

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「海洋生態系の酸性化応答評価のための
微量連続炭酸系計測システムの開発」

研究終了報告書

研究期間 2013年10月～2019年3月

研究代表者：茅根 創
(東京大学大学院理学系研究科・
教授)

§ 1 研究実施の概要

(1) 実施概要

海洋酸性化による生態系応答を評価するためには、海洋の炭酸系の計測可能な4つの量のうち少なくとも2つを計測することが必要である。炭酸系を決定する上で鍵となるアルカリ度は、現状では採水した 200-300mL の海水を、実験室に持ち帰って1試料あたり 30 分程度の滴定によって求めなければならない。そのため、微量海水の現場連続計測は行われていない。本研究課題では、フロー系で、長期に安定的に微量・連続試料のアルカリ度を計測するシステムを開発した。

開発するシステムの目標性能は、以下の通りである。

- 1) 正確さは、実験室における滴定と同等の ($2000\mu\text{mol kg}^{-1}$ に対して) $2\mu\text{mol kg}^{-1}$ 。
0.1%の精度は飼育実験、野外における生物代謝を1%の精度で測定するために必要である。
- 2) 1mL min^{-1} のフロー中で酸を加え、応答時間5分以内で計測する。
- 3) 浅海底に設置して、1ヶ月自動運転する。消費電力は 40W 以下、重量は5kg 以下。
- 4) pH (正確さ ± 0.002) と組み合わせ、海洋の炭酸系と群集代謝を精密に決定する。

上記目標性能を達成するために、以下の開発項目の解決をはかることが必要であった。

- A) 微量計測: ISFET 微小電極の評価・開発。ペリスタポンプ採用。mini-TAS による流路設計。
- B) 省電力・小型化: ペリスタポンプの導入。温度制御方式の検討。
- C) 安定計測: 電極の安定性を高める。ドリフト対策。比色法の検討。
- D) 実験室・実海域への適用: 最適な電源ユニット、プイシステム。海底設置システム。
- E) 標準海水の作成・維持: 2次標準試料の作成・維持。

このうち A と E は東大グループが、B と C は産総研グループが、D は琉球大学グループが中心となって進め、すべての項目と全体を東大グループが統括した。

装置に必要な各コンポーネント(ポンプ、計測部、フィルター、排出カラム、チューブなど)の選定作業を平成 29 年度までに確定し、二連のペリスタポンプと ISFET センサー、そしてミリ単位の流路をアクリル板に彫る mini-TAS にミニスターラーを組み合わせたシステムを構築した。そして、それらの安定性・応答性を評価して、それぞれのコンポーネントの最適化を図った。評価に際しては、二次標準試料の作成と維持のため、炭酸系の計測プロトコルと標準海水を全世界に配布している Scripps 海洋研究所の Dickson 教授と共同研究を行った。

これによって、室内で 1mL/min の流量の海水試料の pH-アルカリ度を、連続で、それぞれ ± 0.002 と $2\mu\text{mol kg}^{-1}$ の正確さで計測することに成功した。さらにこのシステムを、バッテリー、酸試薬、標準海水とともに、琉球大学瀬底研究施設前の水深2mのサンゴ礁上に設置して、実海域での試験を行った。計測結果の妥当性を担保するために、設置期間中、装置近辺の海水を24時間採取して、海水の炭酸系(アルカリ度、全炭酸、pH)のバッチ測定を行って比較した。その結果、数日程度については本装置で十分な精度で計測できることを確認した。より大容量のバッテリーを搭載することで、より長期の連続観測が可能になると見込まれる。

平成 29-30 年度には、本チームの現場実験フィールドである瀬底において「深場サンゴ礁避難地仮説」検証のため、浦チーム、赤松チームが本チームに加わり、さらに近藤チーム、竹山チームも参加して、フィールドキャンペーン(FC)を実施した。深場サンゴ礁は、地球環境変化によって破壊された浅場サンゴ礁の避難地として期待される。しかしながら、深場で潜水調査が困難であることから、その実態や、深場と浅場のサンゴや魚類の共通性と差異、深場から浅場へのサンゴの適応が可能であるのかなどについて不明な点が多かった。

茅根チーム波利井グループによるこれまでの調査結果に基づいて、瀬底FCは CREST で開発された様々な手法によって深場サンゴ礁に迫った。浦チームは AUV により深場サンゴ礁の地形と生物の分布を明らかにして、赤松チームが生物のサウンドスケープにより、近藤チームが環境DNAによって、深場と浅場の魚類群集の共通性と多様性を明らかにした。竹山チームは深場と浅場で共通するサンゴ共生微生物叢を見出し、茅根チームは深場サンゴの代謝が浅場の半分程度であるが、深場から浅場への移植によって代謝が大きくなることを見出した。こうした結果は、深場サンゴ礁がこれまで考えられていた以上に多様性が高く、浅場の避難地とな

り得ることを示す。

(2) 顕著な成果

<優れた基礎研究としての成果>

1. 室内型計測システムにおいて、少サンプル量でのアルカリ度計測に成功した。

概要：従来、海水中のアルカリ度は、200-300mL の海水試料ごとに、30 分の滴定を行って求めなければならなかった。本課題で開発したシステムによって、海水中の pH およびアルカリ度を約 15mL のサンプル量で 10 分以内に測定することが可能になった。このシステムによって、大量のサンプルを簡便に処理できるだけでなく、これまで測定できなかった短時間(分スケール)での生物の代謝応答を測定することに成功した。今後、海洋酸性化や地球温暖化などのストレスに対する生物の応答や耐性を明らかにすることができる。

2. 現場設置型計測システムを用いて、実海域での pH, アルカリ度の日周変動を観測することに成功した。

概要：1で開発した計測システムを沖縄県琉球大学瀬底研究施設のサンゴ礁海底上に設置して、海水中の pH とアルカリ度の現場連続観測に成功した。2018 年 12 月に、1週間の設置試験を行った。これまで現場型のアルカリ度測定装置はなかったが、本システムによって 10 分スケールでの現場観測が可能となった。pH とあわせることによって炭酸系パラメータの変動と、それをもたらす群集代謝・環境変化を長期間モニタリングすることができる。

3. 深場サンゴ礁の多様性とその機能を明らかにした。

概要：CREST で開発された様々な技術を結集して、水深 40m 以深のサンゴ礁に、多様なサンゴ礁生態系が展開していることを明らかにして、その代謝(光合成, 石灰化)を世界ではじめて計測した。

<科学技術イノベーションに大きく寄与する成果>

1. 室内型計測システムの製品化

概要：本課題で開発試験に成功した、室内型測定システムによって、海水中の pH-アルカリ度を少サンプル量で測定することができる。今後、ISFET 電極部の交換やリアルタイムモニターによる値のチェック機構など、操作上の利便性を高めることによって、実用化・製品化を進めることができる。

2. 現場設置型計測システムの製品化

概要：本課題で開発試験に成功した、現場設置型計測システムによって、海水中の pH およびアルカリ度を現場で連続観測することが可能となった。連結させるバッテリー部を改良することによって、実用化・製品化を進めることができる。

3. 現場設置型 pH ロガーの開発・製品化

概要：本課題で開発試験に成功した計測システムでは、酸添加前後の海水の電位を ISFET センサーで計測して、pH とアルカリ度を求めている。ISFET センサーと記録・制御部を独立して防水容器に容れることによって、現場設置型の pH ロガーを開発した。pH ロガーは 100 万円以上の高価格であるが、本課題で開発した pH ロガーは、10 万円の売価で提供することができる。本 pH ロガーを沿岸域で多点展開をすることによって、pH の広域での変動を長期モニタリングすることができる。

4. pH、アルカリ度標準の作成

概要：海洋の酸性化とその生物応答を評価する上で、もっとも重要なパラメータである pH とアルカリ度を、広く配布・販売するための、標準物質作成のプロトコルを作成した。

<代表的な論文>

論文1

Yamamoto, S., Kayanne, H., Tokoro, T., Kuwae, T., Watanabe, A.: Total alkalinity flux in coral reefs estimated from eddy covariance and sediment pore-water profiles. *Limnology and Oceanography*, 60:229-241 (2015) [被引用 12 件 調査日 2018 年 8 月 29 日]

論文2

Baria M.V.B., Kurihara H., Harii S.: Tolerance to elevated temperature and ocean acidification of the larvae of solitary corals *Fugia funites* (Linn. 1758) and *Lithophyllon (Fungia) repanda* (Dana 1846) *Zool Sci* 32: 447-454 (2015). [被引用 5 件 調査日 2018 年 8 月 29 日]

論文3

Golbuu, Y., Gouezo, M., Kurihara, H., Rehm, L., Wolanski, E.: Long-term isolation and local adaptation in Palau's Nikko Bay help corals thrive in acidic waters. *Coral Reefs*, 35: 909-918 (2016) [被引用 10 件 調査日 2018 年 8 月 29 日]

§ 2. 研究実施体制

(1) 研究チームの体制について

(1) 「東京大学」グループ

- ① 研究代表者: 茅根 創 (東京大学大学院理学系研究科・教授)
- ② 研究項目
 - ・計測システムの設計, 製作, 試験

(2) 「産総研」グループ

- ① 主たる共同研究者:
 - 佐藤 縁 (産業技術総合研究所省エネルギー研究部門エネルギー貯蔵技術グループ・グループ長)
- ② 研究項目
 - ・計測システムの性能評価・微量計測システム開発

(3) 「琉球大学」グループ

- ① 主たる共同研究者:
 - 波利井 佐紀 (琉球大学・熱帯生物圏研究センター・准教授)
 - 栗原 晴子 (琉球大学・理学部・助教)
- ② 研究項目
 - ・計測システムの水槽・現場設置試験

(4) 生物サンプリンググループ

- ① 主たる共同研究者:
 - 浦 環 (九州工業大学・社会ロボット具現化センター・特別教授)
 - ゾートン・ブレア (東京大学・生産技術研究所・准教授)
- ② 研究項目
 - ・AUV による生物マッピング・サンプリング

(5) サウンドスケープグループ

- ① 「東京大学」グループ研究参加者:
 - 赤松知成 (国立研究開発法人 水産研究・教育機構 中央水産研究所・主任研究員)
- ② 研究項目
 - ・サウンドスケープによるサンゴ礁生物の多様性評価技術の開発

(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

開発した計測システムの汎用化, 販売のため, JST A-STEP に計測機器メーカーと共同で申請を予定している。

炭酸系計測の標準化について, 米国カリフォルニア大学サンジエゴ校スクリップス海洋研究所の, Andrew G. Dickson 教授と, 産業技術総合研究所計量センターの研究者との連携を展開している。