



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Pseudomonas sp. Go58 isolated from water-plant biofilm, genome analysis and preliminary study on its algicidal function [an abstract of entire text]
Author(s)	陳, 樹河
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(水産科学)
Dissertation Number	甲第15560号
Issue Date	2023-06-30
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/90319
Type	doctoral thesis
File Information	CHEN_Shuhe_summary.pdf



主論文の要約

博士の専攻分野の名称：博士（水産科学）

氏名：陳 樹河

学位論文題目

Pseudomonas sp. Go58 isolated from water-plant biofilm, genome analysis and preliminary study on its algicidal function

(水草バイオフィーム由来 *Pseudomonas* sp. Go58 のゲノム解析および殺藻活性に関する基盤的な研究)

近年、淡水域において微細藻類が異常増殖したアオコは環境や水産業の問題だけでなく水資源の確保という観点からも世界的な課題となっている。アオコの主要な原因藻類である藍藻は毒素を生産し、魚介類を含む水圏生物に深刻な影響を与える。この問題の対策として薬剤散布・濾過・深層曝気など様々な物理的・化学的方法がとられているが、経済性および安全性などの観点から、より環境調和型の対策が求められている。その様な中、アオコ原因藻類を殺滅する能力を持つ殺藻細菌の利用が期待されている。また、その様な殺藻細菌は水草表面のバイオフィームに多く分布することが報告されており、水草を増やすことで環境中に殺藻細菌を供給する事が可能と考えられる。環境負荷が小さく効率的なアオコ対策が実現できると期待されるが、水草バイオフィーム由来の殺藻細菌については種や殺藻機構、実環境での機能など、実効的な利用の上で不明な点が多い。そこで、本研究ではヒシ表面バイオフィームから分離した殺藻細菌の Go58 株に注目し、そのゲノム解析、活性物質の同定、水棲生物への影響、および実環境への適用可能性について検討することで、殺藻細菌によるアオコ対策構築のための基盤的知見を得ることを目的とした。

第2章では Go58 株のゲノム解析を行い、本株は *Pseudomonas protegens* に近縁の新種であることを示した。また、多くの二次代謝産物生合成遺伝子を検出した。*P. protegens* は植物保護・生育促進機能で知られる細菌であり、生物農薬としての研究が進んでいる。世界各地の植物根圏から報告されているが、系統樹解析の結果からは、これまで *P. protegens* として報告されているうちの約半数は Go58 株と同種の新種であることが示唆された。

第3章ではアオコ原因藻類の一つである *M. aeruginosa* に対する活性を指標に、Go58 株

培養液を各種クロマトグラフィーで精製を勧め、既知化合物である *pyoluteorin* を活性本体として得た。また、新規頭縁体として塩素が一つ水素に置換した *pyoluteorin B* を同定した。

第4章では得られた化合物の生物活性試験を行った。*Pyoluteorin* は藍藻に対して強い生育阻害活性を有するが、珪藻や緑藻に対しては相対的に弱い活性であった。水棲動物であるプラインシュリンプ *Artemia salina* およびメダカ *Orzias species* と水草 *Lemna minor L* に対しては弱い毒性を示した。一方、*pyoluteorin B* は全ての生物についてその毒性が大きく減弱した。また、*M. aeruginosa* と Go58 株を共存させることで、*pyoluteorin* の生産が大きく促進されたことから、本物質の実際の殺藻現象への関与も援測されたということが分かった。

第5章では野生微細藻類に対する *pyoluteorin* および Go58 株の影響を調べた。その結果、いずれも野生の *Microcystis species* に対して生育阻害活性を示した。一方、長期間培養することで、環境試水の総生物量、特に *Chlorophyceae* 綱の緑藻が増加した。

第6章ではその緑藻増殖促進活性に関与する化合物の探索を行った。その結果、Go58 株培養液から植物ホルモンとして知られる *indole3-aceticacid*、およびその異性体である *3-(hydroxy acetyl)indole* を見出した。いずれも、緑藻 *Desmodesms species* に対して増殖促進活性を示した。

本研究において水草のバイオフィームから生物農薬として期待され、かつ世界各地から分離されている *P. protegens* に近縁の新種細菌を殺藻細菌として同定した。またその活性本体として、これら菌種に特徴的な二次代謝物である *pyoluteoin* を見出した。さらに、緑藻および宿主となりうる水草の増殖にも関することが示された。水草、細菌、微細藻類が関与した複雑な相互作用が存在す中で、効果的かつ安定的な水草バイオフィーム殺藻細菌によるアオコ対策を実現するうえでの基盤的な知見を得ることができた。