

## 論文要旨

論文題目 Evolution of Airborne Bacteria in Association with Synoptic Weather

「総観気象の変化に伴う大気中細菌の濃度変動」

氏名 村田浩太郎

細菌は地球上に普遍的に存在する微生物であり、その膨大な生物量と多様な代謝系は環境中物質循環において不可欠なはたらきを担っている。大気中に浮遊する細菌は、エアロゾル粒子の一種として日射を散乱・吸収することにくわえ、雲の氷晶核や凝結核となることで雲形成を経て大気の放射や降水に影響を与えていることが指摘されている。細菌の大気中拡散・移動性は、細菌の普遍的生物地理分布形成の主要な成因であるといわれ、さらに大気中での代謝活動を行うことにより大気中物質動態にも影響を与えることが予想されている。また一方で、病原細菌の越境伝播は大気中汚染物質の長距離輸送と同様に懸念されている。これらの観点から、大気中細菌のエアロゾル粒子としての挙動ならびに生物としての挙動について双方向から解明する必要があるが、そのための情報は非常に限られているのが現状である。

エアロゾル粒子としての細菌は空気の流れに伴って変動し、異なる空気塊においては存在する細菌の発生源や輸送過程も全く異なると考えられる。空気の流れは様々な要因によって生じるが、広範囲のスケールでは総観気象の要因、すなわち、西から東への低気圧・高気圧の移動に伴って数日単位で変化する流れが卓越する。たとえば、春季・秋季に見られる大規模な黄砂は、低気圧と高気圧の移動がアジア大陸の砂漠あるいは乾燥地帯の砂塵を東方に長距離輸送する流れを生じさせることによる。本研究では、春季・秋季の移動性低気圧および高気圧の通過に伴う大気中細菌濃度を明らかにし、総観規模の空気塊の変化による細菌の濃度変動を定量化することを目的とした。

細菌研究は培地を用いて培養することによって行われてきた。しかし、環境中細菌の大部分が人工環境で増殖することは困難であるといわれており、大気中においても実際に存在する細菌の95%以上が培養不可能であるといわれる。細菌の大気中挙動および雲形成への影響を解明するためにはすべての細菌の情報が不可欠であるため、細菌 DNA や生体物質そのものを標的にした染色法や定量的 PCR 法などが有効である。最も簡単な方法は細菌 DNA を蛍光色素で標識して計数する手法で、DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) 染色法が一般的である。しかし、一般的な蛍光染色法では細菌の総数は得られるが、生存状態に関する情報は得られない。そこで、本研究ではまず、細菌の総数（濃度）と生存状態の双方に対してアプローチできる方法の検証・確立を試みた。

大気中細菌の濃度および生存状態を計測するため、LIVE/DEAD BacLight Bacterial Viability Kit (BacLight 染色) を用いた蛍光染色計数法の室内・野外試験を行った。BacLight 染色では細菌 DNA の蛍光標識により細菌総数を得られるとともに、細菌膜の損傷による生細菌・死細菌の判別が可能である。大気中細菌の捕集法および前処理法の検証実験も含め、BacLight 染色法と一般的な方法である DAPI 染色法との比較を行った。大気中から分離された細菌株を用いた室内試験により、BacLight 染色法と DAPI 染色法との十分な整合性を確認した。また、1%グルタルアルデヒドによる固定処理が生細

菌の検出率を向上させることを発見した。続いて、野外試験として BioSampler を用いた大気中細菌捕集を行った。BioSampler は大気中浮遊粒子を液体中に吸引・捕集する装置であり、一般的な細菌の大きさである  $1\ \mu\text{m}$  前後の粒子捕集効率がよく、捕集中の細菌の損傷も比較的減低できるといわれる。これを用いて大気中細菌を 1 時間捕集し、グルタルアルデヒド固定処理を施した BacLight 染色法ならびに DAPI 染色法による結果の相互比較を行った。検証の結果として、(1) BacLight 染色法はグルタルアルデヒド固定によって DAPI 法による結果と整合性を有する、(2) BioSampler による捕集によって 1 時間の時間分解能で大気中細菌の濃度および生存率の変動を追跡することができる、という 2 点が明らかになった。1 時間の捕集時間は気象の変化に対応可能な時間分解能であるため、本法が空気塊の移動に伴う大気中細菌の濃度変動の解明に適応可能であることが示された。

検証した方法を用いて春季・秋季の熊本市における移動性低気圧・高気圧の通過に伴う大気中細菌濃度および生存状態の変動を観測した。また、九州西岸域においては、大気中粗大粒子数濃度（粒径  $1\ \mu\text{m}$  以上）の数時間内の急増はアジア大陸からの空気塊の輸送によってもたらされることが知られているため、大気中浮遊粒子数濃度は外部からの空気の流入を示す有用な代用情報となり得る。そこで、低気圧・高気圧の通過に伴う大気中浮遊粒子数と大気中細菌との相関性を調査し、長距離輸送について検討した。低気圧に伴う寒冷前線の通過後、大気中細菌濃度と粗大粒子数濃度が同時に増加し、両者には相関がみられた。寒冷前線後面に位置する空気塊は比較的移動速度が速く、アジア大陸起源の粒子を多く含む気塊を日本あるいは北西太平洋にまで輸送することが知られる。したがって、粒子とともに増加した細菌はアジア大陸より輸送されたものが多く含まれていたと考えられる。くわえて、この濃度増加時に細菌生存率が 50%以下に低下したことから、大陸から輸送された細菌は死細菌が多く、大気中輸送時に損傷している可能性が示唆された。高気圧時の大気中細菌と粗大粒子は比較的濃度で相関がみられなかった。高気圧時は地表付近の空気塊があまり移動せず、停滞した空気質が形成される。このような条件下では、局地起源のエアロゾル粒子の蓄積が生じることが知られている。このことから、局地起源に由来する細菌が大気中に存在していることが示唆された。このときの細菌生存率は常に 80%以上であった。局地起源の細菌は発生源から放出されて間もないと考えられるため、大部分が生存率を保ったまま浮遊していたと考えられる。

春季の天草沿岸地域において同様の趣旨の観測を実施した。この地域は海岸に面しており、熊本市よりも産業や人間活動が少なく、人為的なエアロゾル発生源が少ない。結果は熊本市と同様、低気圧通過後における大気中死細菌と粗大粒子との相関と、高気圧条件下における高い細菌生存率が確認された。一方で熊本市の結果と異なり、高気圧条件下の海陸風により風向が変化する時間帯の前後に生細菌濃度の急増が見られた。このとき粒子数濃度は変動せず、周辺に細菌濃度上昇に関連するような人間活動および自然発生源がなかったことから、海陸風によって周辺で発生した生細菌の蓄積・輸送が短時間に生じていたことが考えられる。高気圧条件下の地表付近における空気塊の停滞は、海陸風のような局地規模での空気塊の移動を際立たせ、それに伴う局地由来細菌の濃度変動を駆動しているといえる。

以上の結果から、南西日本における総観気象の変化に伴う大気中細菌の濃度変動について以下のような結論を得た。高気圧通過時の空気塊中には局地起源と考えられる生細菌が多く、海陸風などの局

地的気象要因が大気中細菌の濃度変動を駆動している。一方で、低気圧通過時の空気塊中には長距離輸送されたと考えられる死細菌が多く、外部からの流入が大気中細菌濃度の変動をもたらしている。大気中細菌と粒子との相関関係から、外部から流入する空気塊においては細菌とエアロゾル粒子との相関が成り立つが、停滞性の空気塊では成り立たないことが明らかとなった。大気中細菌は自然起源の局地的発生源から一定供給がなされていると考えられるため、停滞性空気塊においては他の粒子とは関係なく蓄積・輸送が生じたと推察される。したがって濃度変動という点に限定すれば、エアロゾル粒子としての細菌は、遍在する局地的発生源に一定の影響を受けているという点が他のエアロゾル粒子との挙動の違いを特徴づけているといえる。しかし、このような粒子との挙動の違いについては、局地的発生源が大気中浮遊粒子の変動を決定づけない比較的清浄な環境においてのみ成り立つと予想される。

これまでに世界各地で観測されている地表付近大気中細菌濃度は平均的に  $10^5$ – $10^6$  cells  $m^{-3}$  のオーダーであり、本研究で観測されたオーダーと一致していた。また、過去様々な調査地点において、大気中細菌濃度は1桁の範囲で変動することが報告されており、本研究における濃度変動範囲と一致した。本研究による濃度範囲は、低気圧による細菌の輸送と高気圧下の海陸風に伴う細菌の急増により形成されていた。本研究において、過去の多くの研究と同じ一桁の変動幅を示すということは、総観気象の変化による空気塊の移動および海陸風が大気中細菌の濃度変動をもたらす主要因の一つであることを示している。