

Title	Bamboo-associated fungi isolated in Japan : Molecular diversity, taxonomical studies and their community
Author(s)	Doungporn, Morakotkarn
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49497
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていない ため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利 用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文につい てをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

【6】	
氏 名	ドアーンポーン モラコットカーン Doungporn Morakotkarn
博士の専攻分野の名称	博 士（工 学）
学 位 記 番 号	第 2 2 4 2 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 20 年 8 月 21 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科応用生物工学専攻
学 位 論 文 名	Bamboo-associated fungi isolated in Japan; Molecular diversity, taxonomical studies and their community (日本産タケ寄生糸状菌の多様性と分類に関する研究)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 仁 平 卓 也 (副査) 教 授 原 島 俊 弘前大学農学研究科准教授 田中 和明 教 授 小 林 昭 雄 教 授 大 竹 久 夫 教 授 福 崎 英 一 郎 教 授 清 水 浩

論 文 内 容 の 要 旨

Fungal endophytes are ubiquitous in plants and very diverse. Investigation of endophytic fungi in even well-characterized, economically important plants frequently yields novel taxa that may represent a substantial number of undiscovered fungi. Although bamboos are widespread and considered useful in Japan, little information is available about endophytes that associated with bamboo. Studies on bamboo-associated fungi are required to provide information for evaluating global fungal diversity, distribution and population dynamics. Nowadays, molecular technologies are known to be rapid methods of analysis that have many applications including taxonomy works. This research focused on diversity of bamboo-associated fungi, taxonomical studies and fungal community analysis using several DNA-based methods.

Chapter 1. Introduction

The first chapter provides overview knowledge of fungal endophytes and their application including their community and its role in nature. Status of bamboo-associated fungi and ecological aspect are mentioned. Several molecular technologies are used and interpreted for bamboo endophytes analysis. I explained about historical study and status of techniques used for taxonomical and diversity studies. Focus of study is noticed in this chapter.

Chapter 2. Molecular diversity of bamboo-associated fungi isolated from Japan

Chapter 2 describes using molecular methods to isolate and identify many fungal isolates associated with bamboos in Japan. In this chapter, 257 fungal strains were isolated from bamboo tissues, and 71 representative strains were characterized by 18S rRNA gene and internal transcriber spacer region sequence analysis. Several rRNA gene sequences were not similar to any current sequence in the database and might be a novel species or genera that could represent sources of novel biological compounds. These findings reveal that bamboos are a huge reservoir of microorganisms that should be extensively investigated.

Chapter 3. Taxonomic characterization of *Shiraia*-like fungi isolated from bamboos in Japan

Chapter 3 presents a detail taxonomic study that I conducted on *Shiraia*-like fungi that were isolated from bamboos in Japan. From this investigation, results of the molecular phylogeny of LSU rDNA sequences (D1/D2 domain), ITS regions and

beta-tubulin gene (*tub2*) showed that the seven strains (*Shiraia*-like fungi) were closely related to *Shiraia bambusicola* and closest group to *Shiraia bambusicola* (group A) produced morphological structures that differed from anamorph of *Shiraia bambusicola*. Currently, none of the morphological structures and molecular database records was compatible with our *Shiraia*-like fungi. These results reveal that *Shiraia*-like fungi (group A) is supposed to be a new species that should be assigned into a novel genus/species related to *Shiraia bambusicola*.

Chapter 4. Community analysis on fungal bamboo endophytes using cultivation-independent DNA-based methods

Chapter 4 presents a study on the fungal endophyte community within individual bamboo plants. From previous data described in Chapters 2 and 3, I found that fungal colonization within a bamboo may be affected by several factors. Tree height and tissue preferences might be related to the pattern of fungal colonization. To explore the fungal communities in bamboo individuals, DNA-based, cultivation-independent techniques were used. The fungal community and patterns of colonization in the bamboo samples were complex and highly diverse. Fungal groups were different within one single individual tree. The most commonly found fungi among the samples belong to Pleosporales groups. Altitude and tree ages should be factors that we need to consider in relation to diversity and community studies.

Chapter 5. General conclusions

This chapter concludes that studies on bamboo-associated fungi are required to provide information of evaluating global fungal diversity, distribution and their community using advanced techniques based on molecular methods. In this thesis provides a great deal of information of isolates from bamboos, various group of fungi were found and several group of fungi might be novel genera/species. The finding reveals that bamboos represent a huge reservoir of microorganism that should be extensively studied in the future. Some groups of isolates were taxonomical characterized as an example. *Shiraia*-like fungi were focused using molecular analysis and their morphological features. *Shiraia*-like fungi are assumed to be new species that should be assigned into a novel genus/species related to *Shiraia bambusicola*. Many undescribed information of endophytes community within one bamboo individual is revealed in this thesis. The unknown resources might provide new perspectives for human uses in biotechnology and pharmaceutical products and should be carried out in further.

論文審査の結果の要旨

本論文は、日本産タケの内生菌、特に糸状菌について、その多様性と分類学の研究を行った論文であり、タケには多様な糸状菌が生息し、その中には将来の新たな生理活性物質等の可能性が期待できる新規微生物が存在していることを示した論文である。また、分子系統分類学的手法と、微生物生態学的手法を用いて、タケの細胞内の微生物分布のモデル例を示し、微生物探索のために有益な情報を示唆している論文である。

本論文において新たに発見された知見は、まず、タケ試料から多様な子囊菌が分離されることを明らかにしたことである。糸状菌の中には有用な二次代謝産物を含んでいるものが多く、多くの研究者が研究対象としているところである。これまで、タケからの糸状菌の分離と分類についての研究は報告例があったが、それらはすべて病変を示した部位からの分離であり、すべて形態学的観察による分類であった。本論文では、病変を示していない健全な細胞から糸状菌を分離し、健全な細胞内には多様な糸状菌が生息していることを示している。分類学的手法としては、従来の形態学に加え、分子系統学的手法を用いて分類を行っており、多様かつ新規微生物の存在を明らかにしている。健全なタケ細胞からの内生菌の分離は本論文が初めての報告であり、今後タケが新たな生理活性物質のスクリーン源として有効であることを示唆しており、本研究結果が応用微生物学の分野の発展に寄与することが期待できる。

次に、中国で唯一発見されていて、その二次代謝産物が癌治療に有効であることが示されている赤団子病の原因菌 *Shiraia* 属のグループの菌を多く発見し、分類学的考察を行っている。研究では、テレオモルフは発見されなかったが、形態がユニークな新規アナモルフ種を発見したことは、*Shiria* 属の分類学と生態学の重要な情報を得られたと評価できる。

最後に、単一の植物体を、非培養法である分子生態学的手法等の現段階でできる方法を駆使して、タケ内生菌の細胞内分布について明らかにしている。タケの高さの違いと糸状菌分布に相関性があることを統計処理を用いて示し、タケの内生菌は土壌から根を通して感染する場合と、外界から直接感染する両方があることを推定している。これらの結果は、今後の新たな糸状菌の分離方法とタケ内生菌の感染源を知るための有用なヒントを与えたと評価できる。

以上のように、本論文はタケ内生糸状菌の多様性と分類におけるいくつかの新たな知見を見出しており、それらは将来の新たな遺伝子資源研究の有用な基盤情報である。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。