

学 位 論 文 要 旨	
氏 名	佐藤 聖
題 目	水耕栽培環境における大腸菌と原生動物の相互作用に関する研究 (Studies on the interaction between bacteria and protozoa in the hydroponic environments)
<p>本研究では、水耕栽培作物体内部への大腸菌の侵入条件、特に侵入に必要な最低菌密度（閾値）に及ぼす原生動物や常在細菌の影響や暴露時間、作物種について検討し、閾値を正確に決定することに世界で初めて成功した。</p> <p>1. 各種葉菜類を栽培中の水耕液に非病原性大腸菌を接種し、植物体内部へと大腸菌が侵入するかどうか試験した。レタス、ホウレンソウ、およびコマツナでは大腸菌が侵入したのに対し、コネギでは侵入しなかった。その際の大腸菌密度は、試験期間後に大幅に減少していた。このため、閾値を正確に求めることができなかった。</p> <p>大腸菌が急激に減少する原因を解明するため、希釈平板法および $\mu\text{C-FISH}$ 法を用いて大腸菌密度を測定した。接種直後の大腸菌密度は、$3.3 \times 10^7 \sim 1.1 \times 10^8$ であったが、7日後には4~7桁も減少し、両法での菌密度にほとんど差はなかった。このことから、水耕液に接種した大腸菌が急激に減少する原因は難培養化したためではなく、真に死滅したことが判明した。栽培後の水耕液には、繊毛虫や鞭毛虫などの原生動物が多数観察された。</p> <p>2. 大腸菌減少の原因解明のために、フィルターを用いて水耕液をろ過し、そのろ液に大腸菌を接種した。その結果、未ろ過の水耕液では大腸菌が大幅に減少したが、ろ過した水耕液ではいずれの孔径でも大腸菌が全く減少しなかった。さらに、蛍光標識大腸菌（FLB）を水耕液に添加し30分間インキュベートしたところ、繊毛虫や鞭毛虫がFLBを多数取り込んだことを確認した。以上のことから、水耕液に接種された大腸菌が原生動物によって捕食されることを明らかにした。</p> <p>3. 大腸菌侵入閾値の正確な測定のために、原生動物の抑制を試みた。そこで、抗原生動物薬（メトロニダゾールおよびピランテルパモ酸塩）を用いて、原生動物の捕食作用を抑制する必要がある。高濃度のメトロニダゾール（500~1,000 mg/L）により原生動物の運動性が抑えられたが、水耕液に同濃度を添加しても原生動物の捕食を抑制することには至らなかった。一方、ピランテルパモ酸塩はDMSOに溶解させる必要があるため、原生動物に有効な濃度を水耕液に添加すると、DMSOの影響によりレタスに生育障害が出ることが判明した。そこで両薬剤の混合使用を試みたが、抑制できなかった。これらのことから、薬剤による水耕液中の原生動物の抑制は困難であることが判明した。</p> <p>4. 水耕液中の大腸菌密度を維持するために、大腸菌を水耕液に繰り返し接種した。その結果、水耕液中の大腸菌密度を5日間ほぼ維持することに成功し、原生動物存在下におけるレタスへの侵入閾値を決定することに成功し、$1.5 \times 10^4 \text{ CFU/mL} \sim 1.7 \times 10^5 \text{ CFU/mL}$ という値を得た。</p> <p>以上のように、水耕液の衛生管理において、原生動物と細菌の相互作用は非常に重要なものであると明らかにした。今日まで、水耕液中の原生動物の存在に着目した研究はなく、本研究の成果は、今後の水耕栽培作物の衛生管理の進展に大きく寄与できると期待される。</p>	