

令和 3 年 6 月 24 日現在

機関番号：54701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05695

研究課題名（和文）海域固有のバイオセメントを用いた、環境負荷の無い革新的な海洋環境保全に関する研究

研究課題名（英文）Research on the marine environmental protection using biocement from local sea area materials

研究代表者

楠部 真崇（Kusube, Masataka）

和歌山工業高等専門学校・生物応用化学科・准教授

研究者番号：40403761

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：フィールド試験予定である和歌山県日高郡日高町方杭の海砂より、目的のウレアゼ生産菌 *Kocuria* 属の種を単離した。この単離株によるバイオセメンテーションが可能であることを確認した。一軸圧縮試験の結果より、試作バイオセメントの強度は約450kPaであった。炭酸カルシウム析出量はバイオセメント表面で約2%、中央部で1%であることがわかった。水槽での発芽試験では、10℃の自然海水で約1ヶ月後に幼芽鞘を確認した。フィールド試験では、5m×5m内に100粒のバイオセメントを沈設し、30株程度の定着生長を確認した。方杭での試験では、アマモは約20cmまで生長したあと、水温の上昇によりアイゴの食害を受けた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アマモ場はブルーカーボンシステムとしても、生物多様性を維持する意味でも重要な場である。これまで、様々な研究や活動により、アマモ場の保全が実施されてきた。海洋プラスチックゴミの問題も取り沙汰されている中、本研究ではアマモ場保全予定地の海洋性細菌と海砂を用いた海砂固化物を開発した。このバイオセメントにアマモ種子を埋包することにより、船上から海底まで確実に種子を届けるとともに、海の素材以外のマテリアルを持ち込まない極めて環境に優しい手法を確立した。今後は、発芽率や海底定着率の改善などを目標として展開していく。

研究成果の概要（英文）： *Kocuria* genus sp. was isolated from Katakui beach, Hidaka-Cho, Hidaka-Gun, Wakayama in Japan by Urea Agar Base Medium. The bio-cement hardness which was produced by isolated marine microbes shown approx. 450 kPa by uniaxial compression test. Microbe produced calcium carbonate was included 2% and 1% in surface and inside of bio-cement, respectively. Baby green leaf was observed in 10 °C seawater aquarium after 1 month. After that, we tried to the field test on Katakui beach. We observed 30 grasses out of 100 seeds grown up to 20 cm still summer season. Unfortunately, all sea grasses were taken by damage of fishes.

研究分野：海洋環境保全、海洋微生物学

キーワード：海洋性細菌 バイオセメント アマモ場 海洋環境保全 SDGs14 ブルーカーボン

1. 研究開始当初の背景

海洋中の「藻場」は小魚や海洋性小動物、プランクトンや貝類の飼料生物を育むことで海洋生物多様性を維持し、魚やイカなどの産卵場所にもなる豊かな生態系の象徴であるといえる。水産庁では、1960年代から現在にかけて海藻の急激な減少を発表しており、残存面積は当時の30%程度である⁽⁴⁾。この海藻消失が与える海洋環境へのダメージは計り知れない。

近年、ブルーカーボン活動や海洋環境保全を目的とした、海藻再生に関する様々な活動を実施されている。プラスチックカップ内発芽後の移植、種子を含む麻シートの沈設、産業副産物由来の漁礁構造物設置などの活動による海藻の再生は、本来海には存在しない固体物の沈設を伴うため、海洋環境保全とは言いがたく、場合によれば漂流ゴミを増加させることが予想される。

2. 研究の目的

本提案では、藻場造成適地の海底砂からバイオセメントの材料となる「砂と微生物」を採取し、研究室で海藻再生できるよう固化させた後、海に戻すことを想定している。本技術は、本来海底に存在している物で藻場を造成する、つまり外部環境から異物を持ち込まずに藻場を再生させるため、海洋環境への負荷が無い。さらに、このバイオセメントは一般的なセメントと比べて脆いため、海流等で形状が崩壊し、発芽した海藻が根付くタイミングで砂地に戻ることが期待される(図1)。このアイデアによる海洋環境保全は、これまでに無い、全く新しい革新的な方法であり、同時に学術的にも重要な知見が得られると考えている。

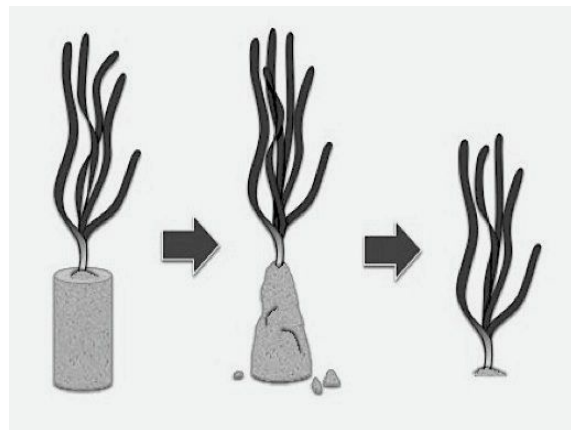
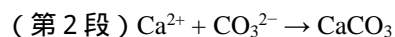
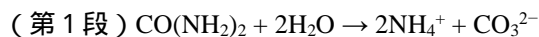


図 1. バイオセメントを用いた海藻の飼育と持続可能な順化のイメージ

本研究に用いるバイオセメンテーションの原理

バイオセメンテーションとは、以下に示す2段階の化学反応で進行させることができる。これらの反応を砂粒子の間隙で行うことで、砂粒子を炭酸カルシウム(CaCO₃)で架橋し、固化することができる。



第1段の反応は、主に微生物のウレアーゼ活性を利用した尿素(CO(NH₂)₂)の分解反応であり、これにより生じる炭酸イオン(CO₃²⁻)が第2段階の反応で使用される。そして次の反応では、カルシウムイオンと炭酸イオンにより炭酸カルシウムが形成される。元々、水溶液系の化学反応であるため、砂の間隙に水を含ませしておく事で、砂粒子間に炭酸カルシウムを析出させることができる。ここで用いる、砂粒子や微生物は最終沈設順化させる海域から採取し、元の場所に戻すため、極めて環境に優しい技術であるといえる。

3. 研究の方法

(1) バイオセメント試作と特性評価試験

藻場造成予定地としている和歌山県日高郡沿岸海域の海砂を採取し、3.6%塩濃度を含むウレアーベース培地によりウレアーゼ生産菌をスクリーニングした。ウレアーゼの活性確認後、その培養液を用いた海砂の固化を行った。固化後、一軸圧縮試験・海水中自然崩壊実験を実施し、バイオセメントの特性評価を実施した。

(2) 海藻発芽条件の検討

海藻種子は6月下旬に藻場造成予定地で採取した。採取した種子や胞子を含むバイオセメントの試作後、濾過天然海水中にて10℃以下の発芽条件の検討を行った。

(3) 生物環境改善調査と定量的評価

水槽内にバイオセメントを配置し、パイロットフィッシュを用いて魚類への影響を調査した。沈設後のアマモ発芽状況の観察に加え、生物環境改善機能について継続的かつ定量的に調査するために、底質中微生物の推移をメタゲノム解析で実施し、水質変動を化学的分析と微生物群の推移から定量的かつ関連性を持たせて評価した。

4. 研究成果

(1) バイオセメント試作と特性評価試験

単離したセルラーゼ生産菌は *Ralstonia basilensis* であることがわかった。この菌株を用いて作成したバイオセメントを一軸圧縮試験したところ、約 39.3 N/cm² であることがわかった。これは、一般的な消波ブロックの約 1/50 程度の硬度に相当する。また、規定の手法を用いてバイオセメント中に発生している炭酸カルシウム濃度を測定したところ、砂重量に対して 4.4% 程度の析出量を確認した。海水中での形状保持日数は 30 日を超えることを確認した。

(2) 海藻発芽条件の検討

アマモ種子接種後約 30 日で、幼芽鞘が見え始めた。また、50 日目にはバイオセメントから発芽した緑色のアマモ葉を確認した。発芽率は約 55% 程度で、本バイオセメントからの発芽率は比較的高い事がわかった。これは、バイオセメントにより発芽に必要なアマモ種子表面に付着している硫酸還元菌の流出を防いだ事に起因すると示唆される。また、本バイオセメントを含む環境でのマハゼの飼育によりバイオアッセイを実施したところ、生物個体に対して顕著な負荷が掛かっていない事がわかった。

(3) 生物環境改善調査と定量的評価

方杭沖に沈設したバイオセメントによりアマモの苗の発芽を確認した。30% 程度の定着率を示し、約 20 cm 丈まで生長していることを潜水観察した。水温上昇に伴い、アイゴの食害が拡大することでアマモ場は衰退した。

底質メタゲノム解析の結果から、アマモ場の土壌は硫酸還元菌、嫌気性細菌、硫黄細菌などの硫黄代謝に関与する微生物種の占有率が非アマモ区の底質よりも約 1.4 倍高いことが示された。

特に、アマモ場の底質には硫酸還元菌が豊富に含まれていることに留意されたい。実際、アマモが自生する海底下には特有の腐卵臭と黒色の海砂が目立つ。この原因は、嫌気環境下で硫酸還元菌が有機物や硫酸イオンを代謝し、硫化水素を発生していることに起因する。さらに、鉄分が豊富なアマモ場の底質では、硫酸還元菌由来の硫化水素が硫黄細菌の代謝により硫化鉄に変化するため、黒い色を呈した海砂となる。図 3 より、硫酸還元菌は元来アマモ種子に共生しており、海砂中に種子が落下した後に嫌気環境下で増殖していることが示唆された。

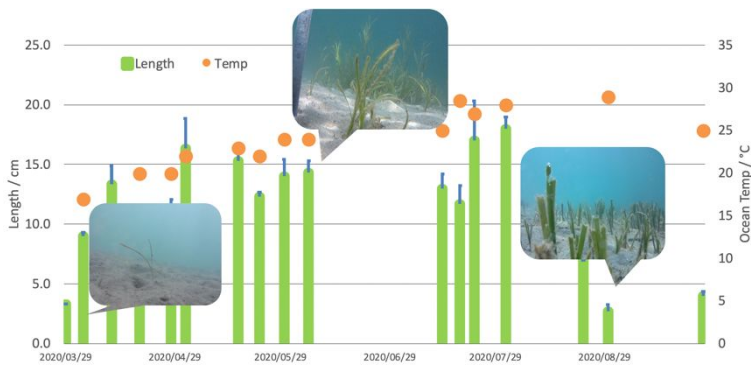


図 2. 沈設したアマモの発芽生長観察

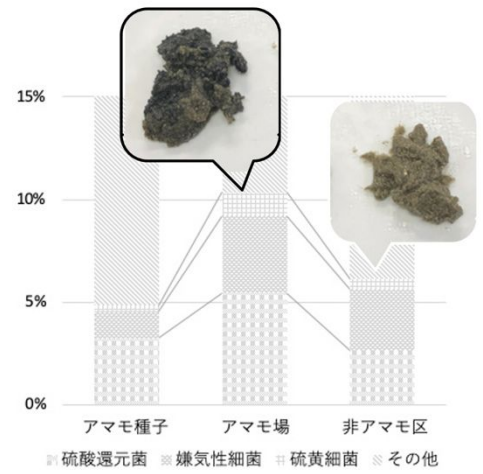


図 3.底質による微生物多様性の相違

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 楠部真崇、中嶋夢生、宮坂萌々香、猪飼朋音、青木仁孝、林和幸	4. 巻 684
2. 論文標題 バイオセメントの特性を活かした次世代の海洋環境保全技術開発	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 58-59
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 楠部 真崇
2. 発表標題 レジリエントな 海洋環境保全：環境循環型バイオセメントアマモポットの開発
3. 学会等名 超異分野学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中嶋 夢生、楠部 真崇
2. 発表標題 海洋性細菌のバイオミネラリゼーションによるアマモ場再生法の提案
3. 学会等名 第56回好塩微生物研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 楠部 真崇
2. 発表標題 Deep Tech(ディープテック)～バイオセメントによる水辺のイノベーション～
3. 学会等名 2019年アグリビジネス創出フェアin東海・近畿
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 楠部 真崇
2. 発表標題 円月島の修復
3. 学会等名 番所山で自然を学ぼうについて（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 楠部 真崇
2. 発表標題 マリンスポーツのマナーと海洋環境：サーフエリアから深海まで
3. 学会等名 Surf, sea and sustainability: A public seminar on the science and culture of riding waves（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 楠部 真崇
2. 発表標題 レジリエントな 海洋環境保全：環境循環型バイオセメントアマモポットの開発
3. 学会等名 超異分野学会2019（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

Amamo Blue Earth https://www.facebook.com/Team-Amamo-196073024399362/?modal=admin_todo_tour

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	林 和幸 (Hayashi Kazuyuki) (30587853)	和歌山工業高等専門学校・環境都市工学科・准教授 (54701)	
研究 分 担 者	青木 仁孝 (Aoki Masataka) (80775809)	和歌山工業高等専門学校・環境都市工学科・准教授 (54701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関