....

Academic year....2004.....

Co-advisor's.....