

The current study in mushroom taxonomy and Thai truffles



Prof. Dr. Saisamorn Lumyong

Department of Biology, Faculty of Science,
Chiang Mai University, 50200, Thailand

E-mail: saisamorn.l@cmu.ac.th
scboi009@gmail.com





**Department of Biology,
Faculty of Science,
Chiang Mai University**

**Sustainable Development of
Biological Resources Laboratory**



The group of living organisms

- Tree of life: evolution and phylogenetic

- 3 domains

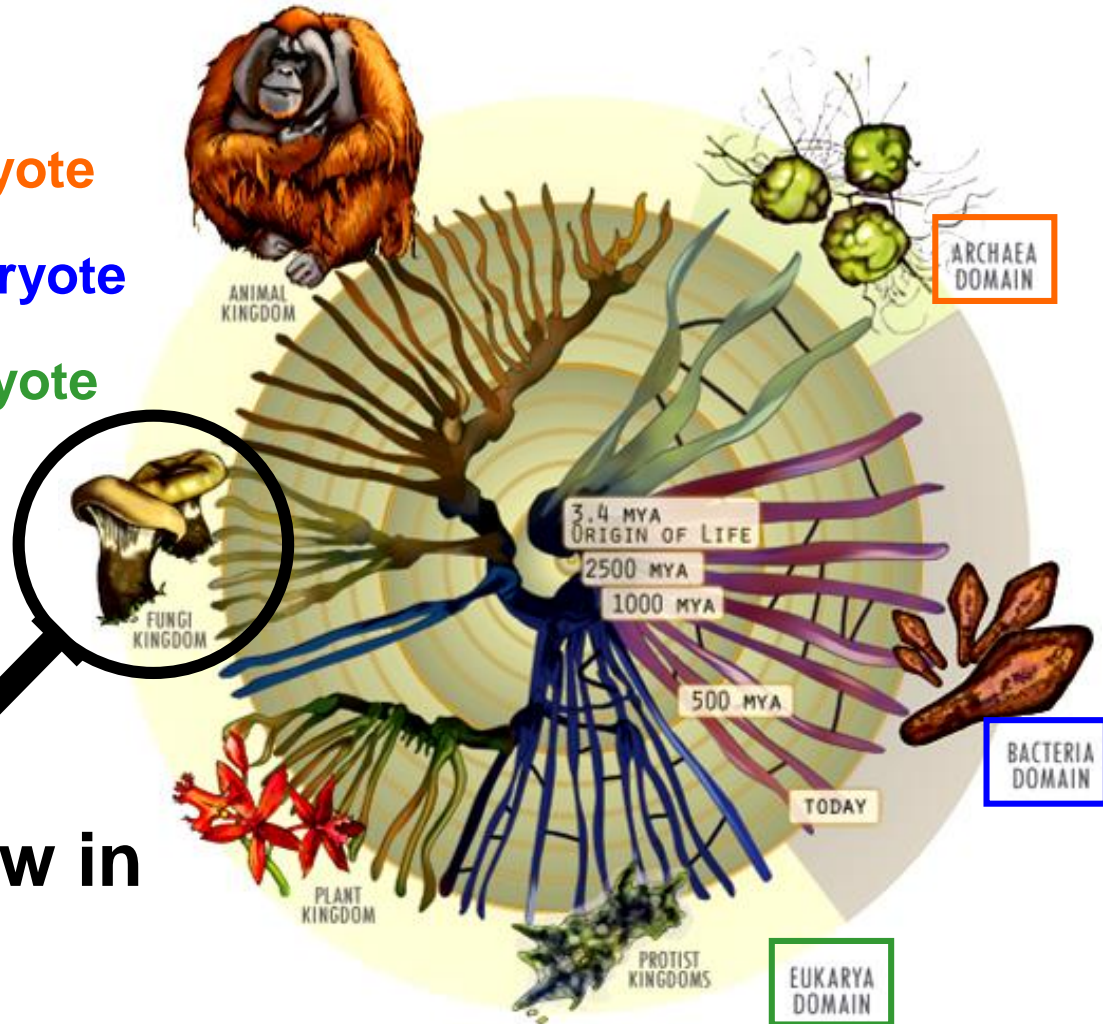
1. **Achaea:** prokaryote

2. **Bacteria:** prokaryote

3. **Eukarya:** eukaryote

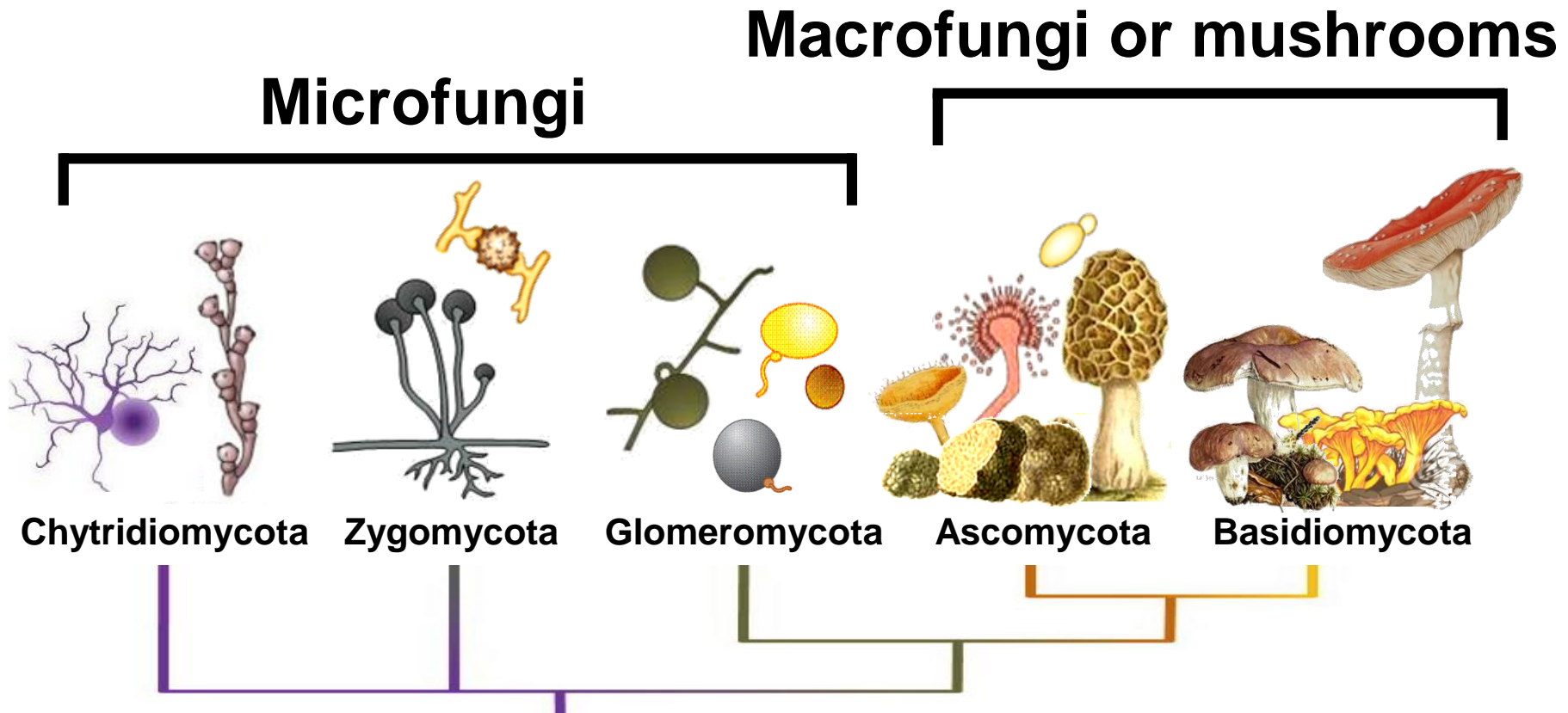
The forgotten kingdom

What should we know in the Kingdom fungi?



What are the fungi?

- A member in the Eukarya domain:
Kingdom separated from plants and animals
- Study of fungi is known as “**mycology**”



Estimation of total fungal numbers on the earth

- Hypothesis: the estimation of based on ratios of known fungi to plant species

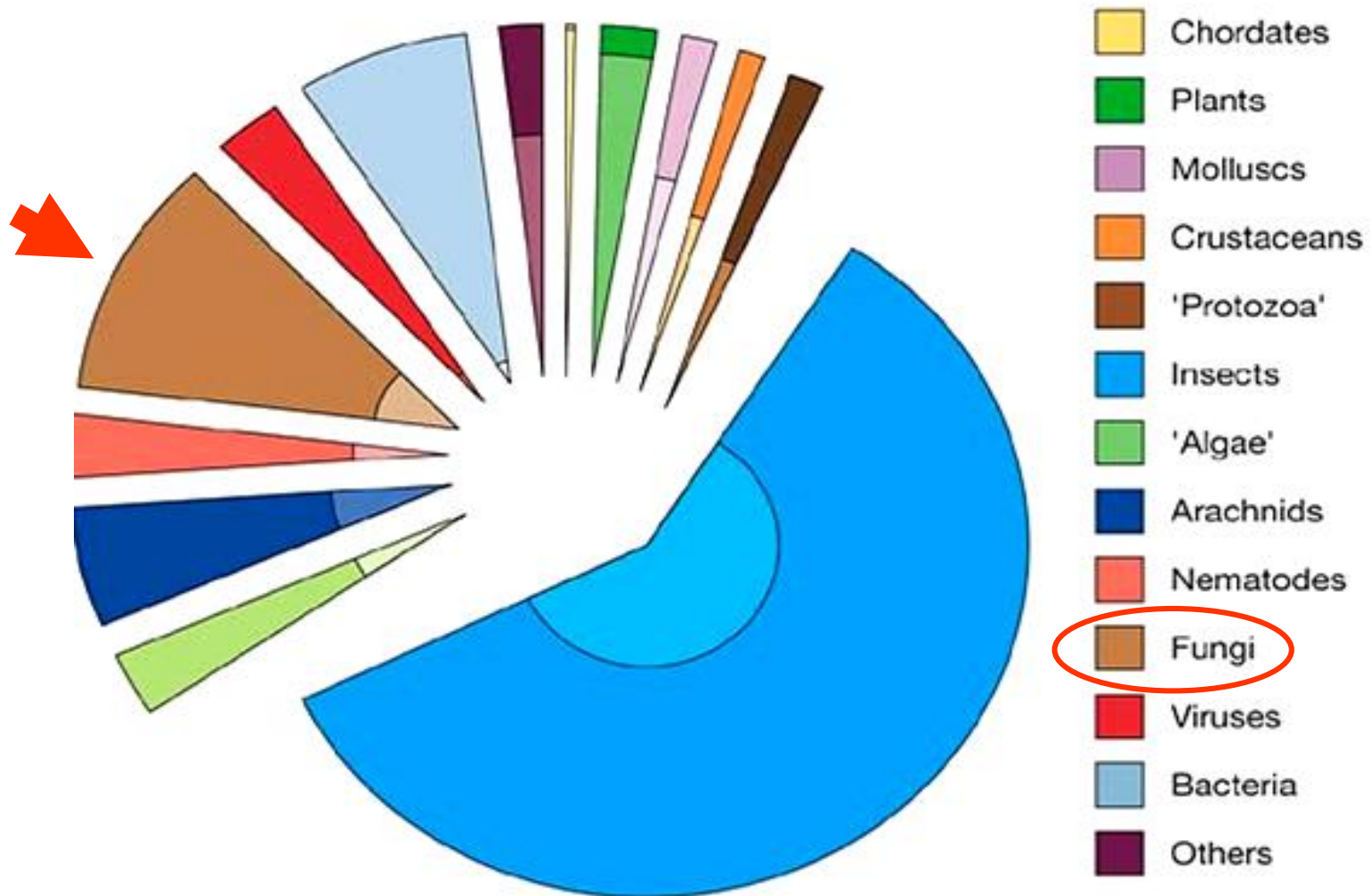
- In 1991, **1.5 million** fungal species were estimated by Hawksworth (1991)

Fungi to plant ratio of 6 : 1

- In 2005 to present , **3.5 to 5.1 million** fungal species were estimated by O'Brien et al. (2005)

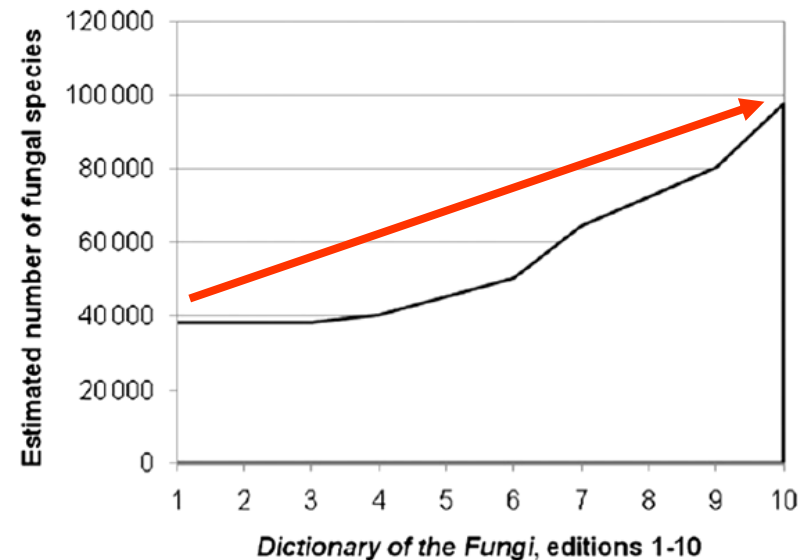
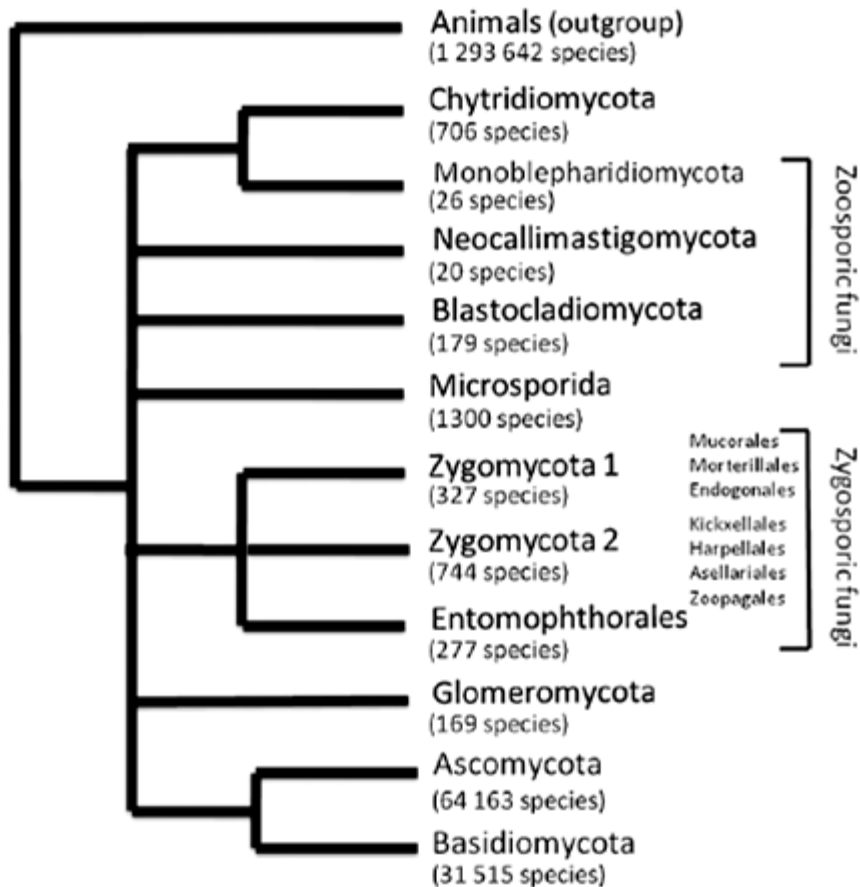
Fungi to plant ratio of 10.6 : 1

- Fungi have been calculated in **5%** of all recovered organisms on the earth



Known fungal species

- The *10th Dictionary of Fungi* reported **97,330** fungal species



(Kirk et al., 2008; Blackwell, 2011: *American Journal of Botany*)

Several fungal type

- Dividing from their role in ecosystem

1. Saprobic: growing on dead organic matter

2. Symbiosis: growing in association with other organisms

- Mycorrhizal fungi

- Endophytic fungi

- Insect associated fungi

3. Pathogenic and parasite: growing on living organisms

Mushrooms (macrofungi)

- The above- and below-ground fruiting bodies of fungi, which contain the organisms' reproductive spores
- Belong to basidiomycete and ascomycete
- Edible or poisonous mushrooms
- Variety of morphology
: gill, pore, puffball, cup, coral or stinkhorn



Mushroom taxonomy: current status

- **Classical taxonomy (Before 1990)**

- Morphology
- Physiology
- Biochemistry and chemotaxonomy

The classification schemes relied heavily on MACROSCOPIC FEATURES of the fruiting bodies

(However, fruiting bodies show variation in form, depending on environmental conditions)



This led to a greater reliance on MICROSCOPIC FEATURES (spores, basidia, ect.)

- **Molecular taxonomy (after 1990)**

- **Polymerase chain reaction (PCR)**

- 1-3 genes: Large subunit (LSU)

- Small subunit (SSU)

- Internal transcribed spacer (ITS)

- **DNA sequencing & phylogenetic analysis**

- **Currently taxonomy**

- **More than one collection**

- **Macro- and micromorphology**

- **Some genus need chemotaxonomy**

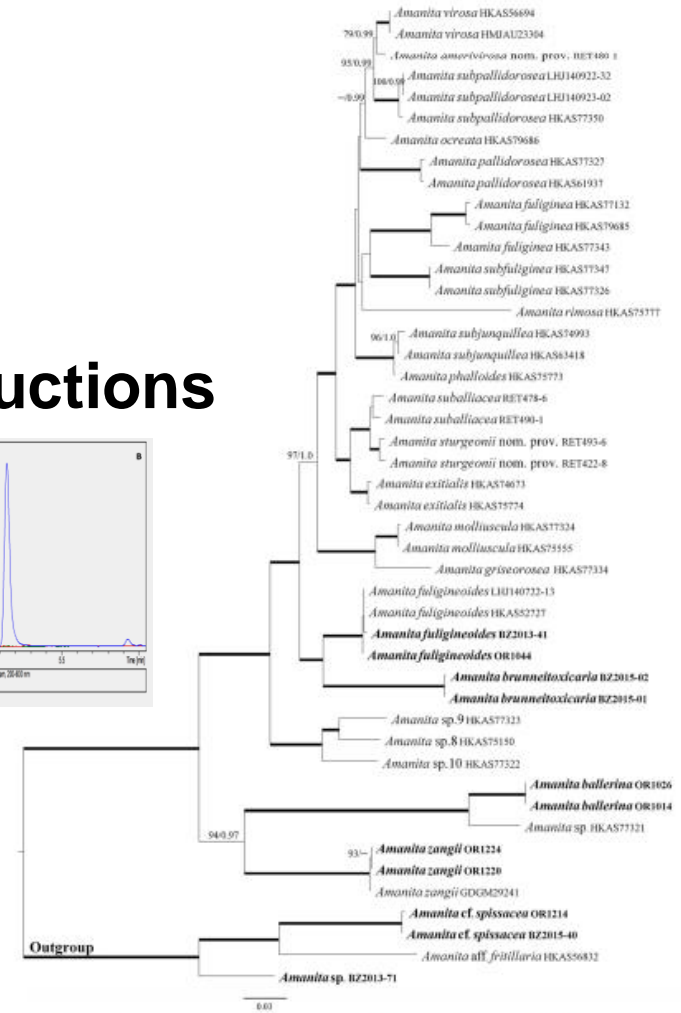
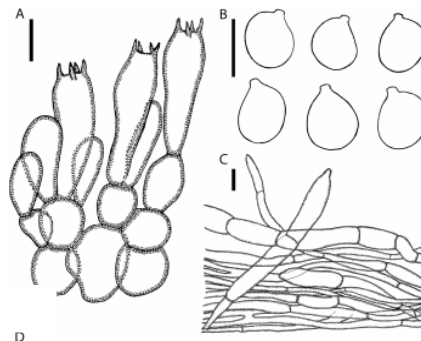
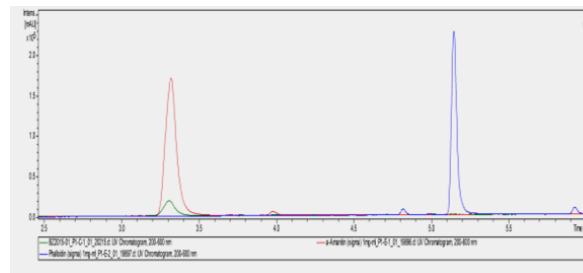
- **Molecular phylogeny**

- More than 3 genes (multi loci): LSU, ITS, SSU, beta-tubulin (*TUB*), actin (*Act*), ect.

• *Amanita*

Study of three interesting *Amanita* species from Thailand: Morphology, multiple-gene phylogeny and toxin analysis

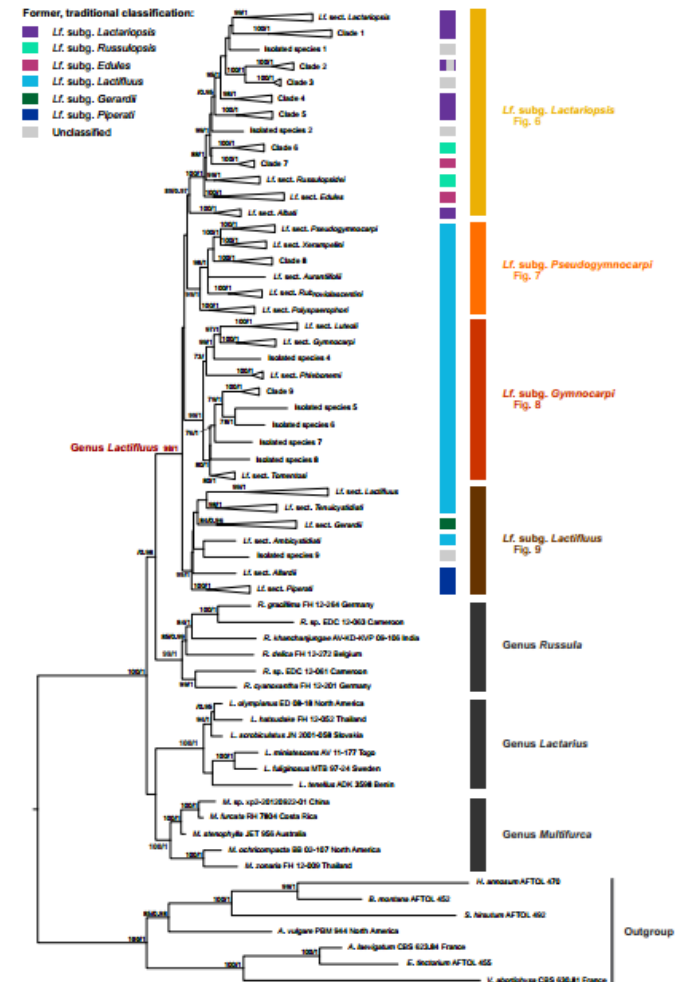
- Macro & micromorphology
- Phylogeny of multi loci: ITS, TUB & *RPB2* genes
- Amanitin and phalloidin productions



• *Lactifluus*

A multi-gene phylogeny of *Lactifluus* (Basidiomycota, Russulales) translated into a new infrageneric classification of the genus

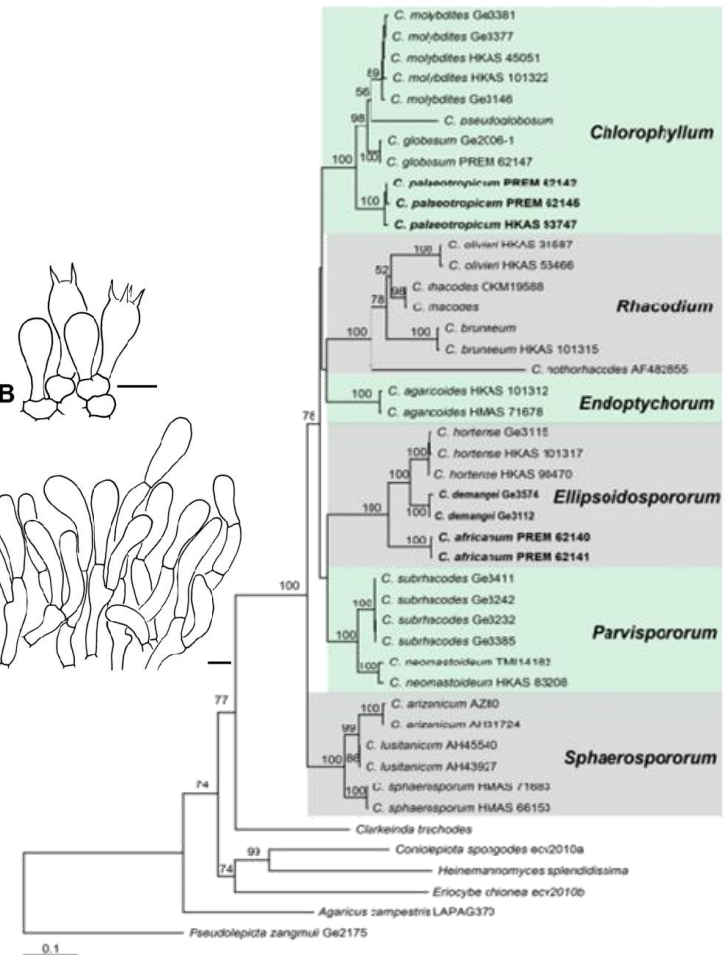
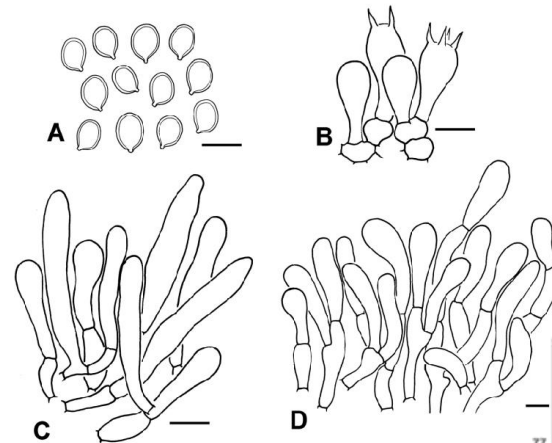
- Macro & micromorpholgy
- Phylogeny of multi loci: ITS, LSU *RPB2* & *PBR1* genes



• *Chlorophyllum*

A multi-gene phylogeny of *Chlorophyllum* (*Agaricaceae*, *Basidiomycota*): new species, new combination and infrageneric classification

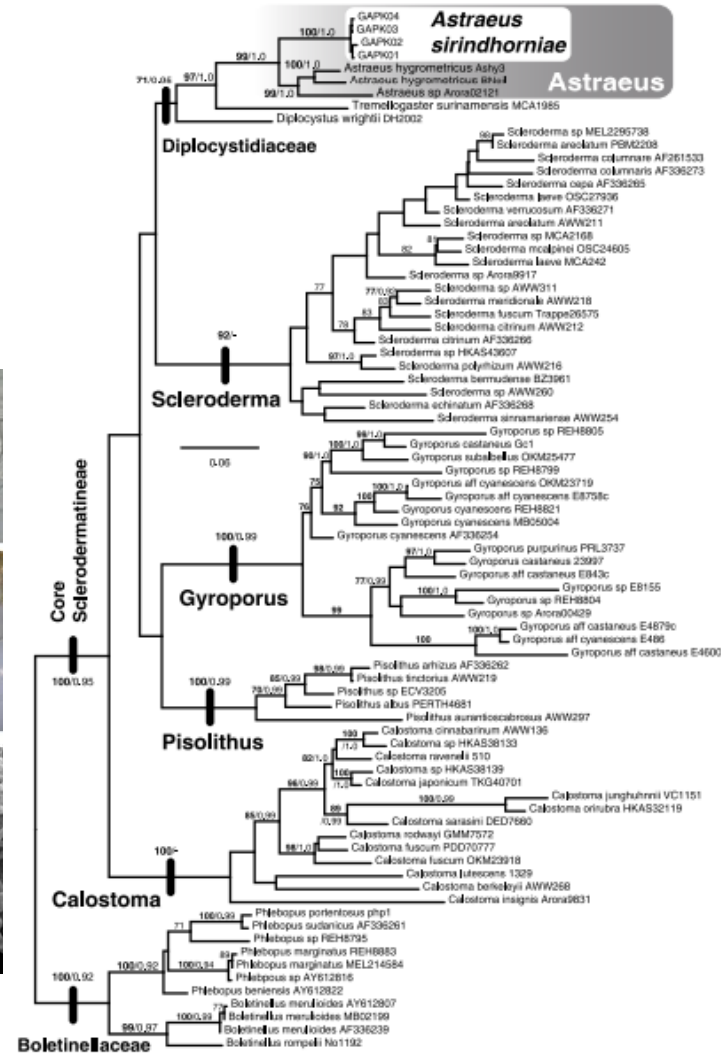
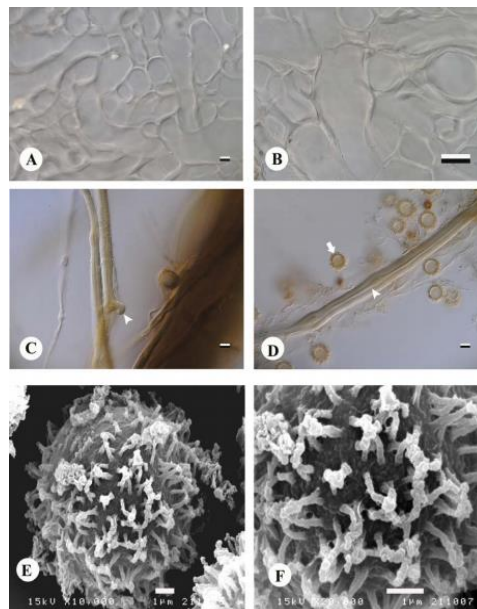
- Macro & micromorpholgy
- Phylogeny of multi loci : ITS, LSU *RPB2* & *TEF* genes



• *Astraeus*

A new representative of star-shaped fungi: *Astraeus sirindhorniae* sp. nov. from Thailand

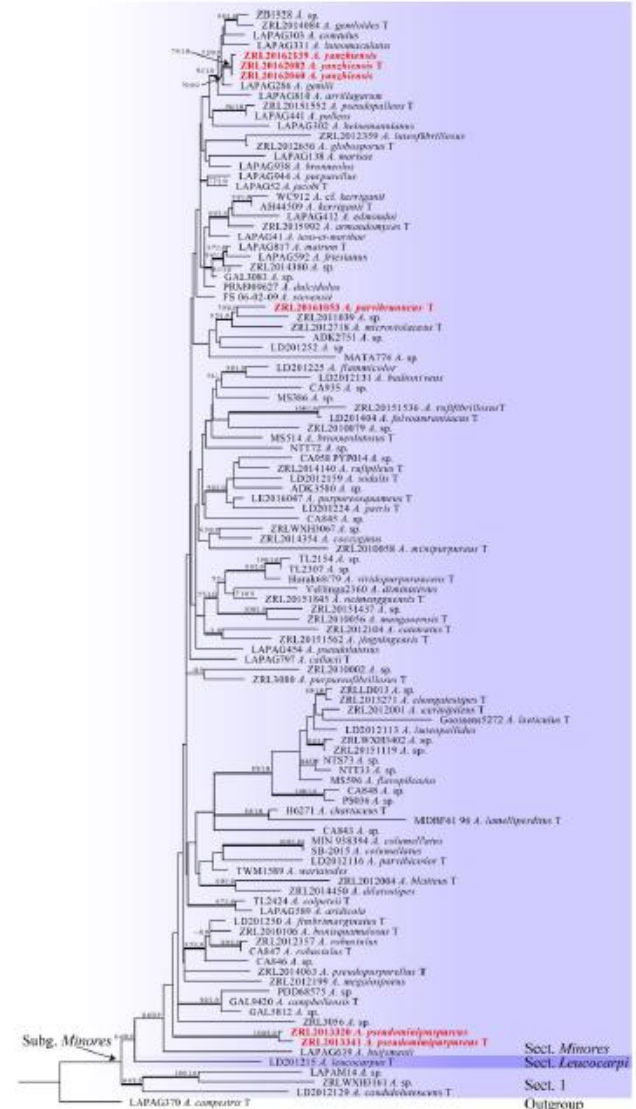
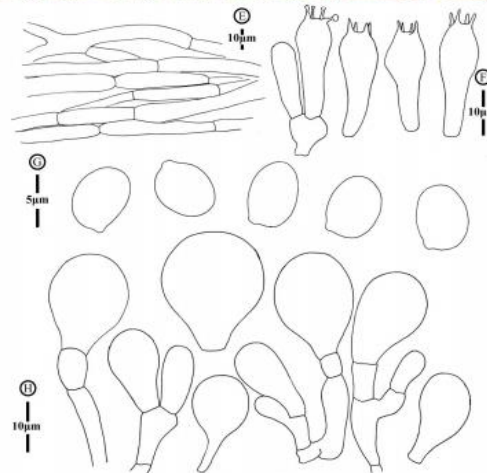
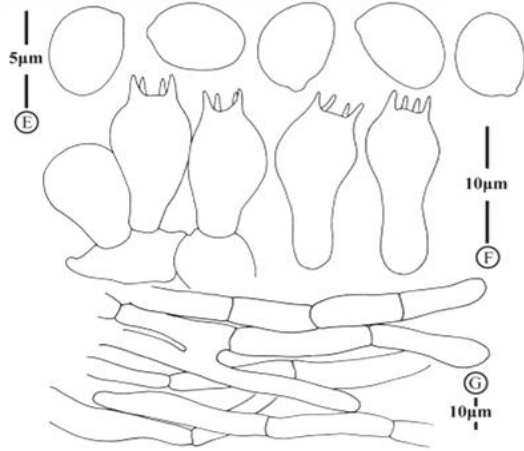
- Macro & micromorphology
- Phylogeny of multi loci:
ITS, LSU, *RPB2*, *PBR1* &
TEF genes



• *Agaricus*

Three new species of *Agaricus* section *Minores* from China

- Macro & micromorphology
- Phylogeny of multi loci: ITS, LSU & *TEF* genes

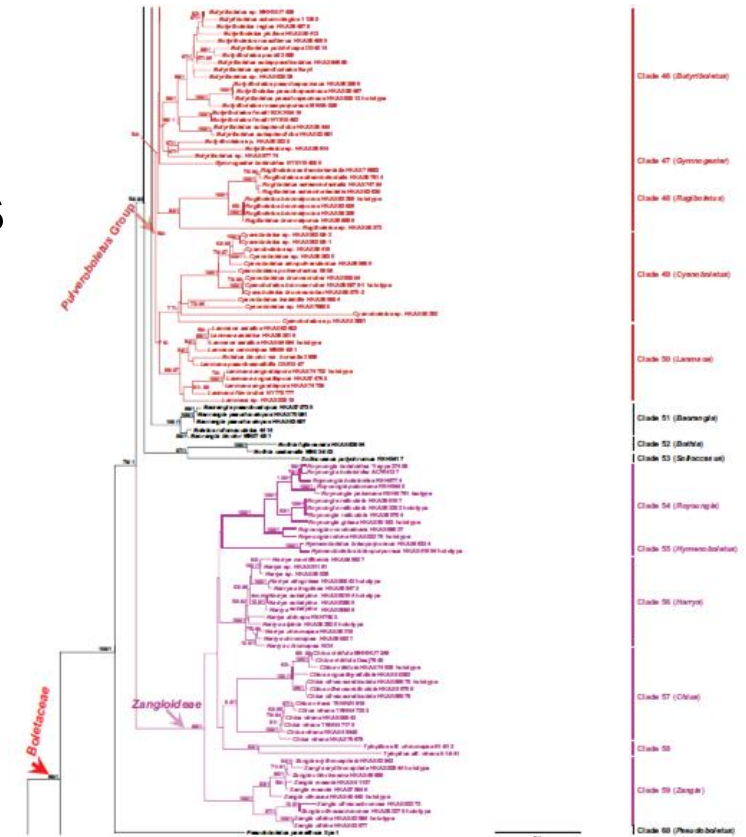


• Boletes

One hundred noteworthy boletes from China

: 46 new species, 26 new combinations

- Macro & micromorpholgy
- Phylogeny of multi loci:
LSU, *RBP1*, *RBP2* & *TEF* genes



Conclusion

The current mushroom taxonomy need:

1. Detail of macro- and micro-morphological descriptions : more than one collection

2. Phylogenetic analysis: multi loci

3. Others additional approaches:
ecology, chemotaxonomy,
key to species, ect.



The current study of Thai truffles

Under the permission from Department of National Parks, Wildlife and Plant Conservation, Thailand

2014-2016



ภาควิชาชีววิทยา
วันที่ 09/11
วันที่ 13/10/58
เวลา 13.00 น.



ที่ ทส ๐๙๐๓.๔/ ๕๗๖ ๙

กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช
๒๑ ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร
กรุงเทพมหานคร ๑๐๙๐๐

๙ มีนาคม ๒๕๕๘

เรื่อง ขออนุญาตเข้าไปทำการศึกษาหรือวิจัยทางวิชาการในพื้นที่ป่าอนุรักษ์
(ศ. ดร.สายสมร สายอง : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่)

เรียน เลขาธิการคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

อ้างถึง ๑. หนังสือสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่ วช ๐๐๒/๗๓๘๑ ลงวันที่ ๑๐ ตุลาคม ๒๕๕๗
๒. หนังสือนักวิจัย ลงวันที่ ๑๐ พฤศจิกายน ๒๕๕๗

สิ่งที่ส่งมาด้วย สำเนาเงื่อนไขประกอบการอนุญาตให้เข้าร่วมทำการศึกษาหรือวิจัยทางวิชาการในพื้นที่ป่าอนุรักษ์

ตามหนังสือที่อ้างถึง สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติส่งขออนุญาตเข้าไปทำการศึกษาหรือวิจัยทางวิชาการในพื้นที่ป่าอนุรักษ์ เรื่อง "ความหลากหลายของเห็ดกลุ่มโบลิตัส (Bolete) และเห็ดตุ้มฟักบอล (Puffball) ในเขตอุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย" ณ อุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย โดยมี ศ. ดร.สายสมร สายอง เป็นหัวหน้าโครงการวิจัย ระยะเวลาศึกษาวิจัยตั้งแต่วันที่ ๑ พฤษภาคม ๒๕๕๘ ถึงวันที่ ๓๑ มีนาคม ๒๕๖๐ เพื่อให้กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช พิจารณา ดังนี้

กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช พิจารณาแล้ว ขอเรียนว่าโครงการดังกล่าวเป็นโครงการที่ทำการศึกษารวบรวมในพื้นที่อุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุยซึ่งเป็นพื้นที่ป่าอนุรักษ์ การเข้าไปเก็บหาหรือกระทำด้วยประการใด ๆ ให้เป็นอันตรายแก่พื้นที่หรือทรัพยากรธรรมชาติอื่นเพื่อการศึกษาหรือวิจัยต้องกระทำโดยพนักงานเจ้าหน้าที่ จึงอาศัยอำนาจ ตามความในมาตรา ๑๙ แห่งพระราชบัญญัติอุทยานแห่งชาติ พ.ศ. ๒๕๐๔ ประกอบกับระเบียบกรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช ว่าด้วยการปฏิบัติการของพนักงานเจ้าหน้าที่ในเขตอุทยานแห่งชาติ พ.ศ. ๒๕๔๙ ข้อ ๕(๔) อนุมัติให้หัวหน้าอุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย พร้อมทั้งมอบหมายให้หัวหน้าศูนย์บริการอุทยานแห่งชาติและพื้นที่คุ้มครอง จังหวัดเชียงใหม่ ในฐานะพนักงานเจ้าหน้าที่ตามพระราชบัญญัติอุทยานแห่งชาติ พ.ศ. ๒๕๐๔ เป็นผู้ปฏิบัติการ ภายใต้การสนับสนุนของคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยมี ศ. ดร.สายสมร สายอง เป็นหัวหน้าโครงการฯ และคณะ เข้าไปกระทำการศึกษาเพื่อประโยชน์ในการศึกษารวบรวมทางวิชาการในอุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย ตามโครงการศึกษารวบรวมดังกล่าวได้ตั้งแต่วันที่ ๑ พฤษภาคม ๒๕๕๘ ถึงวันที่ ๓๑ มีนาคม ๒๕๖๐ โดยให้ปฏิบัติตามเงื่อนไขประกอบการอนุญาตให้เข้าร่วมทำการศึกษาหรือวิจัยทางวิชาการในพื้นที่ป่าอนุรักษ์ และก่อนเข้าไปดำเนินการศึกษารวบรวมในพื้นที่ขอให้แจ้งเป็นหนังสือให้อธิบดีกรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช ทราบก่อนเข้าไปดำเนินการในพื้นที่อย่างน้อย ๑๕ วัน และแจ้งหัวหน้าอุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย ทราบเพื่อประสานการดำเนินงานก่อนทุกครั้ง จึงเข้าไปดำเนินการได้ และเมื่อสิ้นสุดโครงการแล้ว จะต้องส่งรายงานผลการศึกษารวบรวมฉบับสมบูรณ์จำนวน ๕ เล่ม พร้อมแผ่นบันทึกข้อมูล จำนวน ๑ แผ่น ให้กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช ด้วย

This study was supported by:

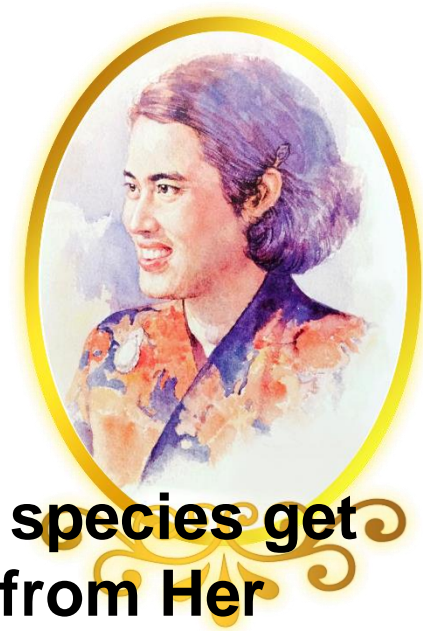
- Thailand Research Fund (TRF) for the Research Team Association
- National Science and Technology Development Agency
- Chiang Mai University

Study areas (northern Thailand 2014-2016)



Collection periods under the permission
Identification by morphology & phylogeny

Current known truffles in Thailand



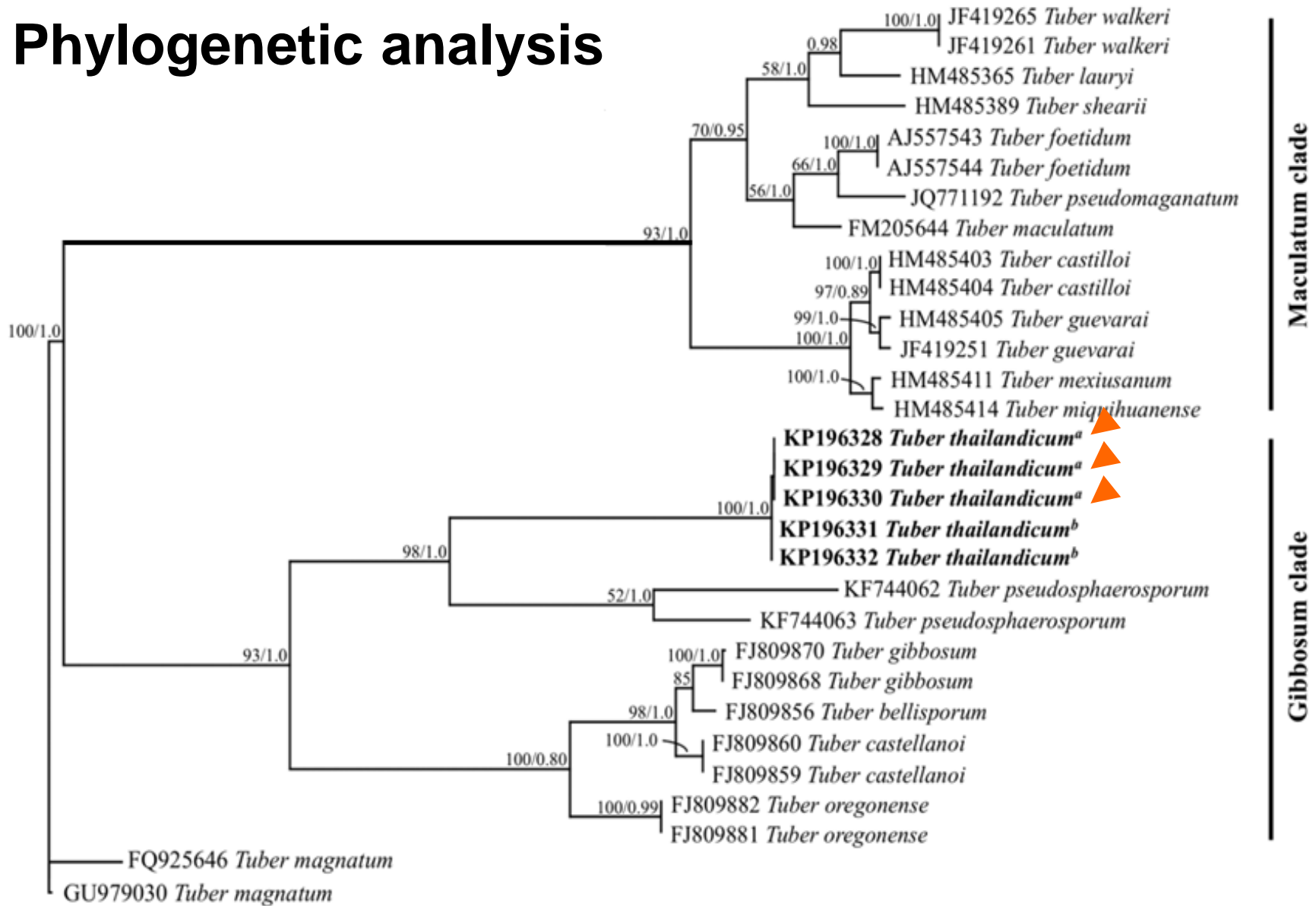
1. *Tuber thailandicum* sp. nov.



- March, 2017 This species get a common name from Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn “Thep-Su-Chon”
- “The lowest latitude truffle” and “tropical truffle” by mycologists
- The first truffle in Thailand and southern Asia



Phylogenetic analysis



A maximum likelihood trees (LSU+ITS genes)

2. *Tuber lannaense* sp. nov.



- The second truffle in Thailand and southern Asia

Mycological Progress 2016, 15:827-834

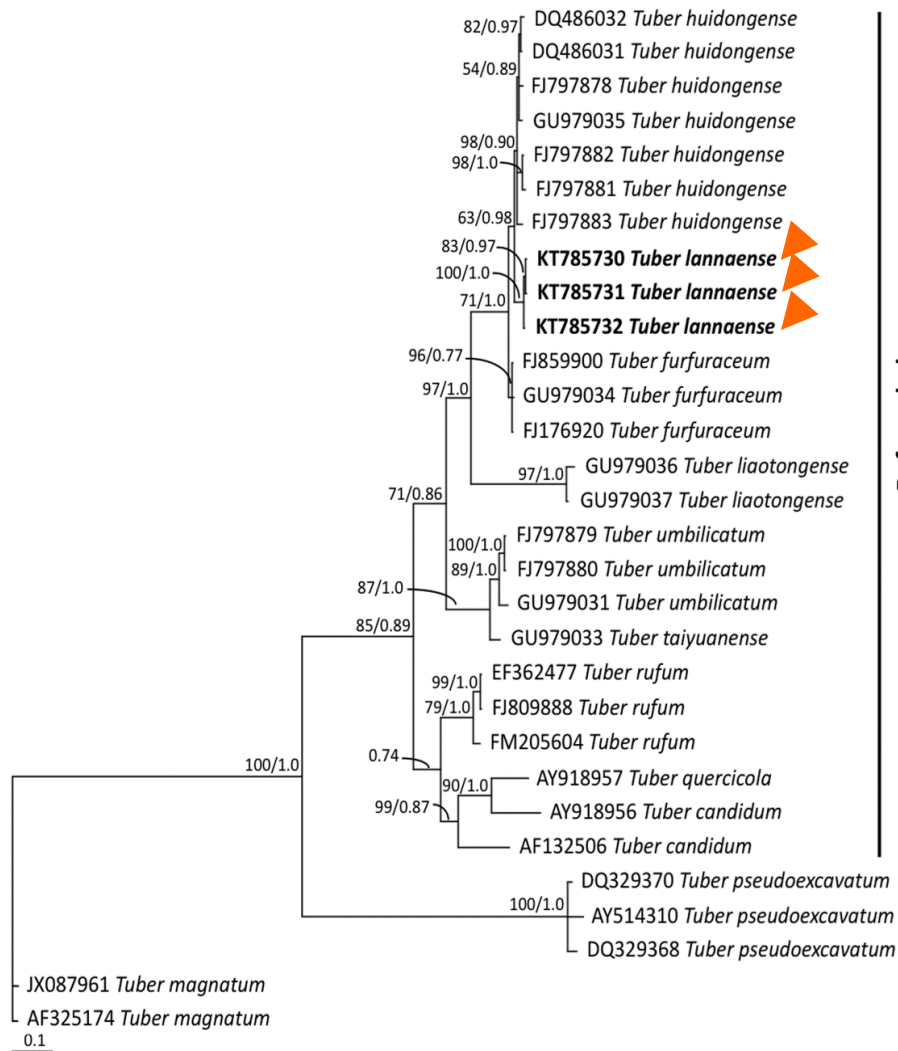
3. *Tuber magnatum* (Italian white truffle)



- The third truffle in Thailand and southern Asia
- New recode for Asia

Mycotaxon 2017, 132:635-642

Phylogenetic analysis



A maximum likelihood trees (LSU+ITS genes)

Mae Sa-Kog Ma Biosphere Reserve Newsletter, 2018



New method for truffle hunting

Previous hunting



Our study

Investigation of truffle's diversity by eDNA with specific primers or next generation sequencing



We got the species specific primers of *T. thailandicum* and *T. lannaense*

Possibility for Thai truffle farm development

Truffle mycorrhizal synthesis and cultivation

- the compatibility of ectomycorrhization between truffle and plant species



“Thank you for your kind attention”



“Keep natural habitat for the microbial community and mankind’s utilization”



“No forest, No life”