

**Thesis Title** Biodiversity of Saprobiic and Pathogenic Fungi on Selected *Pandanus* and *Dracaena lourieri*

**Author** Miss Sutheera Thongkantha

**Degree** Doctor of Philosophy (Biology)

<b>Thesis Advisory Committee</b>	Assoc. Prof. Dr. Saisamorn Lumyong	Chairperson
	Dr. Eric H.C. McKenzie	Member
	Prof. Dr. Kevin D. Hyde	Member

## ABSTRACT

Studies of fungi on *Dracaena* and *Pandanus* were initiated in Thailand (Chiang Mai, Phayao and Rayong Provinces) in order to investigate the ecology and biodiversity of saprobiic and pathogenic fungi from two wild plants, *Dracaena lourieri* and *Pandanus penetrans*, and two cultivated plants, *P. amaryllifolius* and *P. odoratissimus*.

Saprobiic fungi were investigated from 160 samples of decaying tissues, particularly leaves of *D. lourieri* and *Pandanus* spp. One-hundred and twenty-six fungi were identified comprising 39 ascomycetes, 1 basidiomycete and 86 anamorphic fungi. *Stachybotrys chartarum* (70% of occurrence), was the most common taxon found on *D. lourieri* samples. *Sporidesmium ghanaense* and *Phaeosphaeria* sp. (63%) were the dominant species from *P. penetrans*. *Acremonium* sp. 6 (100%) was the most common species on *P. amaryllifolius*, while *Aspergillus parasiticus* (67%) was the most commonly encountered species from *Pandanus odoratissimus*. Distinct fungal communities were found on samples of *Dracaena* and *Pandanus* species. In terms of the numbers of taxa recovered, fungi were more diverse on wild species than on the cultivated species. Eleven new taxa were

identified in this study. *Linocarpon siamensis* sp. nov. and *L. suthepensis* sp. nov. have recently been described. *Myrothecium pandanicola* sp. nov., *Ophioceras chiangdaoensis* sp. nov., *Oxydothis siamensis* sp. nov. *Phaeonectriella pandani* sp. nov. and *Zygosporium bioblitzi* sp. nov. are informally described and illustrated in Chapter 4, while 4 have yet to be informally described.

Fifty-five fungal taxa were identified during the decomposition process of *Pandanus penetrans* leaves which were used as baits by hanging them on the host plants in Suthep Pui National Park. Distinct fungal communities were observed in sequence on the leaf baits, with different species being dominant at each succession stage. The greatest fungal diversity occurred between months 7 and 12 (mature stage). At month 18, the fungal communities had decreased in number and the leaf baits had completely decayed. Only half of the fungi occurred on both baits and natural leaves of *P. penetrans*. Thus, examination of both leaf baits at different stages of decomposition and naturally occurring leaves is recommended to obtain better understanding of fungal biodiversity.

Twenty-three fungi were identified from samples showing symptoms of anthracnose on leaves, leaf blast or leaf spots. The relationships between pathogens and saprobes were determined by pathogenicity testing. Selected pathogens and saprobes including *Acremonium*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Guignardia*, *Oxydothis*, *Phomopsis* and *Xylaria* were inoculated on host leaves to test their pathogenicity. *Colletotrichum gloeosporioides*, *Curvularia lunata*, *Fusarium oxysporum*, *Guignardia* sp. and *Phomopsis* sp. caused disease lesions on the leaves of *Dracaena* or *Pandanus* species. This result confirms earlier reports that many fungal pathogens may be live in their host, long after the host is dead.

The phylogeny of the family Magnaportheaceae and allied genera were investigated using individual and combined analyses of 18S and 28S nuclear ribosomal DNA (rDNA) gene fragments. New DNA sequences representing 6 genera from Magnaportheaceae were analyzed phylogenetically based on Bayesian, likelihood and parsimony methods. Magnaportheaceae, encompassing genera such as *Buergerula*, *Gaeumannomyces*, *Magnaporthe*, *Mycoleptodiscus*, *Ophioceras*, *Pseudohalonectria* and *Pyricularia* constitute a strongly supported monophyletic clade. Phylogenies indicate that Magnaportheaceae bears close phylogenetic affinities

with the order Diaporthales and Ophiostomatales. However, there appears to be sufficient evidence to establish a new order to accommodate the Magnaporthaceae. Results also indicate that *Ophioceras* is probably monophyletic with the exception of *O. tenuisporum*. *Magnaporthe salvinii* is more closely related to *Gaeumannomyces* than *M. grisea*, which clusters with *Pyricularia borealis*. The placement of *Mycoleptodiscus coloratus* and *Ceratosphaeria lampadophora* within the Magnaporthaceae is confirmed. Molecular data also provides further evidence to support the association of several anamorphic genera within the ascomycetous Magnaporthaceae. The phylogenetic significance of several morphologies currently used in the classification of members among Magnaporthaceae is discussed.

**Key words:** *Dracaena lourieri*, *Pandanus amaryllifolius*, *P. odoratissimus*, *P. penetrans*, pathogens, saprobes

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright<sup>©</sup> by Chiang Mai University  
All rights reserved

## ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

ความหลากหลายทางชีวภาพของราเชป โพรนและราคก่อโรค  
ในเตยที่เลือกสรรและจันทน์ผา

ผู้เขียน

นางสาวสุธีรा ทองกันทา

ปริญญา

วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (ชีววิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ.ดร. สายสมร ถ่ายอง

Dr. Eric H.C. McKenzie

Prof. Dr. Kevin D. Hyde

ประธานกรรมการ

กรรมการ

กรรมการ

## บทคัดย่อ

การศึกษาเชื้อรากในจันทน์ผาและเตยบางชันคิดที่เจริญในป่า ในสวนหรือบริเวณชายทะเลของประเทศไทย (เชียงใหม่ พะเยา และระยอง) มีจุดมุ่งเน้นเพื่อศึกษาความหลากหลายของราเชป โพรนและราคก่อโรคที่เจริญในพืชป่า 2 ชนิดคือ จันทน์ผา (*Dracaena lourieri*) และเตยป่า (*Pandanus penetrans*) และพืชปลูก 2 ชนิดคือ เตยก่อน (*P. amaryllifolius*) และเตยทะเล (*P. odoratissimus*)

ทำการศึกษาราชาโพรน จากเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ โดยเฉพาะใบของจันทน์ผาและเตย 3 ชนิด ทั้งหมด 160 ตัวอย่าง สามารถบ่งบอกชนิดได้ 126 สปีชีส์ ประกอบด้วย 3 กลุ่ม คือ กลุ่ม basidiomycetes 1 ชนิด กลุ่ม ascomycetes 39 ชนิด และกลุ่มที่สืบพันธุ์แบบไม่ออาศัยเพศ 86 ชนิด *Stachybotrys chartarum* เป็นราชนิดที่พบมากที่สุดในจันทน์ผาป่า (70%) ส่วน *Sporidesmium ghanaense* และ *Phaeosphaeria* sp. พ奔มากที่สุดในเตยป่า (63%) ในเตยก่อนพบ *Acremonium* sp. 6 (100%) มากที่สุดในเตยก่อน และ *Aspergillus parasiticus* พ奔มากที่สุด (67%) ในเตยทะเล จากการศึกษาพบว่าชนิดพืชมีผลต่อชนิดและจำนวนของเชื้อรากที่พบ และเชื้อรากที่พบในพืชป่ามีความหลากหลายมากกว่าเชื้อรากที่พบในพืชปลูก นอกจากนี้ยังพบเชื้อรากนิดใหม่ 7 ชนิด คือ *Linocarpon siamensis* sp. nov., *L. suthepensis* sp. nov., *Myrothecium pandanicola* sp. nov., *Ophioceras chiangdaoensis* sp. nov., *Oxydothis siamensis* sp. nov. *Phaeonectriella pandani* sp. nov. และ

*Zygosporium dracinicola* sp. nov. และอีก 4 ชนิดที่คาดว่าเป็นราชนิดใหม่ แต่ยังอยู่ในระหว่างการดำเนินการ เนื่องจากต้องเบริญบที่บ้านจากเอกสารอ้างอิงเพิ่มเติมอีก

การศึกษาเชื้อรานาแซฟฟ์โพรบที่เจริญบนใบเตยป่า (*Pandanus penetans*) ที่เก็บมาจากการบริเวณอุทยานแห่งชาติคือบสุเทพ-ปุบ ต่อมากำครื่องหมายและนำกลับไปบ่มไว้ในบริเวณเดิม และเก็บมาตรวจหาเชื้อรานี้เป็นช่วงๆ ตามระยะเวลาที่กำหนด พบร่องรอยของเชื้อรานาแซฟฟ์โพรบได้ในแต่ละช่วงของการบ่มสลายมีความแตกต่างกัน ความหลากหลายของเชื้อรานาแซฟฟ์โพรบมากที่สุดเมื่อบ่มตัวอย่างไว้นาน 7 และ 12 เดือน ในเดือนที่ 18 จำนวนและชนิดของราศคลง และตัวอย่างมีสภาพเปื่อยยุ่งไม่สามารถทำการทดสอบได้อีกต่อไป นอกเหนือนี้เมื่อนำผลการทดสอบดังกล่าวมาเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บจากในธรรมชาติซึ่งมีระบบการย่อยสลายใกล้เคียงกัน พบร่องรอยเชื้อรากลุ่มเดียวกันเพียงประมาณครึ่งหนึ่งเท่านั้น ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า หากต้องการได้ข้อมูลความหลากหลายของราแซฟฟ์โพรบที่ครบถ้วนมากขึ้น ควรทำการศึกษาทั้งจากตัวอย่างที่เก็บจากธรรมชาติ และตัวอย่างที่บ่มไว้ในแต่ละระยะของการสลายของเนื้อเยื่อพืชด้วย

จากการเก็บและรวบรวมตัวอย่างโรคของจันทน์ผ้าและเตย พบร่องรอยโรค 23 ชนิด จากใบพืชที่แสดงอาการของโรค anthracnose ในใบมี หรือใบฤดู หลังจากนั้นได้คัดเลือกราเอนโดยไฟค์ราก่อโรค และราชาโพรบที่แยกได้คือสปีชีส์ของ *Acremonium*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Guignardia*, *Oxydothis*, *Phomopsis* และ *Xylaria* มาทดสอบความสามารถในการก่อโรคโดยการปลูกเชื้อบนใบจันทน์ผ้าและใบเตย จากการทดสอบพบว่า *Colletotrichum gloeosporioides*, *Curvularia lunata*, *Fusarium oxysporum*, *Guignardia* sp. และ *Phomopsis* sp. สามารถทำให้เกิดโรคได้ ซึ่งผลการทดสอบนี้สามารถยืนยันได้ว่าเชื้อราก่อโรคพืชบางชนิดอาจจะปรับตัวและมีชีวิตต่อไปแม้ว่าเนื้อเยื่อพืชจะตายไปแล้ว

ในการศึกษาวิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระดับพันธุกรรมของเชื้อรานาแซฟฟ์ต่างๆ ในวงศ์ Magnaporthaceae 7 จินต์ส ประกอบด้วย 5 จินต์สซึ่งเป็น teleomorph ได้แก่ *Buergenerula*, *Gaeumannomyces*, *Magnaporthe*, *Ophioceras* และ *Pseudohalonectria* และ 2 จินต์สซึ่งที่เคยมีรายงานว่าเป็น anamorph ของเชื้อรานาวนี้ ได้แก่ *Mycoleptodiscus* และ *Pyricularia* กับเชื้อรานาในวงศ์อื่นๆ โดยเฉพาะเชื้อกลุ่มที่มีลักษณะทางสัณฐานคล้ายกับเชื้อรานาในวงศ์นี้ โดยทำการเพิ่มปริมาณ rDNA ในส่วนของ 18S และ 28S โดยใช้ universal primer จากนั้นทำการหาลำดับเบสและวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการด้วยวิธีต่างๆ คือ bayesian, likelihood และ parsimony จากผลการทดสอบพบว่าเชื้อราน้ำทั้ง 7 จินต์สในวงศ์ Magnaporthaceae มีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการใกล้ชิดกันเนื่องจากปรากฏอยู่ใน clade เดียวกันด้วยค่า bootstraps หรือ bayesian support ที่สูง จากการทดสอบในครั้งนี้อาจกล่าวได้ว่าควรจัดให้เชื้อรานาในวงศ์ Magnaporthaceae นี้ให้อยู่ใน order ใหม่

อย่างไรก็ตามหากเปรียบเทียบกับเชื้อราในวงศ์หรือ order อื่นๆ พบว่ามีความสัมพันธ์ระดับพันธุกรรมใกล้เคียงกับเชื้อราใน order Diaporthales และ Ophiostomatales มากที่สุด นอกจากนี้ เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ทางวิถีนาการของเชื้อราภายในวงศ์นี้พบว่า เกือบทุกชนิดของเชื้อราในจีโนสต์ *Ophioceras* มีความสัมพันธ์ระดับพันธุกรรมใกล้ชิดกัน ยกเว้น *O. tenuisporium* แต่พบว่า *Magnaporthe salvinii* ซึ่งเป็นเชื้อรากนิดแรกของวงศ์นี้มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับแต่ละชนิดในจีโนสต์ *Gaeumannomyces* มากกว่า *M. grisea* ซึ่งจับกลุ่มอยู่กับ *Pyricularia borealis* นอกจากนี้ยังสามารถยืนยันการจัดให้ *Mycoleptodiscus coloratus* และ *Ceratosphaeria lampadophora* อยู่ในวงศ์ Magnaportheaceae

คำสำคัญ: จันทน์ผา, เตยหอม, เตยกะเล, เตยป่า, ราแซฟโพรง, รากอโ Rodríguez

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright © by Chiang Mai University  
All rights reserved