

Abstract

Project Code : TRG5780217

Project Title : DNA barcoding for identification of poisonous mushrooms in the genus *Amanita* (Basidiomycetes: Amanitaceae) using protein-coding RPB1 and nuclear ITS region

Investigator : Dr.Sittiporn Parnmen

Toxicology center, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health

E-mail Address : sparnmen@gmail.com or sittiporn.p@dmsc.mail.go.th

Project Period : 2 years

Abstract:

Phylogenetic studies in the genus *Amanita* was carried out using the ribosomal nuclear ITS and protein-coding RPB1 DNA sequences. Bayesian approach, Maximum likelihood (ML) and Maximum parsimony (MP) methods together with a species recognition criterion namely, Poisson Tree Processes (PTP) model were performed. The phylogenetic relationship of *Amanita* was analyzed using a combined dataset of the nuclear ITS region and the protein-coding RPB1 gene. Based on different analyses of Bayesian approach, ML and MP, supported monophyletic group of two traditionally accepted subgenera including *Amanita* and *Lepidella*. Each section of *Amanita*, *Caesareae*, *Vaginatae* and *Phalloideae* were strongly supported by separate bootstrap analyses and posterior probabilities. For the DNA barcode, analysis based on a combined dataset of the nuclear ITS region and the protein-coding RPB1 under PTP model revealed at least 24 putative species. Most of the species in the section *Caesareae* appear in separate clades, indicating the existence of non-monophyletic groups hidden under morphologically delimited species. Some putative species was described including *Amanita gleocystidiosa* Boonprat. & Parnmen, *Amanita digitosa* Boonprat. & Parnmen and *Amanita pyriformis* Boonprat. & Parnmen. Detection of the peptide toxins using a reversed phase LC-MS method revealed the presence of amatoxins and phallotoxins in the section *Amanita* and *Phalloideae*. In addition, toxic α -amanitin was identified in a new species, *Amanita gleocystidiosa* with the highest toxin quantity. In term of clinical toxicology, molecular identification revealed that *A. exitialis*, *A. fuliginea* and *A. gleocystidiosa* are the important causative agents of the lethal mushroom poisoning cases in Thailand. The presence of *A. exitialis* was reported here for the first time and the discovery of all five toxic species provided new and informative data for clinical studies.

Keywords : *Amanita*, DNA barcode, ITS, peptide toxins & protein-coding RPB1

Abstract (Thai)

Project Code : TRG5780217

Project Title : ดีเอ็นเอบาร์โค้ดสำหรับพิษจันเห็ดพิษสกุล *Amanita* (Basidiomycetes: Amanitaceae) โดยใช้ข้อมูลยีนกำหนดรหัสโปรตีน RPB1 และบริเวณนิวเคลียร์ ITS

Investigator : ดร.สิทธิพร ปานเม่น

ศูนย์พิษวิทยา กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

E-mail Address : sparnmen@gmail.com หรือ sittiporn.p@dmsc.mail.go.th

Project Period : 2 ปี

Abstract:

การศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของเห็ดสกุล *Amanita* ดำเนินการโดยใช้ข้อมูลลำดับเบสบริเวณ ribosomal nuclear ITS และ protein-coding RPB1 โดยวิธี Bayesian approach, Maximum likelihood (ML) และ Maximum parsimony (MP) ร่วมกับเกณฑ์ในการกำหนดขอบเขตชนิดโดยใช้โมเดล Poisson Tree Processes (PTP) ผลจากการศึกษาความสัมพันธ์ภายในสกุล *Amanita* โดยใช้ข้อมูลลำดับเบสแบบรวมข้อมูลระหว่าง ribosomal nuclear ITS และ protein-coding RPB1 ร่วมกับการวิเคราะห์โดยวิธี Bayesian approach, ML และ MP สามารถยืนยันการจัดกลุ่มแบบโมโนไฟลิติกของ subgenus *Amanita* และ subgenus *Lepidella* ได้ ส่วนการจัดกลุ่มในแต่ละ section พบว่า *Amanita*, *Caesareae*, *Vaginatae* และ *Phalloideae* มีการสร้างกลุ่มที่ถูกรองรับโดยค่าสถิติแบบ bootstrap analysis และ posterior probability สำหรับดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่วิเคราะห์โดยใช้โมเดล PTP พบอย่างน้อย 24 ชนิดที่เด่นชัด โดยภายใน section *Caesareae* พบการสร้างกลุ่มแบบ non-monophyletic ภายใต้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่มีความคล้ายคลึงกันจากข้อมูลดังกล่าวทำให้ค้นพบเห็ดชนิดใหม่จำนวน 3 ชนิดได้แก่ *Amanita gleocystidiosa* Boonprat. & Parmen, *Amanita digitosa* Boonprat. & Parmen และ *Amanita pyriformis* Boonprat. & Parmen ส่วนการวิเคราะห์สารพิษ (Toxins) โดยใช้วิธี reversed phase LC-MS พบว่าเห็ดใน section *Amanita* และ *Phalloideae* มีการสร้างสาร amatoxins และ phallotoxins นอกจากนี้พบว่า α -amanitin ถูกตรวจพบในปริมาณสูงใน *Amanita gleocystidiosa* ซึ่งเป็นเห็ดชนิดใหม่ในส่วนของพิษวิทยาคลินิก ข้อมูลจากเทคนิคดังกล่าวทำให้ทราบว่าเห็ดพิษ *Amanita exitialis*, *A. fuliginea* และ *A. gleocystidiosa* เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเสียชีวิตจากสถานการณ์อาหารเป็นพิษในประเทศไทยซึ่งเห็ดพิษ *A. exitialis* มีรายงานการพบครั้งแรกในประเทศ และการค้นพบเห็ดพิษทั้ง 5 ชนิดจัดเป็นข้อมูลใหม่ทางด้านพิษวิทยา

Keywords : *Amanita*, DNA barcode, ITS, peptide toxins และ protein-coding RPB1