

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 5 日現在

機関番号：27401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K12192

研究課題名(和文) 雨水中微量金属の形態変化における微生物の働き

研究課題名(英文) Approaching the transform of metals by bacteria in rain water

研究代表者

張 代洲 (Zhang, Daizhou)

熊本県立大学・環境共生学部・教授

研究者番号：90322726

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、雨水中の微生物の計測方法を確立し、熊本市において1年間全ての降雨時の雨水に対して、含まれた微生物およびイオン成分の調査分析を行った。その結果、雨水中の微生物の濃度、生存状態および群落は、雨の引き起こす天気現象(低気圧、梅雨、台風など)毎に異なることがわかった。特に大陸性の気団の侵入により生じた雨の中に、土壌系な微生物が多く見られ、その濃度は高く、生存率は低かった。雨水中から浮遊微生物の増殖は確認されなかったが、培養実験では浮遊微生物の単一種類の微生物の増殖が確認され、その増殖に伴った無機イオン成分(硫酸塩、硝酸塩、塩酸塩、アンモニア、カルシウム、鉄等)の変化は殆ど見出されなかった。

研究成果の概要(英文)：Methods of quantification and identification of bacteria in rainwater were developed and applied to measure the cell concentration, viability, and communities of bacteria in the rainwater collected in every rain episode in a year at Kumamoto. Results showed the distinctive natures of cell concentration, viability and bacterial communities according to the synoptic weather causing rain, i.e., cyclones, Meiyu fronts and typhoons. In the rainwater of cyclones when clouds were induced by the intrusion of continental air, the fraction of bacterial indicator taxa of soil bacteria was larger, the cell concentration was higher, and the viability was lower than in the rainwater of other rain types. Growth of bacteria in the collected rainwater was not identified. Under incubation conditions, predominant strains of multiplying were encountered, while the concentration of ions including sulfate, nitrate, chloride, ammonium, calcium and iron did not change considerably.

研究分野：大気環境学

キーワード：物質循環 微生物 雲水イオン化学

### 1. 研究開始当初の背景

大気において、水滴(雲粒・霧粒)や粒子は環境中の物質循環の重要な役割を担っており、その内部、粒子表面の水膜に起こる化学反応が物質の形態に大きく影響している。注目されている一つの過程は黄砂粒子中の鉄成分が非水溶性(生物摂取不可)の形態から水溶性(生物摂取可)の形態に変わる過程である。鉱物中の鉄は水に溶けにくく、ほとんどが生物に利用できない形態で存在している。黄砂粒子が空气中に漂っている間に表面の化学反応で一部分の鉄が水溶性に変わり、海への落下に伴い、海水中の植物プランクトンの増殖に栄養塩として与えられる学説がある。しかし、この変質過程は酸性度 pH が 2 より小さい溶液の中でしか生じられなく、そのような雨水や雲水が自然界から観測された事実はまだない。また、黄砂の主成分は鉱物であり、その溶液はアルカリ性であるため、黄砂粒子を含む水滴は鉱物鉄の形態を変化させる化学反応に好ましくないと推測される。

一方、雨水や雲水の中に微生物が遍在している。代表者らの調査では、黄砂と共に大量な微生物も九州に飛来することが分かり、黄砂に伴った降水中の微生物の濃度が他の降雨より 1 桁以上高いことも見出された。環境微生物の代謝活動が土壌水の中に生じる鉱物金属の形態変化に中枢的役割を果たしていることは常識として知られている。黄砂を含む雨水や雲水の中にも同様な微量金属形態変化が生じる可能性はあるが、残念ながらそれに関して研究された例はなく、雲水中の金属形態変化における微生物のはたらきは全く分かっていない。

### 2. 研究の目的

本研究では、まず、雨水中の微生物の計測方法を確立し、確立後に降水中の微生物のセル濃度、微生物の生存状態、微生物の群落特性および降水中のイオン成分を分析すること、培養実験による微生物の増殖とその増殖に伴うイオン成分の変化の解析することで、雨水微生物の挙動と及びそのイオン成分の変化における働きを求め、大気における微生物の代謝活動による微量金属の溶出(鉄)を調べた。雨水中の微生物の変動と金属イオンの関係を解析することを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 方法の確立：実験室内での検討実験及び野外観測への応用試験を通じて、汎用の DAPI 染色法をコントロールし、LIVE/DEAD 染色キットを用いた雨水中の微生物の濃度と生存状態の測定法を構築した。(2) 応用：確立された雨水中の微生物の測定方法を利用して、2014 年 - 2016 年の間に熊本県において通年観測(雨水の採集、雨水中の微生物のセル濃度、生存状態、イオン濃度)を行った。また、雨水の培養実験と添加培養実験を行い、微生物の成長とイオン濃度の変

化の関連を調べた。更に人工海水による微生物の培養実験も行い、微生物が海水中に落下した後に海水中の成長と海水中のイオン濃度への影響も調べた。

### 4. 研究成果

(1) 方法の確立の結果、雨水中の微生物の検出率は平均 109% であった。また、Glutaraldehyde を用いた固定試験も行い、検出率が平均約 6% 向上したことを確認した。但し、雨水の量が少ない場合において、誤差は大きかった。分析結果の正確性を保証するために全てのサンプル分析に対してプランクフィルターの分析は必須であることが分かった。

(2) 方法の応用において、雨水サンプル数は 68 個であった。それらのサンプルは、雨を引き起こした天気(移動性低気圧、梅雨及び台風)に従って分類され、それぞれの降水中から測定された微生物の特徴をまとめた。その結果、移動性低気圧の雨水中では微生物の濃度は高く、生存率が低いことが、台風の雨水中では濃度は低く、生存率が高いことがそれぞれ分かった。実施した培養・抽出・遺伝子解析実験の結果、移動性低気圧の雨水中には土壌系の微生物が大量に存在することや、梅雨の雨水中には大陸性と海洋性の微生物が混在すること、また、台風の雨水中にはほぼ海洋性のものが主導していることが分かった。

雨水の培養実験の結果、培養実験では浮遊微生物の単一種類の微生物の増殖が確認され、その増殖に伴って無機イオン成分(硫酸塩、硝酸塩、塩酸塩、アンモニア、カルシウム、鉄等)の変化が顕著ではなかった。

鉱物添加実験を試験的に行った結果、添加し培養した数日後に、常に単一微生物の成長が見出された。微生物の変動とイオン成分の関係については明確な関係をまだ確認していない。

微生物の遺伝子組成を、16S rRNA 遺伝子配列を用いて同定した。4 種類の雨水中に多様な細菌が存在し、Proteobacteria, Bacteroidetes, Cyanobacteria 等が優占していた。雨の種類にかかわらず共通の細菌 OTU が優占的に存在していた。一方、雨に関連する気団の起源によって細菌組成は異なっていた。低気圧の雨水には土壌起源の細菌の寄与が大きかった。また複数のサンプルには海洋起源細菌も検出された。これらのことから、降水は大陸、海洋と島の生態系をつなぐ、自然界の細菌群集の普及にとって非常に効率的な経路であるといえる。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計3件)

Wei Hu, Kotaro Murata, Daizhou Zhang: Applicability of LIVE/DEAD BacLight stain with glutaraldehyde fixation for the measurement of bacterial abundance and viability in rainwater. *Journal of Environmental Sciences*, doi:10.1016/j.jes.2016.05.030, 2016.

Kotaro Murata, Daizhou Zhang: Concentration of bacterial aerosols in response to synoptic weather and land-sea breeze at a seaside site downwind of the Asian continent. *Journal of Geophysical Research*. doi: 10.1002/2016JD025028, 2016.

Satoshi Toyonaga, Daizhou Zhang: Monthly variation of rainwater chemistry associated with synoptic weather at a coastal site in southwest Japan. *Asian Journal of Atmospheric Environment*. in press, 2017.05

〔学会発表〕(計10件)

Wei Hu, Daizhou Zhang: Insights into the sources of rainwater bacteria in southwestern Japan. *The 17<sup>th</sup> Annual Meeting of the China Association for Science and Technology*, Xi'an, China, September 2016.

Wei Hu, Kotaro Murata, Daizhou Zhang: Applicability of LIVE/DEAD BacLight stain with glutaraldehyde fixation for the measurement of bacterial abundance and viability in rainwater. *The 33<sup>rd</sup> Annual Meeting and Symposium on Aerosol Science and Technology*, Osaka, Japan, August 2016.

Wei Hu, Kotaro Murata, Daizhou Zhang: Bacteria in rainwater at suburban site in southwestern Japan: abundances, viability, communities and sources associated with different weather systems. *Asia Oceania Geosciences Society 13<sup>th</sup> Annual Meeting*, Beijing, China, July 2016.

Wei Hu, Kotaro Murata, Daizhou Zhang: Bacterial communities in rainwater associated with synoptic weather systems in Kumamoto, southwestern Japan. *JpGU-AGU Joint Meeting*, Chiba, Japan, May 2017.

Wei Hu, Daizhou Zhang: Bacterial properties of rainwater associated with cyclones, stationary fronts and typhoons in southwestern Japan. *AGU Fall Meeting 2016*, San Francisco, USA, December 2016.

Wei Hu, Kotaro Murata, Daizhou

Zhang: Bacteria in rainwater at a suburban site in southwestern Japan: abundance, viability, communities and sources associated with different weather systems. *Asian Oceania Geosciences Society (AOGS) 2016*, Beijing, China, August 2016.

Kotaro Murata, Daizhou Zhang: Concentration of bacterial aerosols associated with particles: observations at a southwestern coastal site of Japan in the spring 2013-2014. *AGU Fall Meeting 2015*, San Francisco, USA, December 2015.

Wei Hu, Kotaro Murata, Satoshi Toyonaga, Daizhou Zhang: Bacterial and chemical properties of rainwater collected at a suburban site in southwestern Japan. *The 12<sup>th</sup> National Conference and the 13<sup>th</sup> Cross-straight Workshop for Aerosol Science & Technology*, Chongqing, China, October 2015.

Kotaro Murata, Daizhou Zhang: Fluctuation of viable and non-viable bacterial concentration in the air associated with weather changes: observations on the southwestern coast of Japan. *AAAR 34<sup>th</sup> Annual Conference*, Minneapolis, USA, October 2015.

Wei Hu, Rie Yasukaga, Kotaro Murata, Daizhou Zhang: Bacterial concentration and viability in the rainwater collected at a suburban site in southwestern Japan. *The 2015 Asian Aerosol Conference*, Kanazawa, Japan, May 2015.

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：

番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

<http://www.pu-kumamoto.ac.jp/~aerl/>

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

張 代洲 (Daizhou Zhang)  
熊本県立大学・環境共生学部・教授  
研究者番号：90322726

##### (2) 研究分担者

松崎 弘美 (Hiromi Matsusaki)  
熊本県立大学・環境共生学部・教授  
研究者番号：30326491

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

##### (4) 研究協力者

( )