

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「海洋生物多様性および生態系の保全・
再生に資する基盤技術の創出」
研究課題「海洋生物群集の非線形応答解明のため
のリアルタイム野外実験システムの開発」

研究終了報告書

研究期間 平成24年10月～平成30年3月

研究代表者：仲岡 雅裕
(北海道大学北方生物圏フィールド科学
センター 教授)

§ 1 研究実施の概要

(1) 実施概要

本プロジェクトは、野外のアマモ場において、多様な非生物学的・生物学的環境要因を同時に操作したうえで生物群集の変動を連続観測するシステム FORTES (Free-Ocean Real-Time Experimental System) を開発することを目的とする。本体グループ(北海道大学)はアマモ場での実験システム本体、温度および栄養塩濃度の操作法、生物群集の連続観測サブシステムの開発を担当する。炭素グループ(海上・港湾・航空技術研究所)は二酸化炭素濃度の操作サブシステム、および消費者グループ(水産研究・教育機構)は忌避物質による消費者密度操作サブシステムの開発をそれぞれ担当する。

本体グループは、筏(フロート)および櫓を利用して後述するサブシステムを搭載できる実験システムの本体を作成し、また、アマモ場の海草類および付着藻類の変化を連続的に記録し、植生指数を利用して準リアルタイムでモニタリングできる小型軽量カメラシステムの開発を行った。栄養塩濃度操作においては、後述する二酸化炭素拡散用の物質溶解塔を利用したアマモ場への野外散布方法の開発を行った。なお、温度操作サブシステムについては平成 26 年度をもって開発を中止した。

炭素グループは平成 25 年度までに、電力を使わずに二酸化炭素を海水中に溶解する機器(物質溶解塔 ver. 1)を開発した。その後、平成 26 年度から 27 年度前半までの野外のアマモ場での精度検証を行い、その結果をもとに、不安定な流動環境のなかでも、二酸化炭素濃度をより安定的に操作できる改良型の物質溶解塔(ver. 2)およびカレントセクターの開発に成功した。

消費者グループは、小型無脊椎動物の操作用忌避物質について、まず甲殻類を対象に、野外に生息する生物由来の、安全かつ忌避効果の高い物質の特定、抽出を行った。続いて、軟体動物に有効な第 2 の物質の特定にも成功した。この 2 種の物質を組み合わせた生物多様性操作キットを完成させるための暴露実験を実施し、液体、固体の状態でも長期保存できる忌避物質の製作を完了した。その結果をうけ、平成 28 年度より特許出願手続きを進行中である。また、消費者であるアマモ場の無脊椎動物およびを対象とした準リアルタイム観測システムを市販のカメラ・ビデオを改良する形で安価に開発することに成功した。

以上の 3 グループの研究開発のうち、半閉鎖系および野外における開発・検証は、北海道厚岸町および島根県隠岐の島町のアマモ場を対象に、合同で取り組むことにより、二酸化炭素、栄養塩濃度、および消費者密度の同時操作を行える本システムの完成を目指した。各グループの試作したサブシステムを統合したシステム本体において、平成 28 年度よりその精度検証および改良を続け、開放系のアマモ場で 1 m²の実験区内の pH および二酸化炭素濃度を安定的かつ長期にわたり操作、維持する技術の確立に成功した。なお、本システムは、潮下帯上部(水深 1.5m)で潮汐流が大きい厚岸湖、および潮下帯深部(水深 3m)で潮汐流が小さい隠岐の島南部のアマモ場でともに二酸化炭素濃度を調整可能であり、多様な環境に生育する世界のアマモ場に広く適用可能であることが実証できた。

(2) 顕著な成果

<優れた基礎研究としての成果>

1. 開放系における海洋の二酸化炭素濃度の高度な操作技術の確立

概要:これまでの野外における海洋酸性化(二酸化炭素濃度)操作実験は、いずれも現場に閉鎖率の高いチャンバーを設置するものであった。これに対して、本開発システムは、開放率が90%以上の状態で、二酸化炭素濃度を将来のシナリオで想定される濃度に維持することができるという極めて革新性の高い技術を開発することができた。これによりチャンバーなどの遮蔽物のアーティファクトを最小限に抑えた状態で、野外底生生態系の植物から高次消費者に至る動態に与える海洋酸性化の影響を検証することが可能になった。

2. 底生生態系の無脊椎動物群集の構成と量を操作できる忌避物質の開発

概要:人手による数の操作が難しいアマモ場の小型無脊椎動物の操作実験においては、従来は殺虫剤などの無選択的かつ有毒で各地の環境基準上利用に制約がある化学物質が利用されていた。これに対して、本課題で開発した生物多様性キットは天然の生物の忌避物質を利用しており、環境毒性がなく、かつ節足動物類、軟体動物類毎に調整が可能であるという点が画期的である。これにより、これまで人為的、科学的制約が大きく実施例が少なかった藻場の消費者操作によるトップダウン効果の検証が世界的に進むことが期待される。

3. 水中で利用可能な小型準リアルタイム光学観測装置の開発

概要:アマモ場の海草と付着藻類の変動の解析においては、従来は破壊的採集調査を伴うため、経時的な観測が困難であった。今回、水中の植物類を対象に、可視光領域と近赤外領域の同時撮影ができる本観測装置を開発したことにより、陸上植物群集を対象に利用されてきたような多様な植生指数を利用した生態学的解析が進展することが期待される。開発機器は非常に安価であり、途上国を含めた各地の水生植物群集の研究に利用が進むことが予想される。

<科学技術イノベーションに大きく寄与する成果>

1. カレントセクターを用いた海洋開放系における物質散布操作方法の確立

概要:流向・流速の時間的変動が激しい野外のアマモ場にて、直前1分間の流動観測結果をもとに、準リアルタイムで二酸化炭素および液体肥料・忌避物質などの散布する物質の散布位置と散布量を操作できるカレントセクターの開発に成功した。これは、海洋浅海域において気体や液体を散布する事業一般に応用可能であり、常に上流側からの散布を可能にするという点で、散布効果・効率の向上に著しく寄与する技術としてさまざまなケースへの利用が期待される。

2. 安全性の高い海洋動物忌避物質による生物防除方法の開発

概要:本課題で海洋節足動物および軟体動物を対象に開発した忌避物質は、天然生物由来であり人工化学物質のような有毒性および環境基準による制約がないため、多様な生物防除の現場に広く利用されることが見込まれる。例えば、船底や養殖筏に付着する汚損生物の除去などに利用されれば産業的な価値も非常に高く、そのために大量生産によるコストダウンなどの技術的進展が望まれる。

3. 安価で汎用性の高い水中植物継時観測システムの開発

概要:操作実験進行中のアマモおよび他の動植物の変化を非破壊的に観測できる準リアルタイム観測装置について、陸上生態系を対象としたリモートセンシング技術を適用した小型かつ長時間記録可能な小型撮影システムを開発した。特定波長帯の同時撮影により NDVI のよう

な植生指数を沿岸水生植物に対して求められること、小型で安価に販売できることから、アマモ場だけでなく例えば、磯焼けモニタリングやサンゴ礁の白化の監視など多様な目的に広く利用されることが期待される。

§ 2 研究実施体制

(1) 研究チームの体制について

① 「本体」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
仲岡 雅裕	北海道大学北方生物圏フィールド科学センター	教授	H24.10～
中村 誠宏	同上	准教授	H24.10～
中路 達郎	同上	准教授	H24.10～
頼末 武史	同上	特任助教	H27.7～

研究項目

- ・ 野外実験システム本体の開発
- ・ 生物群集応答の準リアルタイム測定サブシステムの開発
- ・ 温度操作・観測サブシステムの開発
- ・ 栄養塩濃度操作・観測サブシステムの開発

② 「炭素」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
桑江 朝比呂	海上・港湾・航空技術研究所・港湾空港技術研究所	チームリーダー	H24.10～
佐々 真志	同上	チームリーダー	H24.10～
茂木 博匡	同上	専任研究員	H25.7～
渡辺 謙太	同上	研究官	H24.10～
所 立樹	同上	研究官	H24.10～H29.3
中川 康之	同上	チームリーダー	H24.10～H29.3

研究項目

- ・ 二酸化炭素濃度操作・観測サブシステムの開発

③ 「消費者」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
堀 正和	国立研究開発法人水産研究・教育機構・瀬戸内海区水産研究所	主任研究員	H24.10～
隠塚俊満	同上	研究員	H24.10～
伊藤克敏	同上	研究員	H24.10～
吉田吾郎	同上	グループ長	H24.10～
所 立樹	同上	研究等支援職員	H29.5～
Bayne, Christopher J.	同上	研究等支援職員	H29.4～
中曾由美	同上	臨時職員	H27.4～
高場由美子	同上	臨時職員	H29.4～
濱岡秀樹	同上	研究等支援職員	H25.4～H29.3
佐藤允昭	同上	研究等支援職員	H27.4～H29.3

研究項目

- ・ 消費者群集差操作・観測サブシステムの開発

(2) 国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について

【チーム間連携】

本研究領域内のチーム間連携として、本研究課題で開発する温帯域アマモ場用の FORTES を改良して、亜熱帯海域のサンゴ礁域で海洋酸性化影響に関する野外操作実験をできるシステム作成を検討した。このため、炭酸系の変化と群集代謝の変化を観測する技術開発を行っている茅根創・東京大学教授のチーム、操作実験に伴う微生物群集の変化を高速に解析する技術開発を行っている竹山春子・早稲田大学教授のチームと、研究開発の進め方について討議を行った。また、アマモ場のリモートセンシングを担当している小松輝久・東京大学准教授のチーム、海洋高次消費者の環境 DNA の研究を行っている近藤倫夫・龍谷大学教授のチーム、および高次消費者の行動解析を行っている宮下和士・北海道大学教授とのチームとも連携し、最終年度に国際シンポジウムを開催し、今後の研究計画について議論を行った。

【国際連携】

本研究チームの仲岡と堀は、世界中のアマモ場で連携して野外観測と野外操作実験を行っている国際研究ネットワーク ZEN (Zostera Experimental Network; <http://zenscience.org/>) に 2011 年より参画している。ZEN はこれまで栄養塩濃度や消費者密度の変異がアマモ場生物群集に与える影響について、従来型の操作実験によりアプローチしてきた¹。本研究開発システム FORTES は、このネットワークを通じて、直ちに世界展開が可能であり、太平洋および大西洋の温帯～亜寒帯域の多数のアマモ場で、海洋酸性化と富栄養化および乱獲がアマモ場に与える相互作用を明らかにするための操作実験に利用できる見込みである。プロジェクト終了後の国際展開の進め方を検討するため、2018 年 2 月に本チームが主催する国際シンポジウムを東京で開催した。

1 Duffy et al. (2015) Ecology Letters 18: 696-705

【産業界との連携】

二酸化炭素操作・観測サブシステムの開発については、海洋の二酸化炭素濃度測定機器の開発を行っている国内の企業との連携により、より効率的な観測・操作方法の検討を行っており、本プロジェクトで開発するシステムの製品化も計画している。また、消費者忌避物質の開発においては、有機化学分析に実績のある国内の企業と共同研究による、物質の成分分析、精製、製品化等を行っており、特許申請後に商品として販売することも検討している。さらに、本体グループが開発した小型水中植物継時観測装置についても開発に際して助言をいただいた国内企業と市販について協議している。

§ 3 研究実施内容及び成果

3.1 本体グループ(北海道大学 仲岡グループ)

研究項目 1. FORTES本体の開発

① 研究のねらい

本研究項目では、野外のアマモ場において、水温、二酸化炭素濃度、栄養塩濃度、消費者密度それぞれの操作・観測をするサブシステム、および生物群集の変動を準リアルタイムで観測するサブシステムを搭載する FORTES 本体を開発することを目的とする。

② 研究実施方法

・初年度から平成28年度には FORTES 本体について、野外アマモ場での設置方法、各サブシステムの本体への搭載および操作方法、さらに目的とする操作が及ぶ空間範囲の設計をしたうえで、野外での試行実験を行った。

・平成 26 年度から最終年度においては、室内および半閉鎖系で開発が行われた各サブシステムを本体に搭載して検証を行い、FORTES 全システムを完成させた。

③ 研究実施内容

1-1: FORTES 本体のデザインおよび設置方法の検討

平成24年度には、全グループの構成員により、システム全般および各環境要因のリアルタイム観測法および現場操作法にかかる基本方針・設計を検討し、下記のように決定した。

- 当初の予定通り、途上国沿岸海域でも安価に操作実験ができるように、設置・メンテナンスが低コストでできるシステムを完成目標とする。
- 二酸化炭素、栄養塩、消費者密度を現場において効率的に操作するため、システム本体上で一律に操作して現場のアマモ場に投入する方式を検討する(図 1-1 左)。
- アマモ場にて操作を行う空間スケールは 1~2 m²とする。

平成25年~27年度の春季から秋季にかけて、上記方針に基づき、厚岸湖北部のアマモ場でシステム本体の野外検証実験を実施した。まず、平成 25~26 年度は筏を利用したシステムを設置し、その耐久性、各種操作・観測の効率性を検証した。また、平成 27 年度には、二酸化炭素分圧測定計などの高額な機器をより安全に長期係留するために、櫓を設置したシステムも設置した。いずれの方法においても各サブシステムの操作・観測システムを安定して運用できることが確認できたが、結果的に櫓と筏を組み合わせることにより、より効果的に運用できることが判明した(図 1-1 右)。

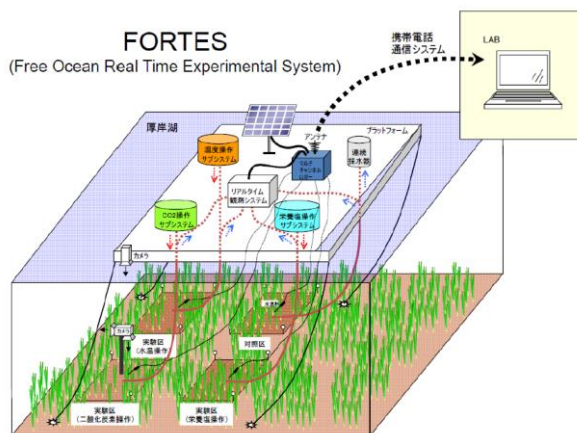


図 1-1. FORTES 本体に関する概念図(左)と野外のアマモ場に設置した FORTES 本体(右)

1-2: 野外のアマモ場の物理化学的環境条件の把握

平成 25 年度の春季～秋季にかけて厚岸湖に設置したシステム用の筏に各種測器を長期係留すると共に、定期的に連続採水を行うことにより、実験海域の水温、塩分、流速、流動、栄養塩濃度の時空間的変動の様式を把握した。水温、塩分および栄養塩濃度については、水深に伴う明確な変化(躍層)は認められず、実験海域の水塊が垂直方向に均一であることが判明し、環境条件の操作に適した条件であることを確認した。また、流向、流速については、南北方向の流れが卓越し、小潮時から大潮時にかけて、平均流速が 0～10 cm/s に変化すること、また振動流成分は、風の強い日に平均周波数 2 秒で最大 15 cm/s 程度になることが判明した。この条件をもとに、炭素グループが行う大型屋内水槽実験の流動条件を設定した。また、消費者(アマモ場の小型無脊椎動物)の変動パターンも把握した(Momota & Nakaoka 2016)。

1-3: リアルタイム通信システムの開発

水温、塩分、二酸化炭素濃度の準リアルタイム観測・通信システムについては、平成 25 年 5 月に厚岸湖に設置したシステム本体筏にて、携帯電話回線 (docomo) の通信速度を確認したうえで、設計、製作を行った(図 1-2)。その試行実験を平成 26 年 7 月に厚岸湖のアマモ場のシステム本体において実施した。その結果、現場に設置した測器モニタリング・指令用のパソコンを実験室からリアルタイムで監視、操作する方法を確立した。

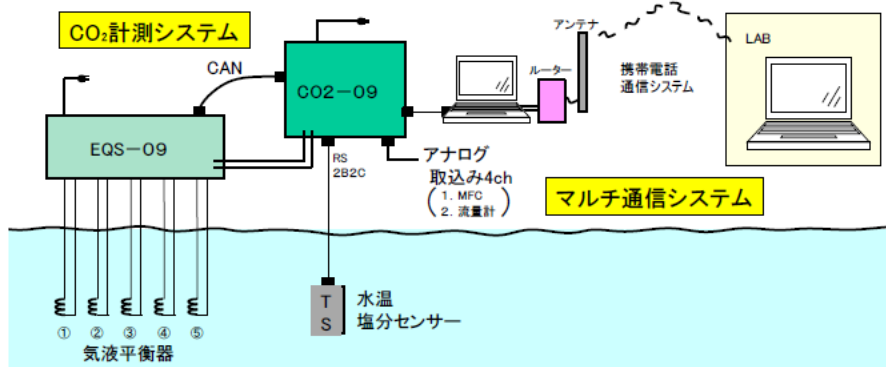


図 1-2. 水温、塩分、二酸化炭素分圧のリアルタイム通信システム

④ 成果の位置づけや類似研究との比較

本研究項目は、実験操作サブシステムの搭載方法および通信システムの動作確認、ならびに実験を行う場所の非生物的・生物的諸条件の観測という基盤的かつ予備的研究と位置付けられるため、新規性はないが、既存知見・製品の組み合わせで、安価に基盤システムを構築できたことから、本実験システムの汎用性を確認することができた。

研究項目 2. 生物群集応答のリアルタイム測定サブシステムの開発

① 研究のねらい

主に光学的手法を用いて、アマモ場生物群集を継続的に計測する技術を確立する。特に、特定波長比を利用して対象生物の生理的状態や機能的変化を評価する方法を開発する。

② 研究実施方法

- ・屋内水槽を利用した閉鎖系における開発・検証を平成24年度～26年度に実施した。
- ・屋外水槽を利用した半閉鎖系における開発・検証を平成25年度～28年度に実施した。
- ・野外のアマモ場における実装・検証を平成 26 年度～29 年度に実施した。

③ 研究実施内容

平成 24 年度には、厚岸臨海実験所の屋内水槽にアマモを移植して培養し、その中で、水中および水面上に複数の可視光カメラを設置して画像を撮影し、アマモ場の変動を 3 次元的に追

跡できることを確認した。次に、可視光より長い波長におけるアマモの分光反射特性について検討し、可視～短波長赤外領域(0.4～1.7 μ m)の連続多波長画像を撮影するハイパースペクトルカメラシステムを製作した。

平成25年度には、前年度に作成したハイパースペクトルカメラを利用した光学的なモニタリングの試行を屋内水槽システムで実施した。水槽に海草の種類(アマモ、カワツルモ)および葉上部の状態(付着藻類、ウズマキゴカイの有無)を変化させて移植し、水槽側面より可視光から近赤外にかけての連続撮影を行い、植物の状態の判別の可否を検証した。その結果、付着藻類の有無については、緑色(550 nm)、赤色(650 nm)、近赤外域(>720 nm)で反射率に違いがみられ、その比を利用した分類法の開発ができる目途が立った(図2-1)。また、アマモの葉の令によって波長域による反射率の変異が検出され、この方法により、アマモの葉の令構成などアマモの生理的・生態的状态を示す指標の開発も可能であることが示された。

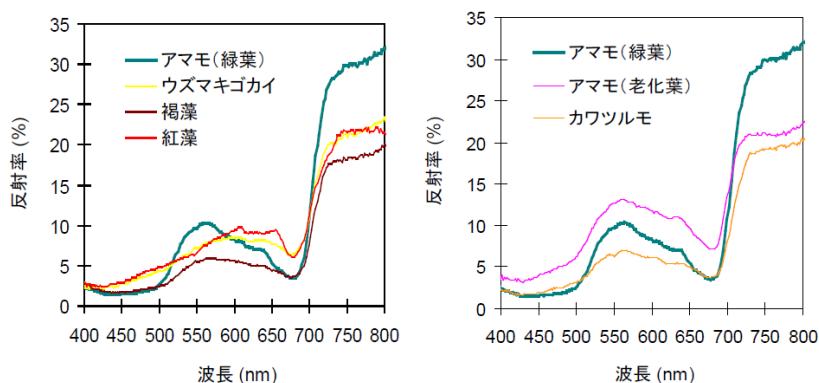


図2-1. ハイパースペクトルカメラによるアマモ植生の状態把握方法の検討。左図では、付着藻類、固着動物の有無による連続スペクトルの反射率の変異、右図は海草の種類および葉の例による反射率の変異を示す。

平成26年度には、前年度室内実験で検証した波長比を用いてアマモの状態および付着藻類を判別する水中画像撮影システムの製作に取り掛かった。野外で長時間連続撮影ができる小型かつ安価な撮影システムについては、小型コンピュータであるRaspberry Piを用いて作成することとした。Raspberry Pi本体に撮影時間・間隔を制御するサブシステムであるSleepy Pi、および可視光・近赤外小型カメラを組み合わせる方法が効果的であることを確認した。

平成27年度にはインターバル可視光カメラの試作機を製作し、野外で耐水性・耐久性の検証を行った。その結果、耐水性を確認すると共に、市販の単三乾電池8本搭載で、1時間毎の間隔で1週間以上の連続撮影ができることを確認できた。その成果に基づき、平成28年度から29年度にかけて、最終開発製品となる可視3波長&近赤外1波長の自動撮影システムを完成させた(図2-2)。自動撮影システムは、3282*2464 pixelの画像を、可視3バンド+近赤外1バンドの計4波長帯について、自動インターバルで2週間継続して撮影できる(1時間毎撮影時)。ビームスプリッターを搭載することにより、2台のカメラの視差を改善し、近接撮影した対象物を重ね合わせることができることが特徴である。平成25年度の結果を参考に、撮影する波長は緑色(中心波長520 nm)、赤色(610 nm)、近赤外域(830 nm)に青色(450 nm)を加えたものとした。

平成29年度には、北海道大学苫小牧研究林の水草群落で連続観測を行い、緑葉量やフェノロジー指標である植生指標を算出したところ、背景と水草の判別、および緑葉部分の数値化に成功した。これにより可視+近赤外情報によるアマモ類・藻類の判別できることにめどが立ったので、平成29年秋季に厚岸湖のアマモ場での撮影試験を実施している。緑葉を特異的に表現するNDVIの可視化に加え、4波長の反射情報を利用した自動分類を試みており、アマモと付着藻類の判別が可能となった(図2-3)。

④ 成果の位置づけや類似研究との比較

光学的手法による海洋生物の経時的観測のうち、特に波長比を利用した植生指数等の利用は、海水の光吸収特性のため、表層の植物プランクトン等のごく限られた対象に限られてきた。

アマモ場の植物群集を対象にした解析例は非常に少なく、特に安価に製作できるタイムラズプカメラを使った解析は非常にユニークであり、本分野の今後の進展にも貢献することが期待される。



図 2-2. 完成した近赤外・可視光カメラシステム

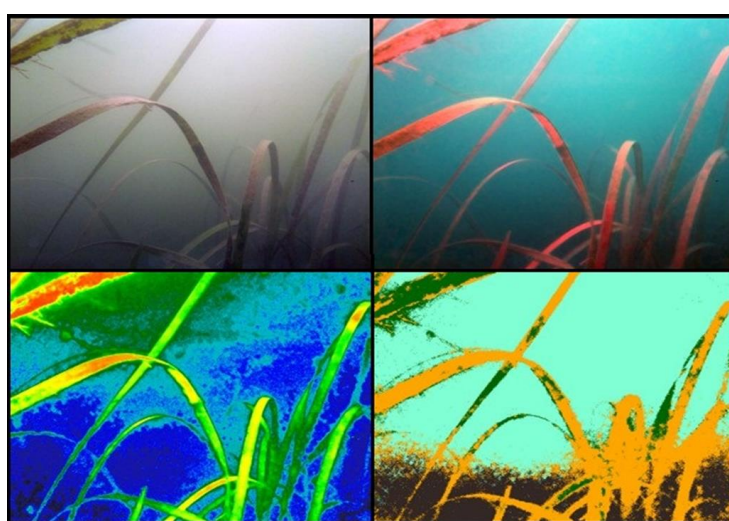


図 2-3. アマモ場を対象に撮影した画像と植生指数と自動分類の結果。左上図が可視光によるカラー画像、右上図が近赤外を合成した疑似カラー画像、左下図が算出したNDVI画像、右下図が自動分類（緑：アマモ、橙：褐藻類、水色：海水、茶色：湖床）の結果を示す。

研究項目 3. 温度操作・観測システムの開発と検証（北海道大学 本体グループ）

①研究のねらい

野外のアマモ場において水温を局所的に上昇させ、その変化を連続的に観測するシステムを開発する。

②研究実施方法

- ・屋内水槽を利用した閉鎖系における開発・検証を平成24年度～26年度に実施した。
- ・屋外水槽を利用した半閉鎖系における開発・検証を平成25年度～26年度に実施した。

③研究実施内容

平成 24 年度には、水温操作方法について予備的な知識を得るために、北海道大学厚岸臨海実験所の屋内大型水槽に約 1 m²のアマモ場を設置し、市販の投げ込み式ヒーターを用いて、電力、水の交換率と、水温上昇率の関係を測定した。その結果、調査予定地でのアマモ場の流動条件で、実験区の水温を周辺より 1℃高い状態にするためには、市販のヒーターでは必要電力量が大きく不足することが明らかになった。この解決法として、(1)外部電源を用い電力を陸より供給する方法、(2)太陽熱(ソーラーヒーター)を利用して水温上昇させる方法、(3)実験区に囲いをつけ水の交換率を低下させる方法が考えられた。関係者の議論の上、本技術開発の趣旨に合致するように、(2)のソーラーヒーターを利用した方法について次年度以降、屋外の半閉鎖系水槽(かけ流し式)で開発することとした。

平成 25 年度は、厚岸臨海実験所の屋外において自作したソーラーヒーターを用いることにより、気温-5℃でも晴天下なら流量 8 リットル/min で水温を 1℃上昇させることに成功した。この能力では、セミエングロージャー(オープンチャンバー)を用いれば野外でも目的の水温の上昇(1 m²の範囲を 1℃上昇させる)ことが可能であるが、囲いを用いないオープンプロットでの効果的な加温には、より効率的な方法が必要である。

平成 26 年度はさらに集光能力を向上させたソーラーヒーターによる加温システムを製作し、屋外水槽に接続してその効率を検証した。効率的に太陽熱を集めるシステムとして、チューブ式とパラボラ式ヒーターの 2 種を試作して比較検討した。その結果、パラボラ式ヒーターより、チューブ式ヒーターの方が効率よく、また費用も安く製作できることが分かった。本システムでは、毎分 8 リットルの水量で最大 2℃近く温度を上昇させることに成功した。ただし、水温の上昇がみられるのは日中の晴天時のみであり、曇天時および夜間は逆に水温が対照区より低くなることもあった。

⑤ 成果の位置づけや類似研究との比較

本研究項目で目指した極力電力を利用しない加温システムの作成については、天候の条件に左右されずに水温を操作することは非常に難しいことが判明した。類似研究では、大容量電力を利用しているが、その方法は新規性に乏しい。以上の点、および他のサブシステムの開発に時間と労力を注ぐため、本サブシステムの開発は平成26年度を以って中止することとした。ただし、温水が必要量供給可能な場所(例えば、発電所が近傍にあるアマモ場など)では、本研究計画で開発するFORTESの装置を用いて水温も操作することが可能である。

研究項目 4. 栄養塩添加システムの開発と検証

① 研究のねらい

野外のアマモ場において栄養塩濃度を局所的に上昇させるサブシステムを開発する。

② 研究実施方法

- ・屋内水槽を利用した閉鎖系における開発・検証を平成24年度～27年度に実施した。
- ・屋外水槽を利用した半閉鎖系における開発・検証を平成25年度～28年度に実施した。
- ・野外のアマモ場における実装・検証を平成 26 年度～29 年度に実施した。

③ 研究実施内容

平成 24 年度には栄養塩の操作方法について、北海道大学厚岸臨海実験所の屋内水槽を用いて、既に技術的に確立しているポリマーコート遅効性肥料を用いた添加方法、および液体肥料を用いた滴下方法の 2 種を検討した。閉鎖系ではいずれも効率的に栄養塩濃度を上昇させることができることが判明したが、FORTES 全体の開発方針に合わせ、次年度以降は液体肥料を炭素グループが開発する物質溶解塔を用いて散布操作することにした。

平成 25 年度より、栄養塩濃度を二酸化炭素濃度と同時に操作するため、物質溶解塔を用いた液体肥料の散布方法の検討を行った。平成 26 年 1～3 月にかけて、瀬戸内区水産研究所の屋外大型水槽を用いた実験により、市販の液体肥料の濃度と流速を操作したときのアマモ場内の栄養塩濃度の微小空間スケールでの変化を把握した。その結果、流速に応じて栄養塩の拡散の程度が異なるものの、物質溶解塔の吹き出し口を中心に濃度を高くすることができることが判明した。

平成 26 年度には、野外のアマモ場での物質溶解塔を用いた栄養塩操作実験を開始した。6～10 月にかけて、厚岸湖北部の定点に FORTES 本体を設置し、実際のアマモ場における安定的な運転の可否を確認すると共に、栄養塩の散布実験を実施した。しかし、実験区のアマモ場の栄養塩の濃度を有意に上昇させることはできなかった。この理由として、夏季の厚岸湖において自然条件の栄養塩濃度が高かつ大きく変動するため、採用した屋外水槽実験用の送液システムでは十分な量の栄養塩を供給できないことが考えられた。そこで、より供給量を上げるため

送液ポンプの改良を行った。

平成 27 年 2 月上旬に、改良した送液ポンプを利用した新しいシステムを用いて、瀬戸内海区水産研究所の前浜にアマモを 1 m² の区画で設置し、栄養塩添加実験を行った。今回は栄養塩の濃度は実験区の一部で散布前より高くすることに成功したが、実験区内には栄養塩濃度の水平・垂直分布に大きな異質性が認められた。そこで、同じ場所で、引き続き 2 月下旬～3 月下旬にかけて、物質溶解塔を 2 本および 4 本にして栄養塩の散布実験を続けた。その結果、物質溶解塔を複数利用することにより、実験区の下層中央部で栄養塩濃度を上昇させることができた。

平成 27 年度の 5～9 月には厚岸湖北部の天然のアマモ場で FORTES 本体を設置し、物質溶解塔を用いた二酸化炭素と栄養塩の散布実験を継続した。流速が弱い条件下(平均流速が 1 m/s 程度)ではアマモ場低層部(海底より 50cm 上)において効率的に栄養塩濃度を増加させることができたが、アマモ場表層の栄養塩濃度は上昇しなかった。一方、流速が高い条件(平均流速が 2～3 m/s)では、栄養塩濃度は表層、底層共に目的の濃度には達しなかった。そこで、物質溶解塔の全面的な改良を行い、より効率的な栄養塩の散布を検討することにした。

平成 28 年度には、改良した物質溶解塔 version 2 を用いた栄養塩の散布実験を厚岸湖で実施した。その結果を図 4-1 に示す。栄養塩濃度は、添加後 30 分および 1 日後に実験区内が対照区よりも高くなっていることが確認されたが、2 日後はほぼ同じ濃度レベルであった。2 日後の採集時点においては流向が 90 度方向であったため、後述の物質溶解塔の設置の誤差が影響している可能性が考えられる。

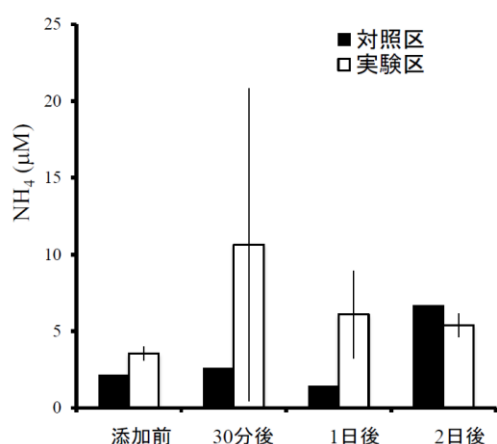


図 4-1. 改良した物質溶解塔を用いて厚岸湖で栄養塩添加実験をした際のアンモニウム塩濃度の変化(平成 28 年度)

そこで、平成 29 年度にはこの設置誤差を小さくする改良を行った FORTES を用いて、栄養塩の操作実験を行った。厚岸湖では 8 月下旬から 9 月上旬にかけてリン酸ナトリウムを飽和濃度で添加する実験を行ったが、実験区内での栄養塩濃度の有意な上昇は検出されなかった(図 4-2)。一方、隠岐において 2 月初旬に行った実験では、実験区内のリン酸塩は非常に高く保つことができた(図 4-3)。以上より、本システムによる栄養塩濃度操作については、貧栄養海域では有効に実施できることが判明した。

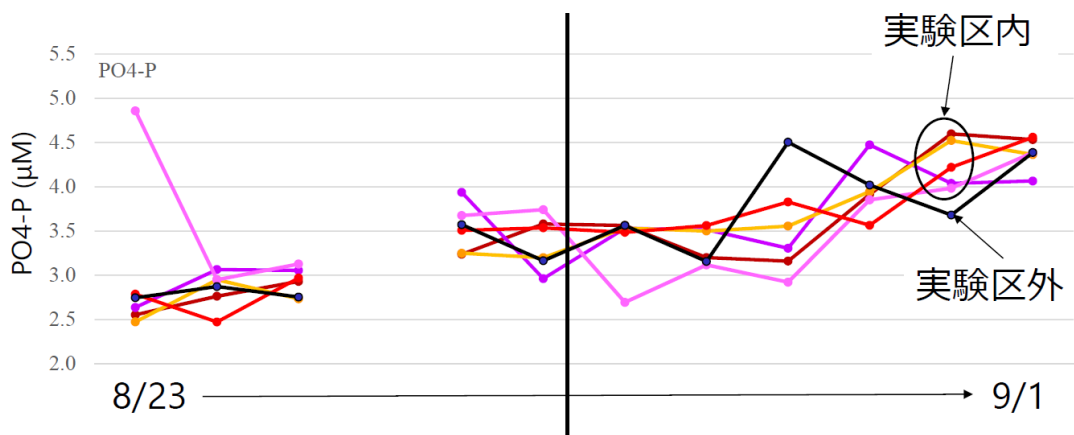


図 4-2. 改良した物質溶解塔を用いて厚岸湖で栄養塩添加実験をした際のリン酸塩濃度の変化 (平成 29 年度)

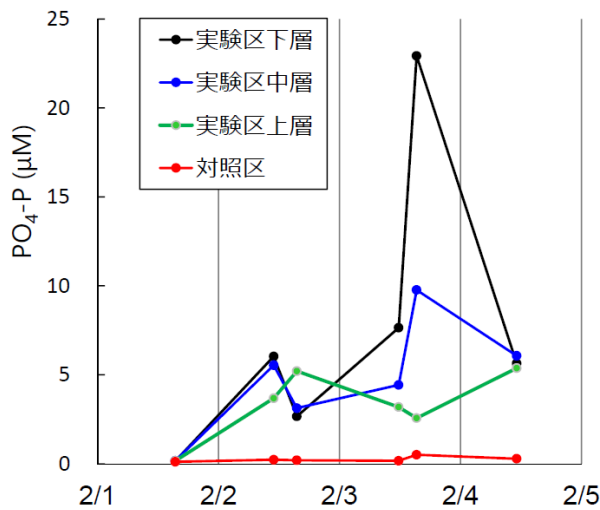


図 4-3. 改良した物質溶解塔を用いて隠岐のアマモ場で栄養塩添加実験をした際のアンモニウム塩濃度の変化 (平成 29 年度)

④ 成果の位置づけや類似研究との比較

アマモ場において二酸化炭素濃度と栄養塩濃度を同時に操作する手法を確立できた。このシステムを複数のアマモ場で利用することにより、アマモ類の生産性の律速要因が栄養塩であるか二酸化炭素であるかという従来からの問題に対して、その条件依存性を踏まえて一般則が解明されることが期待される。類似研究における栄養塩濃度操作は主に固体の遅効性肥料を利用しているが、液体肥料を用いることでより効果的な操作ができるようになった。

3. 2 炭素グループ(海上・港湾・航空技術研究所 桑江グループ)

研究項目 5. 二酸化炭素添加・観測システムの開発と検証

① 研究のねらい

本研究項目では、FORTES において水中の二酸化炭素濃度を添加操作し、その変動を準リアルタイムでモニタリングする基盤技術(二酸化炭素添加・観測サブシステム)の開発を目的とする。

② 研究実施方法

- ・屋内水槽を利用した閉鎖系における開発・検証を平成24～28年度に実施した。
- ・屋外水槽を利用した半閉鎖系における開発・検証を平成25～28年度に実施した。
- ・野外のアマモ場における実装・検証を平成 26～29 年度に実施した。

③ 研究実施内容

平成 24 年度は、二酸化炭素添加・観測サブシステムの基本的な設計と関連する機器の選定を行った。添加システムに関しては、逆 U 字状の配管に二酸化炭素を気泡として注入し、気泡の浮力による流れの中で気泡を溶解させてから測定水域へ放出する方法を基本的な設計とした。この手法では、二酸化炭素の供給ポンベの圧力のみを動力源とし、電力の消費をゼロにできる。

平成 25 年度は、上記サブシステム(以下、物質溶解塔)の試作機の製作と、港湾空港技術研究所の大型流動水槽実験による検証を行った。物質溶解塔に関しては、「h」字状の透明 PVC 製とし(図 5-1)、添加する二酸化炭素のガス圧のみで海水の取り込み・二酸化炭素との混合・高濃度二酸化炭素海水の放出が可能となる設計とした。蛍光トレーサー(ウラニン)を使った室内実験では、想定する野外実験サイトに準じた流動特性下で、物質溶解塔から放出された蛍光トレーサーを連続測定した。実験の結果、一定流では水平方向の拡散が大きく鉛直方向の拡散が小さかったが、振動流では水平方向の拡散が小さく鉛直方向に大きいという特徴がみられた(図 5-2)。



図 5-1. 物質溶解塔

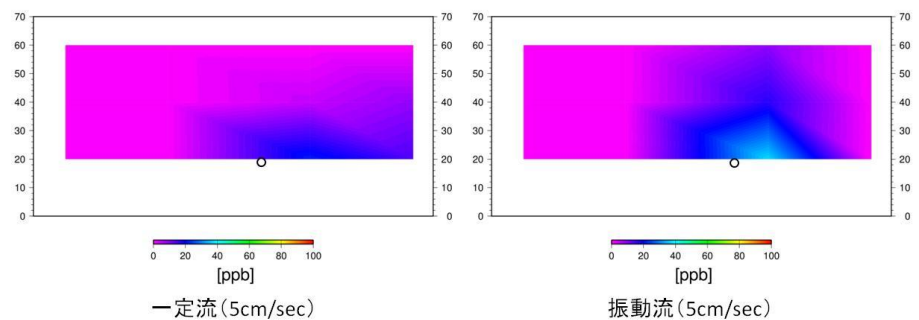


図 5-2. 流動実験におけるウラニンの拡散分布の一例(振動流)。白丸はウラニンの噴出口の位置を示す。

平成 26 年度は、物質溶解塔の性能を屋内水槽実験と野外調査で検証した。屋内水槽実験では、メソコム実験水槽(図 5-3)において、閉鎖空間における二酸化炭素添加の効果を検証した。水中二酸化炭素濃度は 1 時間ほどの添加で約 500 pm から約 2500 pm まで上昇しており、閉鎖空間内では十分な効果があることが明らかとなった。

野外調査では、メインサイトである北海道厚岸湖(図 5-4)およびサブサイトの瀬戸内海(瀬戸内水研前;図 5-5)で二酸化炭素添加の試験を行った。しかしながら、二酸化炭素の上昇は予想

よりも小さく、その場の流れの影響を非常に強く受けていたことが明らかとなった。よって、これらを解決するための、システムの変更(物質溶解塔を4機に増設・添加量を増加)を行った。



図 5-3. メソコスム実験水槽 図 5-4. 野外調査(厚岸湖) 図 5-5. 野外調査(瀬戸内水研)

平成 27 年度は、変更した物質溶解塔を使用して、メインサイトの厚岸湖において 24 時間以上の二酸化炭素添加を 3 回行った。この実験では、平均的には長時間にわたって目標値(1000 ppm)をキープすることに成功した(図 5-6)。しかし、時間的・空間的なばらつきが非常に大きかった

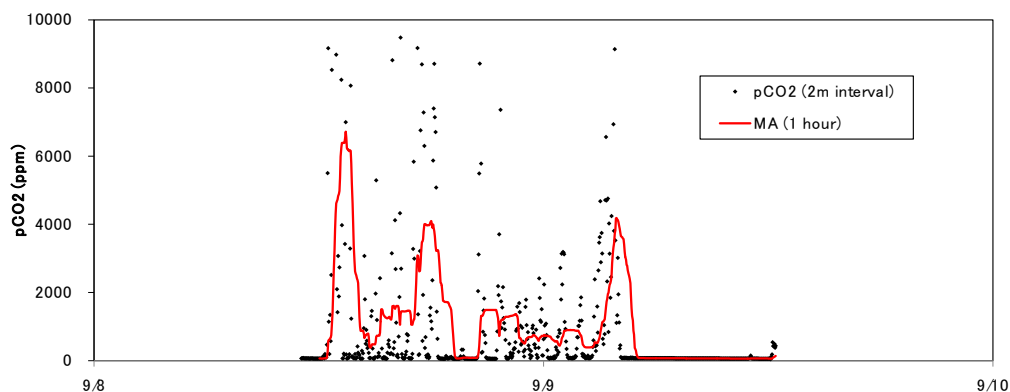


図 5-6. 厚岸湖の実験システムにおける二酸化素上昇分布

ここまでの野外実験の結果を受け、流動条件が絶え間なく変わる野外海洋環境にて安定して二酸化炭素、栄養塩濃度、消費者忌避物質を操作するための物質溶解塔の大規模な改良 (version 2 の作成) に、平成 27 年 10 月より着手した。基本デザインとしては、これまで 1 か所

のみから物質が散布される物質溶解塔 version 1: 図 5-1) を 4 つ組み合わせて、1 m² の実験区の外側から内側に向けて連続的に物質が散布される改良を行うことにした(物質溶解塔 version 2; 図 5-7)。

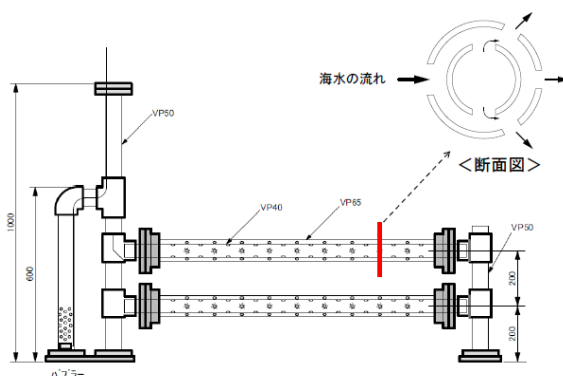


図 5-7. 物質溶解塔 version 2 の設計図。パイプ部分の断面図も示す。

さらに、この物質溶解塔 version 2 については、常に実験区の上流側から物質が散布されるように流動環境を常時モニタリングしながら、指導的に上流側の二酸化炭素等の送流をオンにする(下流側をオフにする)制御装置をつける。これは「カレントセクター」と呼ばれ、物質溶解塔の近傍に設置した電磁流速計からのデータをリアルタイムで読み取り、それに応じて4つの物質溶解塔へ二酸化炭素を送り込む電磁弁のスイッチを操作する仕様になっている。

物質溶解塔 version2 については平成 27 年度後半に試作機を製作し、港湾航空技術研究所の室内水槽を用いて流動テストを行った。その結果、上下のパイプの流量を調整するための弁の設置や、二酸化炭素や液体肥料の導入位置などに更なる改良が必要であることが判明した。

なお、添加した二酸化炭素のモニタリングシステムを、これまでの水中二酸化炭素濃度の測定から pH を測定する方法に変更した。この変更によりモニタリングシステムの省スペース化と安定性の向上が可能となった。

平成 28 年度には、前年度後半に設計、試作した物質溶解塔 (version 2) を用いた二酸化炭素濃度操作精度の検証を野外のアマモ場で実施した。平成 28 年 5～6 月に、厚岸湾の支流である汐見川河口付近のアマモが生えている水路において物質溶解塔を実験区の上流部分と下流部分に1個ずつ設置し、実験を行った(図 5-8)。二酸化炭素は、潮汐流の方向に合わせて、上流側の溶解塔より、1000 ml/min で散布した。なお、流れが止まっている移行期には 2000 ml/min を両方に添加した。添加実験の結果、流速条件の変化にもかかわらず、実験区内の pH を実験区外よりも安定して 0.2～0.3 低下させることに成功した(図 5-9)。

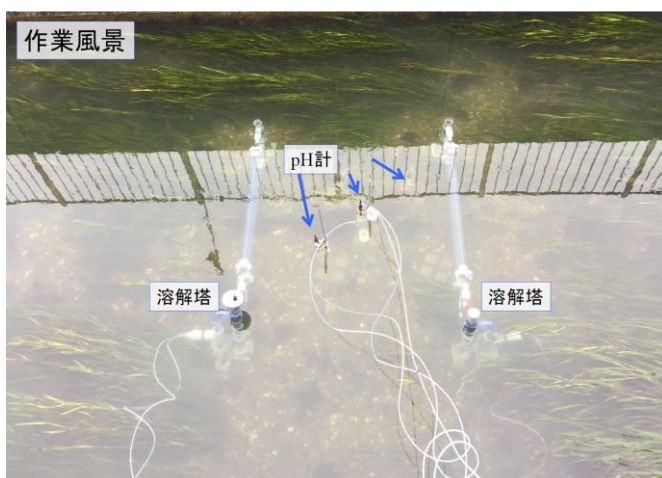


図 5-8. 汐見川における実験風景

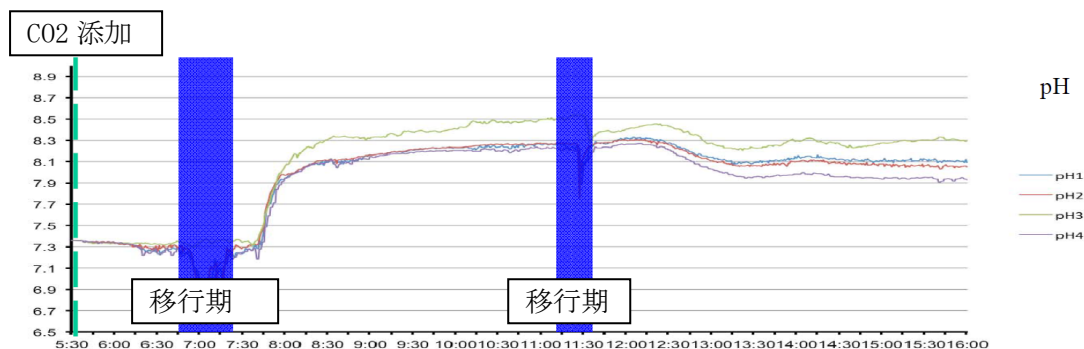


図 5-9. 汐見川における二酸化炭素操作実験の結果。4機の pH 計のうち実験区外部に設置した pH3より内部に設置した pH1, 2, 4 の値が一貫して低いことがわかる。

引き続き、前年度設計した「カレントセクター」の製作、運用テストを厚岸湖にて行った。栄養塩(液肥)および消費者忌避物質を同時に添加するためには、液体用の導入経路制御システムも同時に動かすことが必要であり、これに伴いカレントセクターには、気体添加制御装置および液体添加制御装置の2つのサブシステムを搭載することにした(図 5-10)。これを実際に厚岸湖に設置して、流向、流速の変化に対応した二酸化炭素および液体類の散布状況とその拡散についてモニターを行い、設置条件の詳細を決定した。

その結果、流向の変化に対しては、それぞれの上流の物質溶解塔1もしくは2機から添加を行うことが有効であることが分かった。例えば、西からの流れに対しては、それぞれの上流型にある物質溶解塔の1機から設定した流量(例えば、3000 ml/min)で二酸化炭素および液体を添加する(図 5-11左)。一方、流れが北西から来る場合は、北側および西側の2機の物質溶解塔からそれぞれ 1500 ml/min で添加を行う(図 5-11中)。さらに流れがない条件下では、4つの物質溶解塔全てからそれぞれ 750 ml/min で添加を行う(図 5-11右)方法が有効であった。なお、流向の区分角や静穏時と判定する閾値の流速については、アマモ場の流動環境の特性や潮汐、水深などにより設定を変更することが必要であることも判明した。

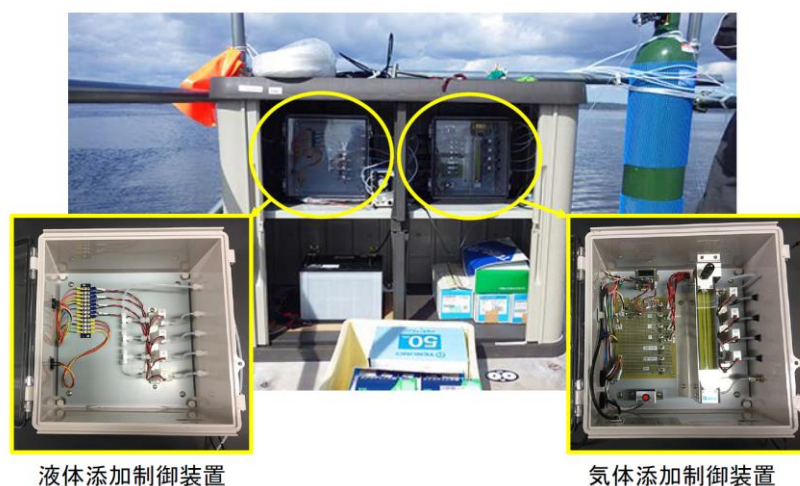


図 5-10. 厚岸湖の実験海域に設置したカレントセクターと気体、液体添加制御装置の拡大図

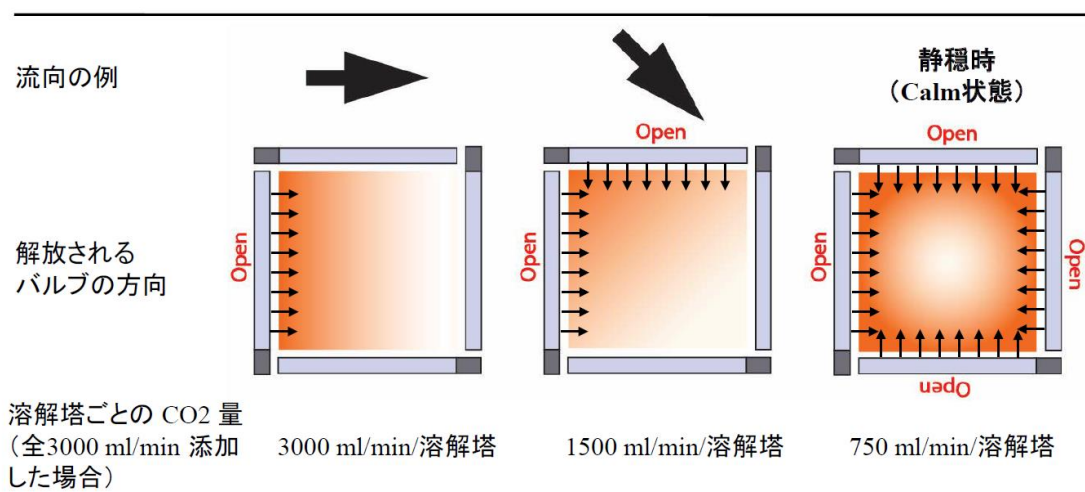


図 5-11. 野外フィールドの流向、流速の変化に対応したカレントセクターの運用方法の検討

物質溶解塔 version2 とカレントセクターを用いた二酸化炭素、栄養塩（液肥）および消費者忌避物質の添加実験を厚岸湖の実験サイトにおいて、平成 28 年 9～10 月にかけて実施した。二酸化炭素の添加を 48 時間継続したときの実験区および周辺海域（対照区）の pH の変動結果、および参照データとしてその時間帯に計測した流向と流速のデータを図 5-12 に示す。本システムを用いた二酸化炭素濃度操作により、実験期間中平均して、pH を 0.1～0.2 低下させることができた。ただし、流速が遅い静穏時には pH が設定よりも下がりすぎてしまうこともわかった（図 5-12 の緑色で囲んだところ）。また、流向が 90 度方向からの場合は、pH の低下が見られなかった（図 5-12 の青色で囲んだところ）。これについては、現場での物質溶解塔の設置の際に、設定した角度から誤差が大きく、2つの物質溶解塔の間に隙間ができてしまったことによると推察された。

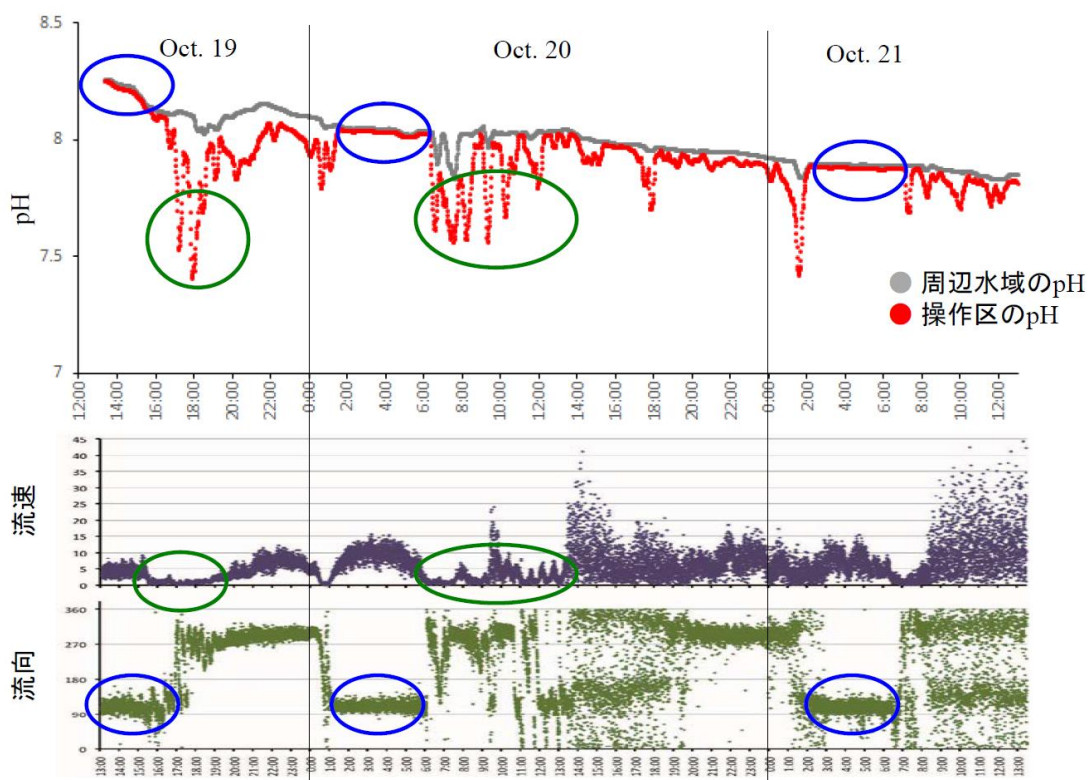


図 5-12. 二酸化炭素添加実験の結果。上図は実験操作区および対照区(周辺海域)の pH の時間変化を表す。中図と下図は実験時の流速と流向の観測結果

平成 29 年度は、昨年度出た課題を解決して精度向上を目指すために、各物質溶解塔を全方位に対して隙間なく固定する架台の利用による二酸化炭素散布位置の精度向上（図 5-13）、および二酸化炭素流量、流速と pH 減少の関連性の解析を進めた。また、厚岸湖が氷結して利用できない 4 月において、島根県隠岐の島のアマモ場で実験を行い、環境の異なるアマモ場での本システムの汎用性についての検討を行った。

隠岐の島のアマモ場での二酸化炭素散布実験では、対照区と比較して実験区内の pH は常に下回っていた。すなわち、全期間において、流向は絶え間なく変わっているにもかかわらず pH を有意に減少させられることが確認できた（図 5-14）。得られたデータより、対照区に対する実験区での pH の減少量（ ΔpH ）と二酸化炭素添加量および現場の流速との関連性を解析した。 ΔpH —流速の回帰直線の傾きはほぼ一定であり、かつ二酸化炭素添加流量で切片が決定された。この関係性は 10 cm/s 程度までの幅広い流速条件下で確認

された（図 5-15）。このことは、現場の流速をシステムにフィードバックさせ、この関係式を用いた最適添加量計算を行い、自動で二酸化炭素添加流量を調整することにより、設定した ΔpH を安定的にコントロールできることを示唆している。

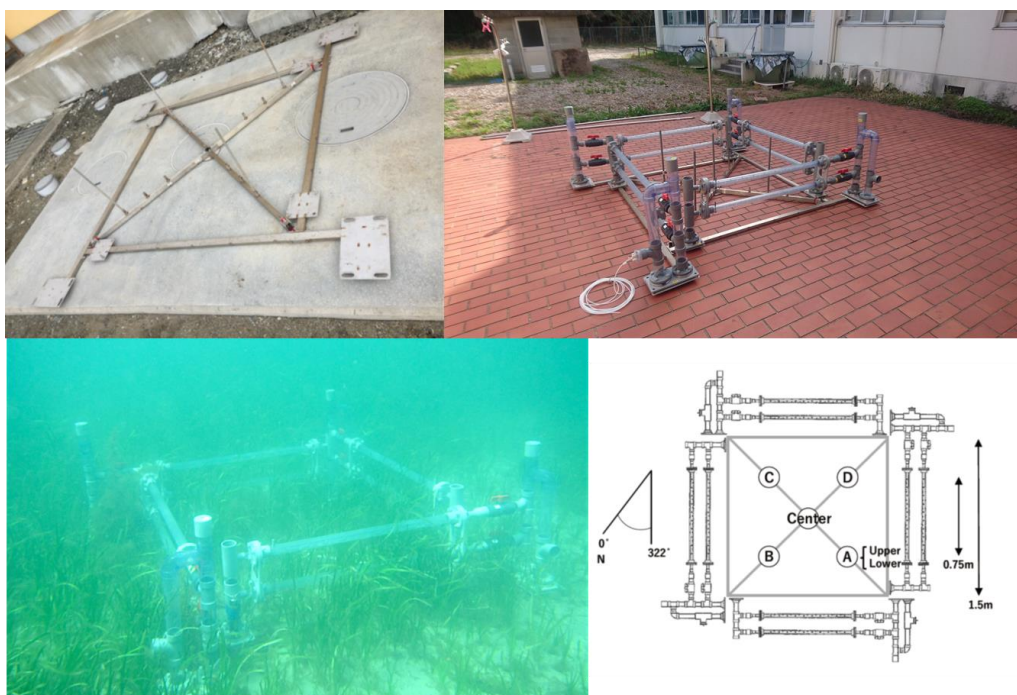


図 5-13. 隠岐の島での実験に用いた物質溶解塔設置のための架台（左上）、陸上で設置した物質溶解塔の完成図（右上）、水中での画像（左下）、および溶解塔の配置設計図（右下）

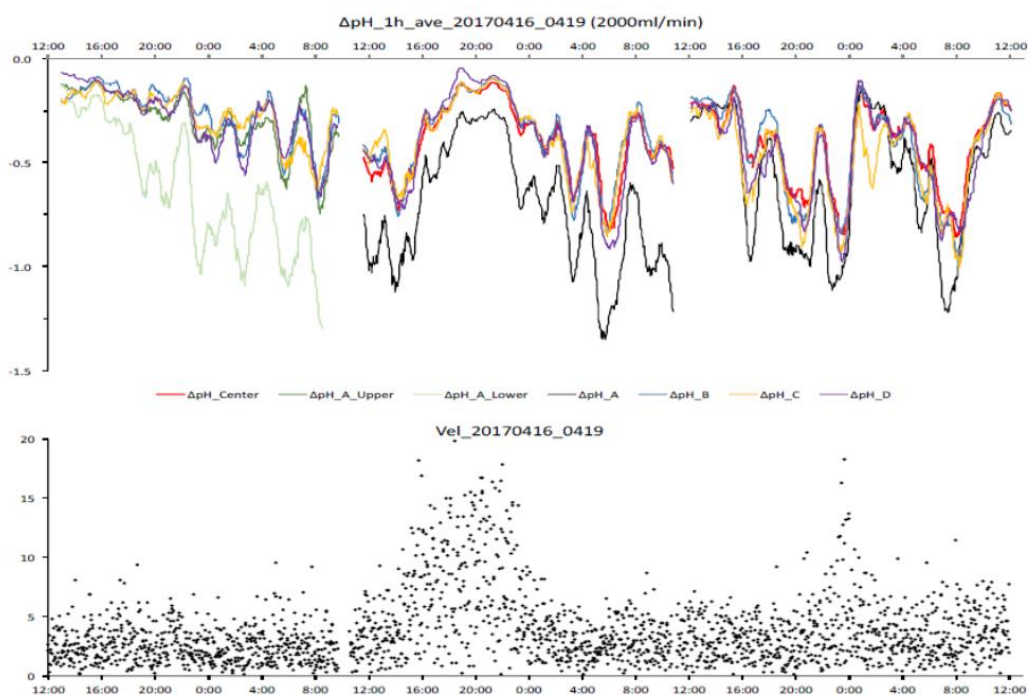


図 5-14. 隠岐の島での物質溶解塔およびカレントセクターを用いた pH 変動の実験結果。上図は実験区内の各センサー位置における、対照区に対する pH の減少量 (ΔpH)、下図は流速の測定結果を示す。実験期間は 2017 年 4 月 16～19 日

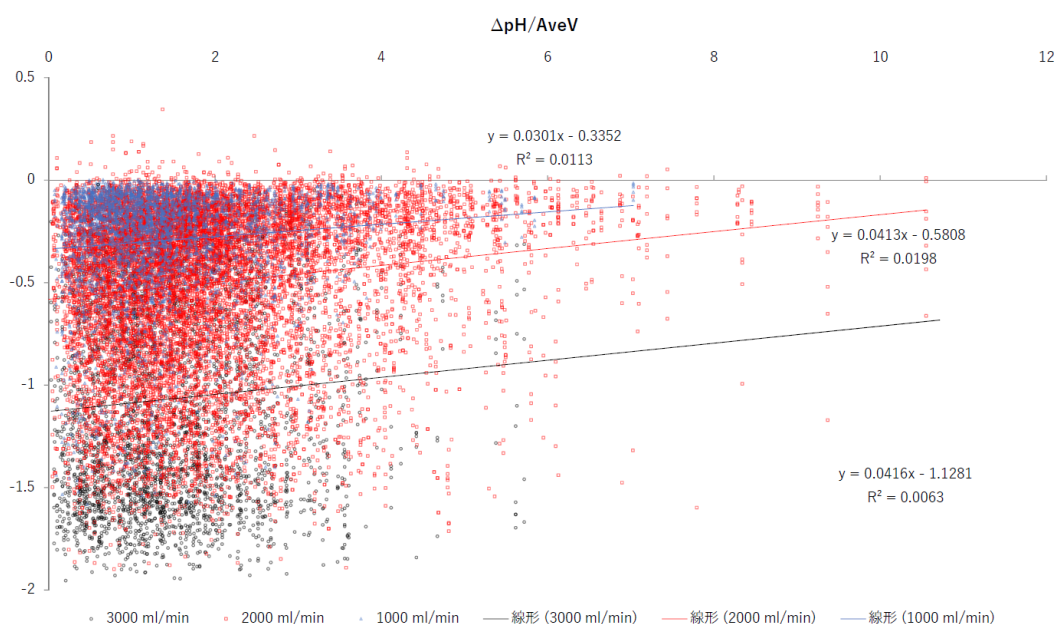


図 5-15. 隠岐の島での実験結果より、実験区内の pH 減少量 (ΔpH) と流速の関係性を二酸化炭素流量ごとに解析した結果

引き続き平成 29 年 6 月～9 月には厚岸湖チカラコタンのアマモ場で、本改良システムを用いた実験を行った。まず、6 月 13 日～7 月 3 日にかけて、これまでで最長期間の継続実験を行い、機器の耐久性を確認するとともに、二酸化炭素タンクの交換頻度の確認を行った。また、8 月 23 日～9 月 1 日にかけて、隠岐の島の実験と同様に二酸化炭素流量を変化させた場合の pH の変化量について検証を行った。

厚岸湖においても、ほとんどの期間において実験区内の pH は対照区より低下させることができたが、その下げ幅は隠岐の島の同条件の散布時よりも低かった (図 5-16)。pH の減少量 (ΔpH) は、現場の流速が低いほど、かつ二酸化炭素添加量が多いほど大きくなることが確認され (図 5-17)、隠岐の島における実験の結果を再現することができた。

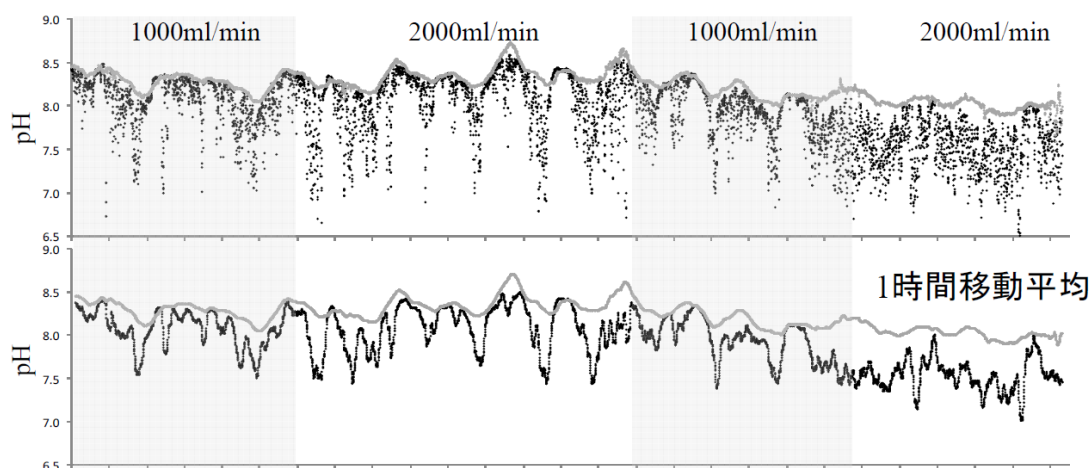


図 5-16. 厚岸湖における物質溶解塔およびカレントセクターを用いた pH 変動の実験結果。上図は対照区 (一番上位の黒線) および実験区内の pH の観測値 (黒点)、下図は実験区内の pH 変動の 1 時間移動平均を示す実験期間は 2017 年 8 月 23 日～9 月 1 日

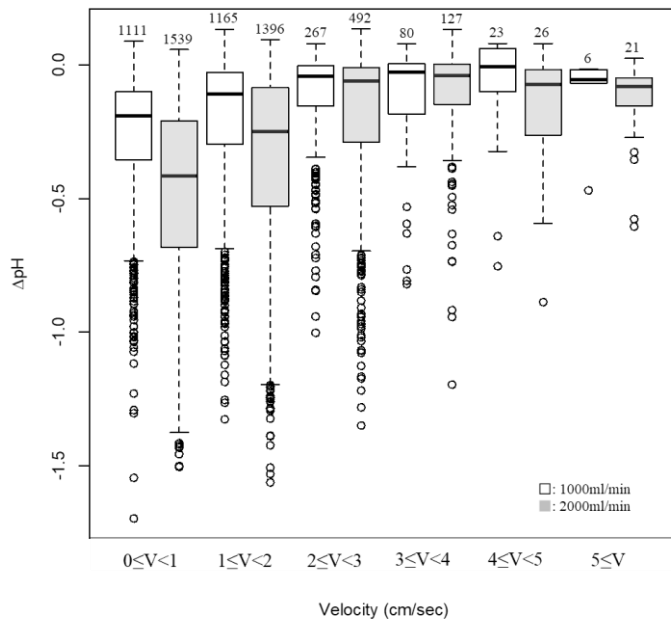


図 5-17. 厚岸湖の流速と pH 減少量の関係を二酸化炭素散布量毎に比較したもの

さらに、平成 30 年 2 月に、隠岐の島において、栄養塩添加実験の再試行を兼ねた改良版カレントセクターシステムの再試験を行った。前年の 4 月と同様に実験区内の pH を一定レベルで下げることに成功し、本システムによる二酸化炭素濃度操作が安定して行えることが確認された (図 5-18)。

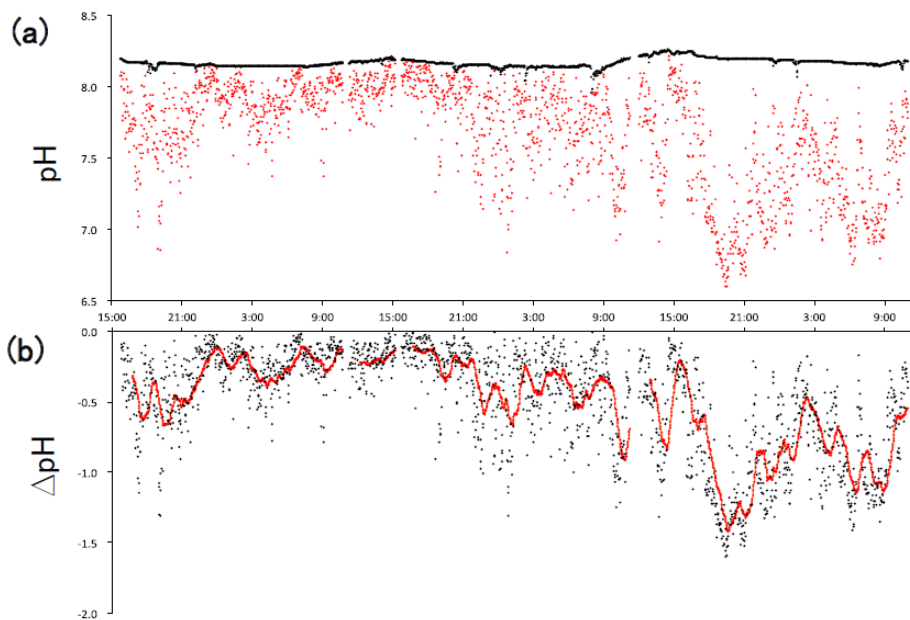


図 5-18. 隠岐の島における物質溶解塔およびカレントセクターを用いた pH 変動の実験結果。上図は対照区 (一番上位の黒線) および実験区内の pH の観測値 (赤点)、下図は対照区と実験区の pH の差を示したもの。赤線は 1 時間移動平均を示す。実験期間は 2018 年 2 月 1 日～4 日

④ 成果の位置づけや類似研究との比較

本システムは開放系の条件で酸性化再現実験を可能とするシステムである。開放系とすることで、酸性化再現実験における水域の本来の条件（流速、水温など）も可能な限り再現することが可能となり、非常に複雑なことが予想される沿岸生態系への酸性化の影響をより正確に評価することができる。また、開放系であれば実験区内の水温や水質は常に自然条件に保たれるため、閉鎖系実験よりも長期の実験が容易である。また、複雑な水底地形でも運用できること、高波や急流への耐性が高いことも利点として挙げられる。

本システムの独自の設計は、開放系システムの最大の問題点である pH コントロールを実用的な範囲で可能としている。また、基本的に電源を必要としないため、様々なサイトでの再現実験を容易とし、酸性化の影響のより包括的な評価に繋がることが期待される。

従来の酸性化再現実験としては、室内水槽実験やチャンバーを使った野外実験（FOCE）が挙げられる。どちらも pH コントロールは比較的容易であるものの、閉鎖系であるため上記で挙げた問題点を解決できていない。また、二酸化炭素ガスを直接実験水域に吹き込む実験も報告されているが、実用的な pH コントロールには至っていない。なお、大気中二酸化炭素添加実験（FACE）が報告されているが、大気中と水中への二酸化炭素添加は原理が大きく異なるため単純な比較対象とはならない。

3.3 消費者グループ(水産研究・教育機構 堀グループ)

研究項目6. 消費者密度操作・観測システムの開発と検証

① 研究のねらい

アマモ場に生息する消費者群集は、アマモ場の生物多様性と生態系機能に対し重要な役割を持つ。しかし、様々な要因による多様性の喪失が問題となっている。また、進行する地球規模の環境変動にも大きく影響を受けることが懸念されており、海洋酸性化や温暖化に伴う生物多様性の変化が生態系機能に及ぼす影響などがあげられる。

そのため、これら消費者群集の生物多様性の変化がアマモ場生態系に及ぼす影響を解明することが必要とされている。そこで消費者グループでは、消費者群集の密度と多様性を個別に操作可能な技術開発を行う。有害化学物質を用いた従来手法の代わりとなる、各生物種群に対して安全かつ効果的な天然由来の忌避物質の探索を行う。さらに、操作実験中の魚類および無脊椎動物の個体数や現存量等を準リアルタイムで把握するために、水中映像を利用したモニタリング装置の開発を目指す。

② 研究実施方法

- ・屋内水槽を利用した閉鎖系における開発・検証を平成24年度～28年度に実施した。
- ・屋外水槽を利用した半閉鎖系における開発・検証を平成25年度～28年度に実施した。
- ・野外のアマモ場における実装・検証を平成26年度～29年度に実施した。

③ 研究実施内容

平成24年度は、現行で消費者操作に使用することが可能な化学物質および物理的手法について、その実験的効能と生態系への影響、さらに水質への環境基準等について整理を行い、十分な効果が得られる化学物質候補の選定、およびこれら化学物質と同等の忌避作用が期待できる天然由来の物質の探索を行い、9種の天然海藻が選定された。

平成25年度は、前年度に選定した化学物質・天然由来物質について閉鎖系の屋内水槽での忌避行動・影響試験を行った。天然由来物質を含む9種の海藻類を対象に忌避およ

び致死作用の有無について確認した結果では、ヤハズグサ (*Dictyopteria latiuscula*) およびマクリ (*Digenea simplex*) が忌避剤候補として選択された。そこでこの2種から抽出液を作成し、化学物質の影響試験と同様の手法で試験を行った。その結果、ヤハズグサの抽出液は抽出濃度の上昇とともに軟体動物類だけに致死作用を示し、一方でマクリ抽出液は低濃度で甲殻類への致死作用を、高濃度では甲殻類・軟体動物類双方への致死作用を示した。

次に、消費者の有無を計測する水中カメラ撮影システムの試作を行った。廉価な市販のインターバルカメラを基盤に、長期間の実験でも撮影ができるようレンズ部に付着物除去用ワイパーを設置した水中ハウジングを設計した。また、ワイパーおよび基盤部とカメラ部は脱着可能とし、カメラ部を交換・ワイパーを調節することであらゆる市販カメラに対応できるようにした(図 6-1)。その後、平成 28 年度までに改良と野外実験を繰り返し、ニッケル水素電池 (単 4 型) 4 本の電力で一日あたり 2 回のワイパー作動、一回あたり 2 往復のワイパー動作を行うことで、3 か月間の水中撮影が可能となった。



図 6-1. 市販インターバルカメラを利用した水中画像撮影システム

平成 26 年度は、軟体動物に対して有効性が確認された褐藻ヤハズグサ、節足動物に対して有効性であった紅藻マクリの有効成分の特定を開始した。次に、マクリ抽出液を対象に、半閉鎖系で海棲節足動物類に対する忌避作用の効果検証を半閉鎖系システムで行った。10t 水槽を用いて簡易濾過海水を流水させ、流水環境の上流側に物質溶解溶解塔を 1 本設置し、その下流側にアマモ人工パッチ群落を配置した(図 6-2 左)。各パッチにはヨコエビを 50 個体ずつ囲いに入れたまま投入し、物質溶解塔からマクリ抽出液を毎分 3ml で添加しはじめた後、ヨコエビの囲いを撤去して実験を開始した。2 時間後、各パッチ内のアマモに残っているヨコエビの個体数を計測した。

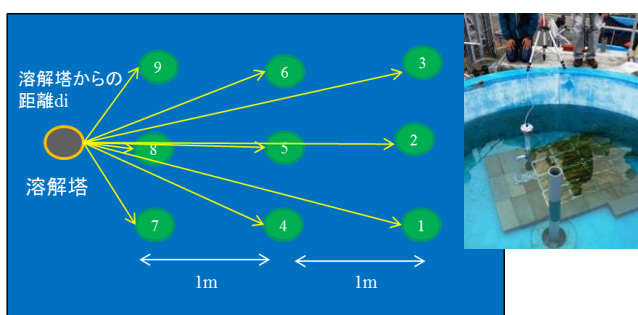
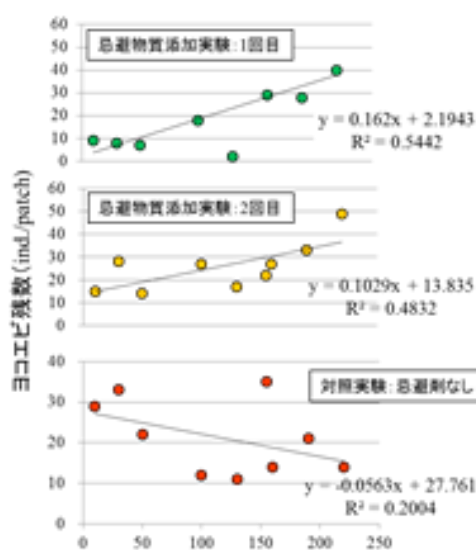


図 6-2. 10t 水槽内での実験配置 (左図) と結果 (右図)。番号のついた緑の丸印がアマモパッチの配置を示し、物質溶解塔の吹き出し口から各パッチまでの距離 d_i (黄矢印) を測定した。



その結果、マクリ抽出液の添加実験においては 2 回とも物質溶解塔への距離が近くな

るに従い、ヨコエビ個体数が少なくなる有意な回帰直線が得られた (図 6-2 右)。その一方で海水だけを添加した対照実験では、むしろ物質溶解塔に近いほうで個体数が多くなる傾向が確認された。また、実験で散布したマクリ抽出液の濃度を推定するために、マクリに含まれる天然成分のうち、薬品としてすでに利用されているカイニン酸を指標とした濃度分析系を確立した。分析の結果、本実験での水中散布濃度は昨年度の忌避物質探索の際に閉鎖系で検証した 50%致死濃度の約十万分の 1 の濃度であった。この濃度であってもヨコエビ類が忌避行動を示したことは、対象生物を死亡させることなく、除去範囲 (1 m²) 内の個体数を下げること成功したことになる。

平成 26 年度後半から平成 27 年度前半にかけて、マクリ抽出液を用いた野外開放系実験の計画を 1 年先行し、散布方法の検討を本体グループ、炭素グループと合同で行った。瀬戸内海区水産研究所の前浜に 1 m² のアマモパッチを人工的に配置し、その中に物質溶解塔を 2 本設置した。2 度にわたる忌避剤散布実験では、本体グループの測定ではかなりの海水流動が確認されていたにもかかわらず、2 度の実験ともに実験区を中心に高濃度の忌避剤領域を形成することができていた (図 6-3)。また、散布による水中での希釈度を推定すると、原液の約 1/10000 の濃度で水中に散布されており、マクリ抽出液の水中濃度はその 1/10000 として 0.02ppm 程度となると推定された。この濃度は、上記の半閉鎖系で節足動物に有意な忌避行動を生じさせた濃度よりも高い値であった。このことは開放系であっても、本システムを使えば忌避行動を引き起こすのに十分な濃度で除去範囲 (1 m²) 内に散布できることを示唆している。

また、忌避物質の製品化へ向けて、マクリ抽出液を用いて保存方法等の検討を実施した。乾燥海藻から精製した抽出液を常温放置、冷凍保存、乾燥粉末化した後 30 日後および 8 か月後 (235 日後) の効能試験を行ったところ、乾燥粉末で若干弱まるものの、いずれも忌避作用を維持できていた (図 6-4)。

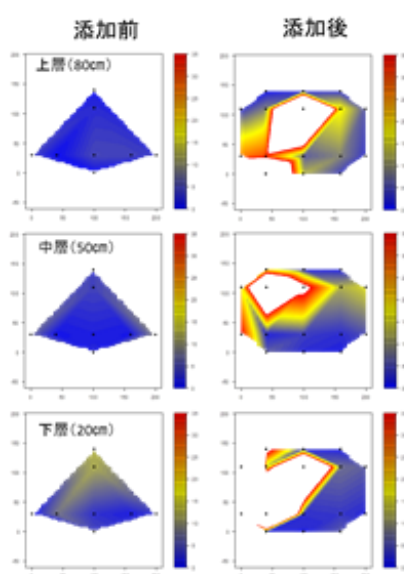


図 6-3. 野外の開放系での忌避剤添加実験の結果。添加後の白抜きの部分は、添加前の 10 倍以上の平均濃度を有する領域を示す。

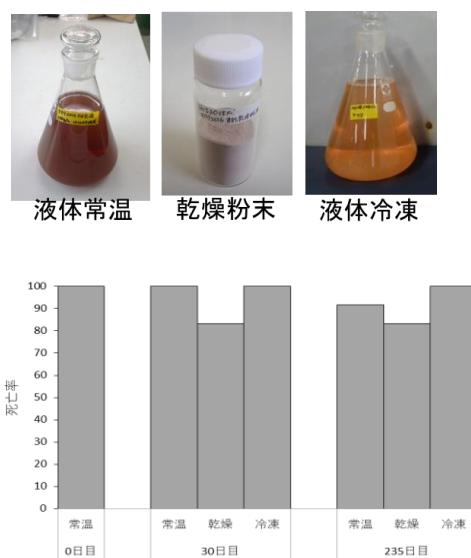


図 6-4. 忌避物質の保存方法の検討。精製後の抽出液 (左) および各方法で 30 日間 (中央)、235 日間保存した後 (右) の毒性試験結果を示す。

次に、抽出液中の有効成分の探索を開始するために LC-MS による分析を実施したところ、ヤハズグサ抽出液については複数の成分が同様のピークで検出された。マクリ抽出液についてはその成分のうち薬品として利用されているカイニン酸の含有量が他の物質

よりも数倍高く検出された。まず、マクリ抽出液から甲殻類忌避行動を誘導する成分を特定することを目的に、その主成分であるカイニン酸純物質を用いて効果を比較する形で試験を行った。マクリ抽出液とカイニン酸水溶液にヨコエビを 72 時間暴露したところ、カイニン酸のみではヨコエビの死亡率が上がらず、マクリ抽出液そのものに致死効果があることが判明した(図 6-5)。

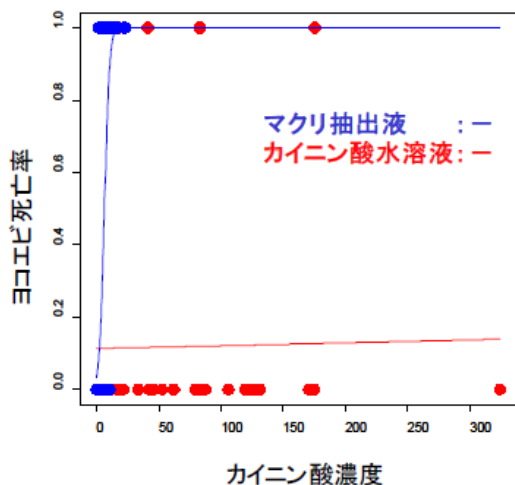


図 6-5. マクリ抽出液とその成分であるカイニン酸のヨコエビへの効果の比較

平成 28 度は、天然海藻から抽出した小型無脊椎動物の操作用忌避物質について、特に貝類および甲殻類に有効なものを組み合わせた生物多様性操作キットを完成させるための暴露実験を中心に研究を実施した。なお、昨年度と同様にマクリから抽出した忌避物質に甲殻類の試験生物としてヨコエビ類、貝類の試験生物としてチグサガイ（巻貝）類を用い、まず、忌避物質の長期保存を可能にするため、忌避物質を溶液から乾燥粉末を作成し(図 6-6)、その粉末を再度海水に溶解させた溶液の効果について検証した。

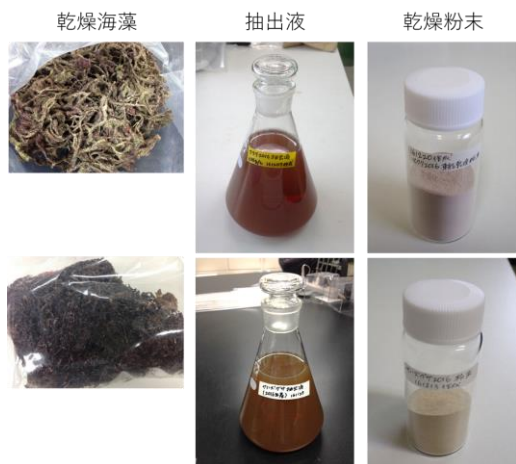


図 6-6. 忌避物質の原藻、忌避物質を抽出した溶液、溶液を凍結乾燥により作成した粉末(上段：マクリ、下段：ヤハズグサ)。

マクリ粉末溶液およびヤハズグサ粉末溶液の半数忌避濃度(試験生物が暴露 10 分後に示す忌避率が 0.5 となる濃度)を暴露試験により算出した。その結果、マクリ由来の忌避物質では乾燥原藻に換算してヨコエビ類が 58.47 (g/L)、チグサガイ類が 267.55 (g/L)であった(図 6-7)。一方、ヤハズグサ由来の忌避物質では乾燥幻想に換算してヨコエビ類が 80.73 (g/L)、チグサガイ類が 22.96 (g/L)であった(図 6-8)。したがってこの濃度差を利用することにより、海藻の葉上動物のうち、甲殻類だけの除去、巻貝類だけの除去が可能となった。なお、どちらの試験生物も暴露 24 時間後にはすべての個体が死亡

した。

また、本体グループ・炭素グループと共同で、厚岸湖において改良型の二酸化炭素散布システムを利用し、野外散布による忌避物質の効能検証を実施した。平成 28 年度 10 月には連続 2 日間散布を実施し、有意に葉上動物を忌避させることが確認できた(図 6-9)。また、平成 29 年 7 月に実施した連続 2 週間の散布においても、出現した葉上動物を有意に忌避させることが確認できている(図 6-10)。そこで、本成果を「マクリ・ヤハズグサ等の海藻抽出物を含む分散無脊椎動物忌避剤」として国立研究開発法人水産研究・教育機構より特許出願を実施している。

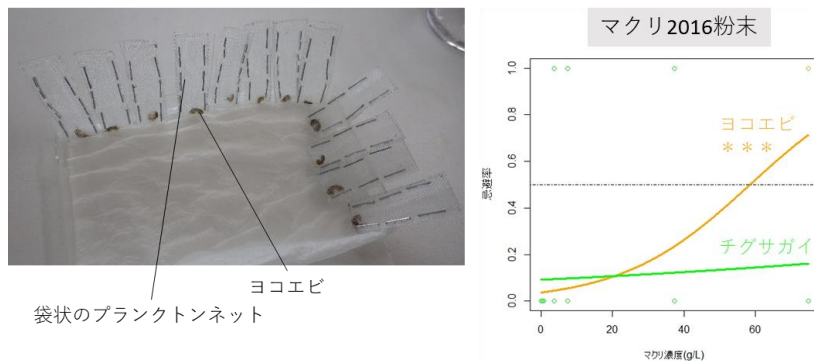


図 6-7. 半数忌避濃度の算出に用いたヨコエビ曝露実験(左)と忌避率曲線(右)。曝露実験は袋状のプランクトンネットにヨコエビを入れて溶液中に投入している。ヨコエビが袋を伝い、溶液から大気中へ露出した場合、忌避したとみなした。

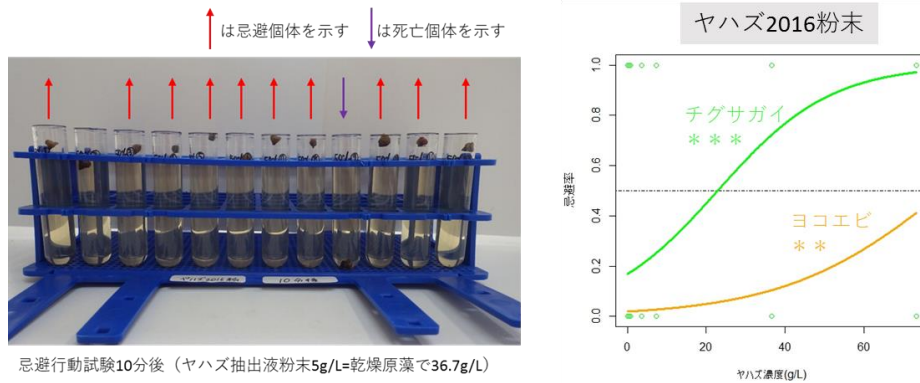


図 6-8. 半数忌避濃度の算出に用いたチグサガイ曝露実験(左)と忌避率曲線(右)。曝露実験は溶液を入れた試験管にチグサガイを投入している。チグサガイが溶液から大気中へ露出した場合、忌避したとみなした。

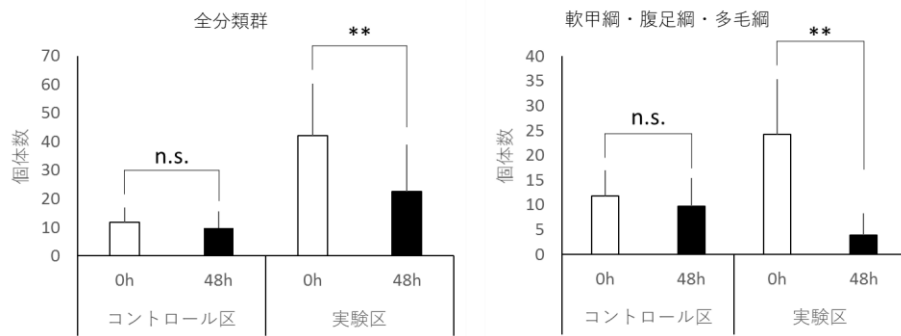


図 6-9. 厚岸湖における忌避剤散布実験の結果（忌避剤散布前と散布 48 時間後の消費者群集の現存量の差をコントロール区と実験区で比較）

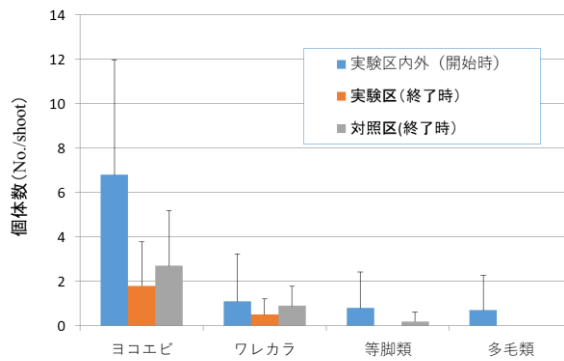


図 6-10. 厚岸湖における忌避剤散布実験の結果（忌避剤散布前と散布 12 日後の消費者群集の現存量の差をコントロール区と実験区で比較）。

④ 成果の位置づけや類似研究との比較

アマモ場における動物類の密度操作実験については、岩礁潮間帯のように徒手による調整ができないことから従来あまり行われていなかった。数少ない例として、農薬などの有害化学物質を用いた方法が利用されていたが、本研究では、海藻由来の天然物質を利用した忌避剤の開発により、生物種群に対して安全かつ効果的な操作実験が初めて可能になった点が最も画期的な成果である。本研究の成果を受けて、同様の天然由来の忌避物質の探索が国際的に進展することが期待される。

§ 4 成果発表等

(1) 原著論文発表 (国際 (欧文) 誌 1 件)

1. Momota K and Nakaoka M, Influence of different types of sessile epibionts on the community structure of mobile invertebrates in an eelgrass bed, PeerJ, vol 5, e2952; 2017, DOI: 10.7717/peerj.2952

(2) 国際学会発表及び主要な国内学会発表

① 招待講演 (国内会議 3 件)

1. 茂木博匡(港湾空港技術研究所)、海洋生態系モデル -これまでの物質循環モデルとこれからの物質循環モデル-、海洋若手会夏の学校、東海大学社会教育センター 三保研修館、2014 年 8 月 30 日
2. Nakaoka M, Kusuzaki M, Ito M (Hokkaido University)、Studies on ocean acidification in an estuarine system of cold-current region、第 18 回日本サンゴ礁学会、慶応大学三田キャンパス、2015 年 11 月 29 日
3. 仲岡雅裕・伊藤美菜子・安孝珍・阿部博哉(北海道大学)、生物群集が改変する気候変動影響:アマモ場の海洋酸性化緩和機能に着目して、第 64 回日本生態学会大会、早稲田大学早稲田キャンパス、2017 年 3 月 15 日

② 口頭発表 (国内会議 4 件、国際会議 4 件)

1. Ito M, Nakaoka M (Hokkaido University)、Effects of CO₂ enrichment on calcareous sessile epifauna on seagrass bed in Akkeshi-ko estuary, Hokkaido、第 62 回日本生態学会大会、鹿児島大学、2015 年 3 月 19 日
2. Ito M, Nakaoka M (Hokkaido University)、Effects of CO₂ enrichment on calcareous sessile epifauna on seagrass in Akkeshi-ko estuary, Hokkaido, Japan、23rd Biennial CERF Conference、Portland, USA、2015 年 11 月 9 日
3. 仲岡雅裕(北海道大学)、海洋生態系研究の最新動向と展望について、第 63 回日本生態学会大会、仙台国際センター、2016 年 3 月 24 日
4. Nakaoka N, Ito M, Ahn H (Hokkaido University)、High pH water in eelgrass bed of Akkeshi-ko estuary, northern Japan: mitigation of ocean acidification by seagrass?、12th International Seagrass Biology Workshop、Nant Gwrtheyrn, Wales、2016 年 10 月 19 日
5. Namba M, Hashimoto M, Smith C, Tamura Z, Yorisue T, Momota K, Ito M, Nakaoka M (Hokkaido University)、Evaluation of the regional variation in ecosystem functions of eelgrass (*Zostera marina*) beds in eastern Hokkaido、第 64 回日本生態学会大会、早稲田大学早稲田キャンパス、2017 年 3 月 16 日
6. Nakaoka N (Hokkaido University)、FORTES: A novel system to conduct in-situ CO₂ enrichment experiment in eelgrass beds、International symposium on promotion of global network studies on seagrass ecosystem based on innovative new technology、Waseda University, Tokyo、2018 年 2 月 18 日
7. Hori M (Fisheries Research and Education Agency, Japan)、Development of no environmental-risk deterrent to conduct mesograzers removal experiment in eelgrass bed、International symposium on promotion of global network studies on seagrass ecosystem based on innovative new technology、Waseda University, Tokyo、2018 年 2 月 18 日
8. 山口遥香・仲岡雅裕(北海道大学)、Effect of seawater warming on the rocky intertidal surfgrass community、第 65 回日本生態学会大会、札幌コンベンションセンター、2018 年 3 月 15 日

③ ポスター発表 (国内会議 9 件、国際会議 4 件)

1. 百田恭輔・北村武文(北海道大学)・濱岡秀樹(水産総合研究センター)・仲岡雅裕(北海道大学)、厚岸湖におけるアマモ葉上生物群集の季節的な相互関係強度の変異、第 61 回日本生態学会大会、広島国際会議場、2014 年 3 月 16 日
2. 伊藤美菜子・仲岡雅裕(北海道大学)、海水中の CO₂ 増加が炭酸カルシウム殻を持つ海生無脊椎動物に与える影響、第 61 回日本生態学会大会、広島国際会議場、2014 年 3 月 16 日
3. 茂木博匡, 渡辺謙太, 所立樹(港湾空港技術研究所), 門谷茂(北海道大学), 桑江朝比呂(港湾空港技術研究所)、北海道風蓮湖における海草場起源の POM 輸送解析、日本海洋学会平成 26 年度秋季大会、愛媛大学、2014 年 9 月 15 日
4. 茂木博匡, 渡辺謙太, 所立樹, 桑江朝比呂(港湾空港技術研究所)、沿岸海洋炭素循環モデルの基本構造について、海洋理工学会平成 26 年度秋季大会、東海大学清水校舎、2014 年 10 月 15 日
5. Momota K, Kitamura T (Hokkaido University), Hamaoka H, Isada T, Nakaoka M (Hokkaido University)、Seasonal Change of Plant-animal interaction in eelgrass beds of Akkeshi, northern Japan、Western Society of Naturalists Annual Meeting、Tacoma (USA)、2014 年 11 月 14 日
6. Teranishi T, Momota K, Yorisue T (Hokkaido University), Bayne C, Jaeger J (San Diego State University), Nakaoka M (Hokkaido University)、The effect of seagrass morphological structure on predation rate of epifauna、第 62 回日本生態学会大会、鹿児島大学、2015 年 3 月 19 日
7. Ito K, Onduka T, Hamaoka H (Fishery Research Agency), Nakaoka M (Hokkaido University), Hori M (Fishery Research Agency)、Searching natural repellents for manipulating the density of the organisms inhabiting seagrass beds. CERF Biennial Meeting 2015、Portland (USA)、2015 年 11 月 11 日
8. Ito M, Namba M, Yamaguchi H, Nakaoka M (Hokkaido University)、Spatial variation in functional structure of intertidal seagrass communities in Eastern Hokkaido、第 64 回日本生態学会大会、早稲田大学早稲田キャンパス、2017 年 3 月 15 日
9. 橋本真理菜、伊藤美菜子、難波瑞穂、百田恭輔、仲岡雅裕(北海道大学)、厚岸湖におけるアマモ葉上動物群集に対する養殖カキの影響、第 64 回日本生態学会大会、早稲田大学早稲田キャンパス、2017 年 3 月 16 日
10. 所立樹(瀬戸内水研)、Development of Free-Ocean Real-Time Experiment System (FORTES) for in-situ CO₂ manipulation in eelgrass beds、45th USA-Japan Conference on Development and Utilization of Natural Resources、広島国際会議場、2017 年 10 月 16-17 日
11. 所立樹(瀬戸内水研)、Development of Free-Ocean Real-Time Experimental System (FORTES) for an in-situ CO₂ manipulative experiment in eelgrass beds、Coastal and Estuarine Research Federation 2017、ロードアイランドコンベンションセンター、2017 年 11 月 8 日
12. Namba M, Hashimoto M, Ito M, Momota K, Smith C, Yorisue T, Nakaoka M. (Hokkaido University)、Effects of environmental gradients on the diversity and functional traits of macroinvertebrate communities associated with eelgrass (*Zostera marina*) beds in Eastern Hokkaido, Japan、第 65 回日本生態学会大会、札幌コンベンションセンター、2018 年 3 月 15 日
13. 橋本真理菜、難波瑞穂、仲岡雅裕(北海道大学)、厚岸湖における養殖カキに付着する動物群集、第 65 回日本生態学会大会、札幌コンベンションセンター、2018 年 3 月 16 日

(3)知財出願

① 国内出願 (1件)

1. ≪発明の名称:海産無脊椎動物忌避剤、発明者:堀 正和・隠塚俊満・伊藤克敏・濱岡秀樹・濱岡明子、出願人:国立研究開発法人水産研究・教育機構、出願日:10月13日、出願番号:特願2017-199562≫

(4)受賞・報道等

① 受賞

1. 百田恭輔(北海道大学)、第61回日本生態学会大会優秀ポスター賞、2014年3月16日
2. Ito M, Nakaoka M (Hokkaido University)、English Presentation Award, Best Award, The 62nd Annual Meeting of Ecological Society of Japan、2015年3月21日
3. Yamaguchi H, Nakaoka M. (Hokkaido University)、English Presentation Award, Best Award, The 65th Annual Meeting of Ecological Society of Japan、2018年3月15日

② マスコミ(新聞・TV等)報道

1. 中国新聞、酸性化加速の恐れ、2017年3月19日
2. 中国新聞、藻場 新たな価値に光 アマモ CO2 吸収に期待、2017年3月21日

(5)成果展開事例

①実用化に向けての展開

・平成30年2月に東京で開催した国際シンポジウムで本研究成果を紹介し、今後の国際共同研究の計画立案を行った。

②社会還元的な展開活動

・平成30年3月11日に愛知県西尾市幡豆公民館で開催された三河フィールドコンソーシアム市民セミナーにおいて、本研究成果を紹介し、アマモ場の動態予測が沿岸生態系サービスの持続的利用に有効に活用される道筋について参加者と議論を行った。

§5 研究期間中の活動

5.1 主なワークショップ、シンポジウム、アウトリーチ等の活動

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2017年2月18～20日	国際シンポジウム	早稲田大学、東京都	24人	成果発表、国際発信のための公開シンポジウム

§6 最後に

研究提案時は、「これまで世界中のどの研究グループも開発していない圧倒的に革新的なものを」というスタンスで目標を設定したこともあり、採択後の研究経過の中で、いくつかの開発項目が現実的に不可能であることが判明して、途中で開発を中止する部分もあった。しかし、開発に成功した部分は、当初の目的通り、革新的な成果であり、今後、アマモ場のみではなく、沿岸域の多様な環境を対象とした国際的な野外操作実験の実施に利用されるものと自負している。特に二酸化

炭素濃度操作サブシステム、および消費者忌避物質についてはすでに海外から問い合わせを受けており、今後の論文出版および特許取得を踏まえて、国際的に研究を展開したいと考えている。

プロジェクト運営については、本体グループ、炭素グループ、消費者グループの構成員が、研究期間初期から同じフィールドで密接に連携しながら進めることができ、製品開発に結び付けることができた。また、研究費の運用も、研究の進展に伴う用途変更に特に支障がなく対応して進めることができた。

