

A-0804 海洋酸性化が石灰化生物に与える影響の実験的研究

(1) CO₂増加が沿岸底生生物と生態系に及ぼす影響に関する研究

京都大学フィールド科学教育研究センター瀬戸臨海実験所

白山 義久

深見 裕伸

(研究期間中に宮崎大学農学部海洋生物環境学科に異動)

<研究協力者>

京都大学フィールド科学教育研究センター瀬戸臨海実験所

諏訪 僚太

独立行政法人水産総合研究センター西海区水産研究所

鈴木 豪

平成20～22年度 合計予算額 21,300千円 (うち、平成22年度予算額 7,500千円)

予算額は、間接経費を含む。

[要旨] 大気中の二酸化炭素 (CO₂) 分圧を削減することが地球温暖化対策として重要であることは論をまたない。CO₂が海に溶け込むことで起こる海洋酸性化は、骨格に炭酸カルシウムをもついわゆる石灰化生物にとって特に深刻であると予想されるが、その影響を正しく把握するためには、精密に将来の海水中のCO₂分圧を模擬することが可能な実験システムを用いて、石灰化生物を様々な環境下にて飼育し、その影響を明らかにする必要がある。本研究では、海洋酸性化の生物影響を調べることを目的として、将来の海洋表層のCO₂分圧を精密に再現できる高精度CO₂溶解システムを開発し、CO₂分圧の日周変化や海水温上昇、低CO₂分圧域を考慮した実験を石灰化生物であるウニ類と造礁サンゴ類を対象として行った。日周及び季節変化を考慮した高CO₂分圧環境下で飼育したムラサキウニ*Anthocidaris crassispina*幼体の成長は14ヶ月程経過した時点から成長が対象区に比較し低下する長期曝露の影響がみられた。また、CO₂分圧の日周変化そのものがバフンウニ*Hemicentrotus pulcherrimus*の幼生の体サイズに及ぼす影響を調査した結果、明確な影響は検出されなかった。一方、CO₂分圧の日周変化がクシハダミドリイシ*Acropora hyacinthus*幼体に及ぼす影響を調査したところ日周変化しない高CO₂分圧条件よりも骨格重量が低下することが分かった。また、同属のコユビミドリイシ*A. digitifera*幼体について海洋酸性化と高海水温の影響を調べた結果、共作用はみられず高海水温条件下においてはCO₂分圧に関係無く骨格乾重量が増加することが分かった。さらに、産業革命以前の低レベルCO₂分圧がバフンウニとムラサキウニ幼生及びコユビミドリイシ幼体に及ぼす影響を調べた結果、共に成長が増大することが分かり、このことは200年以上前の人間活動が活発になる産業革命以前の海洋環境においては海洋生物の成長がより早かった可能性を示唆する。本実験システムで得られた海洋酸性化の影響を多様な条件下にて調べた結果は、将来の海洋生物への影響をより正確に予測するための材料となる。

[キーワード] 海洋酸性化、CO₂、高精度CO₂溶解システム、石灰化生物、飼育実験

1. はじめに

大気中の二酸化炭素 (CO₂) 濃度を削減することが地球温暖化対策として重要であることは論をまたない。しかし大気中に排出されるCO₂の削減の必要性は、別の地球環境問題からも極めて重要

である。それが大気CO₂濃度の上昇に伴う海洋表層の海水酸性化である（IPCC 2006¹⁾；Kleypas et al. 2006²⁾）。海洋酸性化は骨格に炭酸カルシウムをもついわゆる石灰化生物にとって特に深刻であると予想される（Orr et al. 2005³⁾）が、その影響を正しく把握するためには、精密にCO₂分圧を制御できる実験システムを用いる必要がある。

従来から行われてきた生物への影響査定実験は、コンスタントに現在よりも高いCO₂分圧に調整した空気を実験水槽に供給し、それによって高CO₂分圧でpHが低下した一定条件に海洋生物を暴露することによってその影響を調べてきた（e.g. Shirayama and Thornton 2005⁴⁾；Michaelidis et al. 2005⁵⁾）。しかしながら、CO₂分圧を一定に高めた実験のみでは海洋酸性化の生物への影響を正しく評価できているとはいえない。なぜならば、例えば実際の海洋ではCO₂分圧は一定ではなく、昼間は植物プランクトンなどが活発に光合成を行い、海水中のCO₂を消費して有機物を生産するため、CO₂分圧は減少し、一方夜間には、植物プランクトンを含めてすべての生物が有機物を分解しCO₂を放出するため、海水中のCO₂分圧は上昇する。CO₂分圧は、日周以外に年変動もすることが分かってきており、たとえば京大瀬戸臨海実験所で観測した結果では、冬季には海水のCO₂分圧は大気中のCO₂の分圧に近いが、夏季には現在の大気CO₂分圧よりはるかに高いCO₂分圧になる（サブテーマ5報告参照）。これは高温条件で海水あるいは海底に存在する有機物が微生物によって盛んに分解されるため、CO₂分圧が高まるためと考えられる。

また、今後は海洋酸性化の進行と共に海水温が上昇することも予測されている（IPCC 2006¹⁾）ので、海洋生物は将来、海洋酸性化のみではなく高海水温と両方の影響を受ける可能性がある。さらには、大気中CO₂分圧は人間活動が活発になった産業革命以降（約200年前）から増加を始めているため、産業革命以前のCO₂分圧は現在よりも低く、現在の海は海洋生物にとって既に海洋酸性化状態にある可能性もある。このような状況を勘案すると、これまでのようにCO₂分圧を一定に高めた実験系のみではなく、日周変化や海水温上昇、そして低CO₂分圧の条件が生物へ及ぼす影響をも個別に評価して行くことで、将来の海洋酸性化の海洋生態系に対するインパクトを正しく予測することができるといえる。

2. 研究目的

このような現状を背景に、将来の海洋表層のCO₂分圧を精密に制御できる飼育システムを用いて、CO₂分圧の日周変化や海洋酸性化と水温上昇の共作用、そして低CO₂分圧といった様々な環境条件が石灰化生物へ及ぼす影響を評価することを研究目的とする。そのために、石灰化生物の中でも大気中のCO₂分圧の変化を最も受けやすいと考えられる浅海域に生息する水産重要種及び岩礁帯の生態系重要種であるウニ類（ムラサキウニ*Anthocidaris crassispina*及びバフンウニ*Hemicentrotus pulcherrimus*）や、サンゴ礁における生態系重要種である造礁サンゴ類（コユビミドリイシ*Acropora digitifera*及びクシハダミドリイシ*Acropora hyacinthus*）を材料として、上記のような酸性化条件の影響の把握を行う。

3. 研究方法

（1）ウニ類への海洋酸性化の影響評価

1) 酸性化条件への長期曝露がムラサキウニに与える影響の評価実験

a. 実験システムの作成

上記のように将来の海洋表層のCO₂分圧を、日周変化および年周変化をも考慮して再現することを意図した飼育システム（以下、初期システムという）を作成した（図1）。初期システムでは、まず京都大学フィールド科学教育研究センター瀬戸臨海実験所附属白浜水族館（以下水族館）で周辺海域からくみあげて水槽に供給している海水中のCO₂分圧を測定する。その結果に基づき、脱CO₂空気（ソーダライムで除去）に測定値と同じ分圧になるようCO₂ガスを添加しコントロール区水槽を曝気する仕組みとした。一方、同様のガス添加システムで供給空気のCO₂分圧をコントロール区より500 ppm高くして実験区的水槽を曝気する仕組みとした。

b. 初期システムの実証試験

初期システムが所期の性能を有することを確認するため、2008年11月に、1時間ごとに、水族館の取水口周辺の原海水、原海水をタンクに一旦貯留した後に飼育海水として供給されている海水、その海水に含まれるCO₂の分圧を測定した上でガス調整システムによる海水と同じ分圧のCO₂を含む空気を曝気している水槽（コントロール区）の海水、同じガス調整システムを用いてコントロール区よりもCO₂分圧を500 ppm高めた空気を曝気している水槽（実験区）の海水、それぞれの全炭酸濃度（DIC）およびアルカリ度（TA）を測定し、システムの性能を確認した。

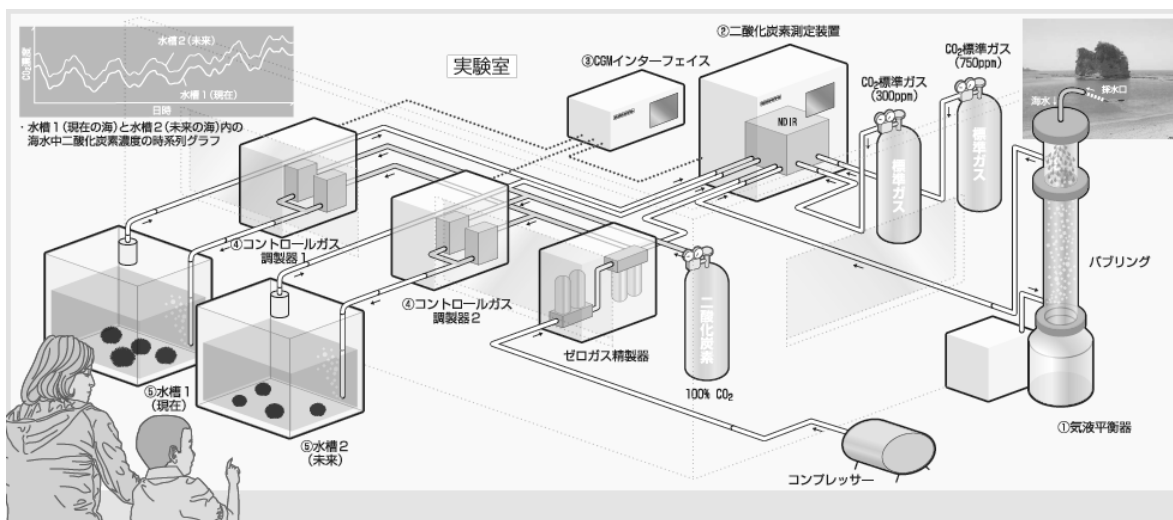


図1 将来のCO₂環境を模擬することを意図した初期の実験装置（初期システム）

c. ムラサキウニの長期飼育実験

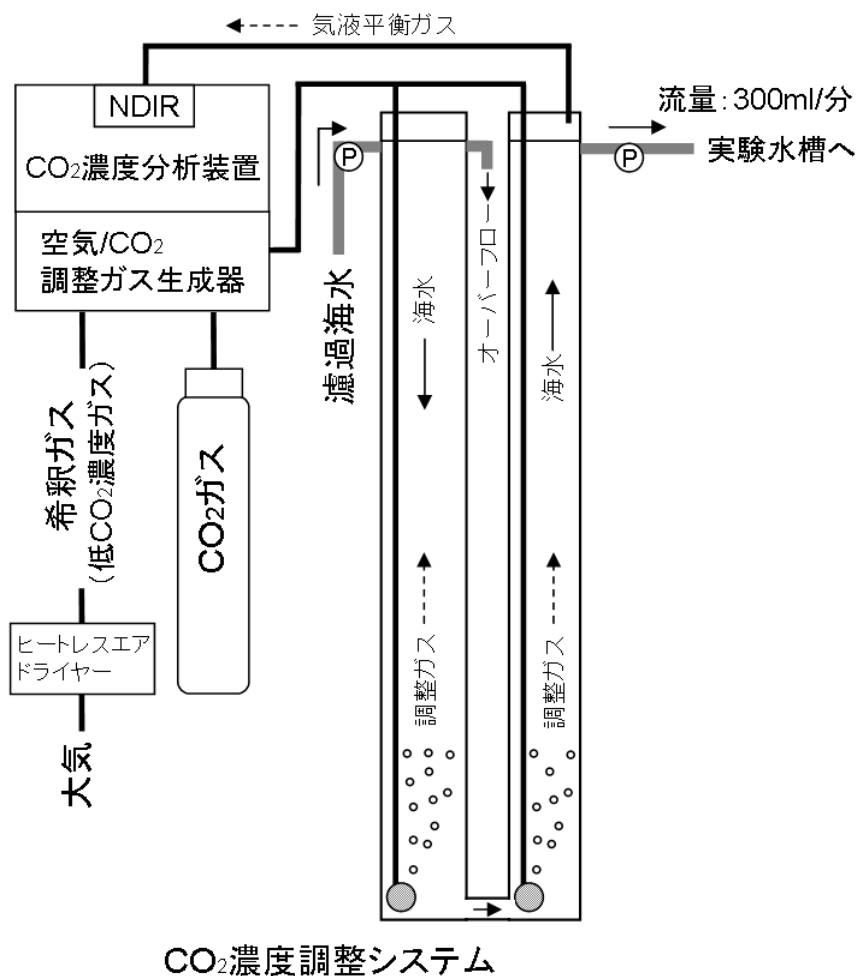
ムラサキウニの幼稚体を用いて、初期システムを用いた長期飼育実験を実施した。各水槽にムラサキウニの幼稚体50個体をいれ、毎日ワカメを飽食条件で与えて飼育した。実験に用いた個体の体重を3週間ごとに測定した。このデータから各個体の相対成長を計算し、その結果から、高分圧のCO₂がムラサキウニの幼若個体の成長に与える影響を評価した。

2) 日周CO₂分圧変動を加味した酸性化条件がバフンウニ幼生に与える影響の評価実験

a. 実験システム

初期システムでの経験を踏まえて、本プロジェクトの参画機関が共通に用いる海水のCO₂分圧条件を精密に再現できる実験装置（AICAL装置、図2）では、電子制御された流量制御装置によっ

て純粋なCO₂ガスと大気からCO₂を取り除いたガス（希釈ガス）を調合することで、任意のCO₂分圧のガス（調整ガス）を作成することが出来る。作成された調整ガスは、実験所周辺海域より汲み上げた海水で満たされたU字型の円筒状プラスチック（吸収筒）の底部から放出され、海水に添加される。本システムは連続的に海水が流れる流水式である。1つの吸収筒でCO₂分圧が調整された海水を毎分約300 ml供給することができ、作成された海水のCO₂分圧は連続的に計測される。本システムは時間毎にCO₂分圧が変化するプログラムも作成することも可能である。



b. バフンウニ幼生の日周CO₂分圧変動を加味した酸性化条件への曝露実験

図2 海水のCO₂分圧を精密に制御できるCO₂溶解システム（AICAL装置）の模式図

浅海域でのCO₂分圧の日周変化は平均値±200 ppm程度である（Kitada et al. 2006⁶⁾）。このことから上記システムを用い、400 ppm（コントロール）、400±200 ppm（コントロールに日周変動を加えたもの）、800 ppm（酸性化条件）、800±200 ppm（酸性化条件に日周変動を加味したもの）となる実験条件を作成（図3）した。バフンウニの受精卵（10個/ml）をメッシュを貼ったプラスチックカップ（200 ml、各条件4本）にいれ、3日間各条件への曝露を行った。曝露後に幼生を回収し、その全長、後腕長、ボディ長（図8A）を光学顕微鏡下にて撮影した写真から、画像解析ソフトウェアImageJ 1.38 program (National Institutes of Health, Bethesda, MD)を用いて計測し、CO₂分圧が日周変動する酸性化条件がバフンウニの幼生の形態形成に与える影響を評価した。

3) 低レベルCO₂分圧がムラサキウニとバフンウニの初期発生に与える影響の評価実験

精密CO₂溶解システムを用いて、ウニ類2種（ムラサキウニとバフンウニ）の受精卵を、自然界の現在のCO₂分圧よりも低い産業革命前レベルのCO₂分圧条件に曝露し、その初期発生に与える影響を調べるための飼育実験を行った。曝露CO₂分圧条件はバフンウニにおいては230と430（コント

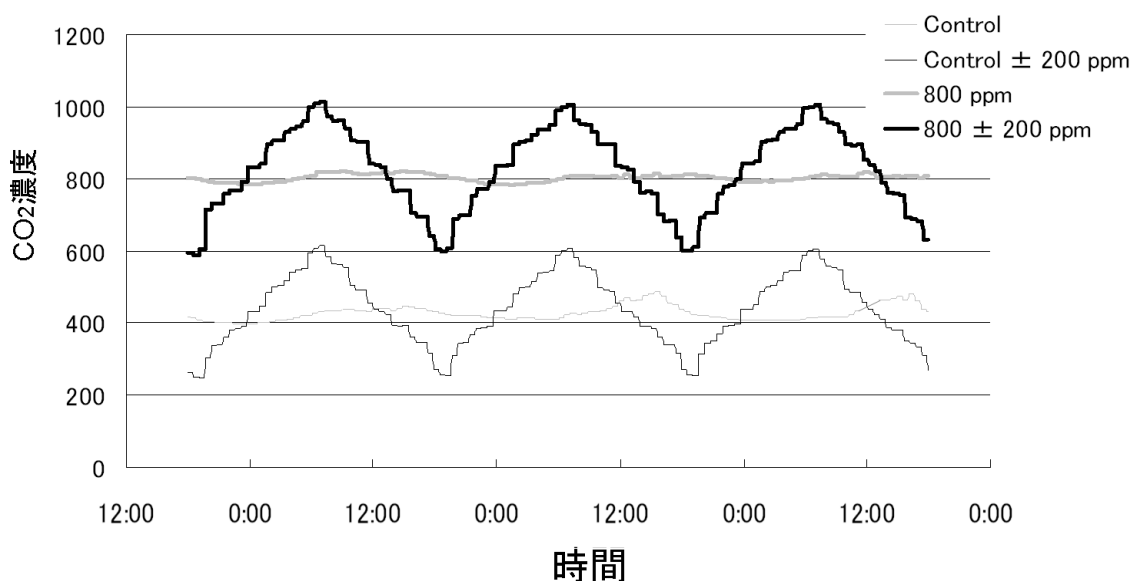


図3 日周変動を考慮して作成したCO₂分圧条件

ロール) ppmの計2条件、ムラサキウニにおいては300、400 (コントロール)、500、600 ppmの計4条件とした。それぞれのウニ種の幼生を各条件に3日間曝露した後に骨格サイズ(全長、後腕長、ボディ長)の計測を行い、バフンウニについては受精後の卵300個を105分間各条件に曝露した後に10%ホルマリン海水によって固定して卵割数の測定も行った。

(2) 造礁サンゴ類への海洋酸性化の影響評価

1) 日周CO₂分圧変動を加味した酸性化条件がクシハダミドリイシ幼個体に与える影響の評価実験

白浜周辺に生息する温帯性造礁サンゴ類のクシハダミドリイシの配偶子より得た幼個体を、精密CO₂溶解システムを用いて自然海の日周CO₂分圧変動を加味したCO₂分圧条件に曝露し、その初期成長に与える影響を調べるための実験を行った。曝露CO₂分圧条件は475 (コントロール)、605、800、1000 ppmの固定CO₂分圧条件及び600 ppmと1000 ppmを12時間毎に行き来する日周変動条件の計5条件、曝露期間は28日間とし、実験後に顕微鏡下にて撮影した写真から画像解析ソフトウェアImageJ 1.38 program (National Institutes of Health, Bethesda, MD)を用いて骨格表面積(投影面積)を計測した。

2) 酸性化条件と高水温の複合条件がコユビミドリイシ幼個体に与える影響の評価実験

精密CO₂溶解システムを用い、コユビミドリイシの幼個体への高CO₂分圧と高水温の複合条件の曝露実験を実施した。幼個体はプラスチックプレート上に着底させた生後7日の個体を用い、実験条件は400 ppm+27°C (コントロール)、400 ppm+31°C、1000 ppm+27°C、1000 ppm+31°Cとした。幼個体が付着したプラスチックプレート(各条件約60個体)を実験水槽(12 L)に入れ10日間、各条件への曝露を行った。曝露後に幼個体は回収され、軟組織をウォータージェットにより取り除いた後に乾燥させた。乾燥させたサンプルは超精密天秤(Thermo Cahn, C-35 microbalance)により重量を計測し、高CO₂分圧と高水温の複合条件がサンゴ幼個体に与える影響を評価した。

3) 低レベルCO₂分圧がコユビミドリイシに与える影響の評価実験

精密CO₂溶解システムを用い、コユビミドリイシの幼個体を低CO₂分圧条件に暴露し、その影響を評価した。幼個体は上記と同様の方法でプラスチックプレート上に付着させたものを用いて10日間の暴露を行った後に骨格重量を計測した。実験条件は400 ppm（コントロール）と250 ppm（低CO₂分圧）を用いた。

4. 結果・考察

(1) ウニ類への海洋酸性化の影響評価

1) 酸性化条件への長期曝露がムラサキウニに与える影響の評価実験

a. 飼育システムの検証

水族館で蛇口から供給している海水（本実験システムにおいて、対照区のCO₂分圧として参照している海水）は、一度取水口から海水タンクに貯留し、時間を経て蛇口から排出されるため、貯留中にCO₂分圧が変化している可能性がある。この可能性を検証するために実際の現場海水と水族館の蛇口から供給されている海水を採取しそのCO₂分圧を測定した（図4 A）。その結果、現場の海水では、CO₂分圧は現在の大気中のCO₂分圧に近い値を中心として変動しており、最小値が275 ppm、最大値が440 ppmであった。また最大値は夜明け前の午前5時に得られ、最小値は午後3時に得られた。この結果は、現場海水のCO₂分圧は、現場の植物プランクトンによる光合成活性と、現場に生息する微生物をはじめとする生物群集の呼吸活性とに大きく影響されており、光合成によるCO₂の消費がピークを迎える時間にCO₂分圧が最小になり、光合成のない夜間のCO₂の累積的な発生がピークを迎える午前5時ごろに最大値となったものと解釈することができる。

一方、水族館の蛇口からの供給海水は、現場のCO₂分圧よりも100-300 ppmほど高い値で推移した（図4 A）。したがって水族館

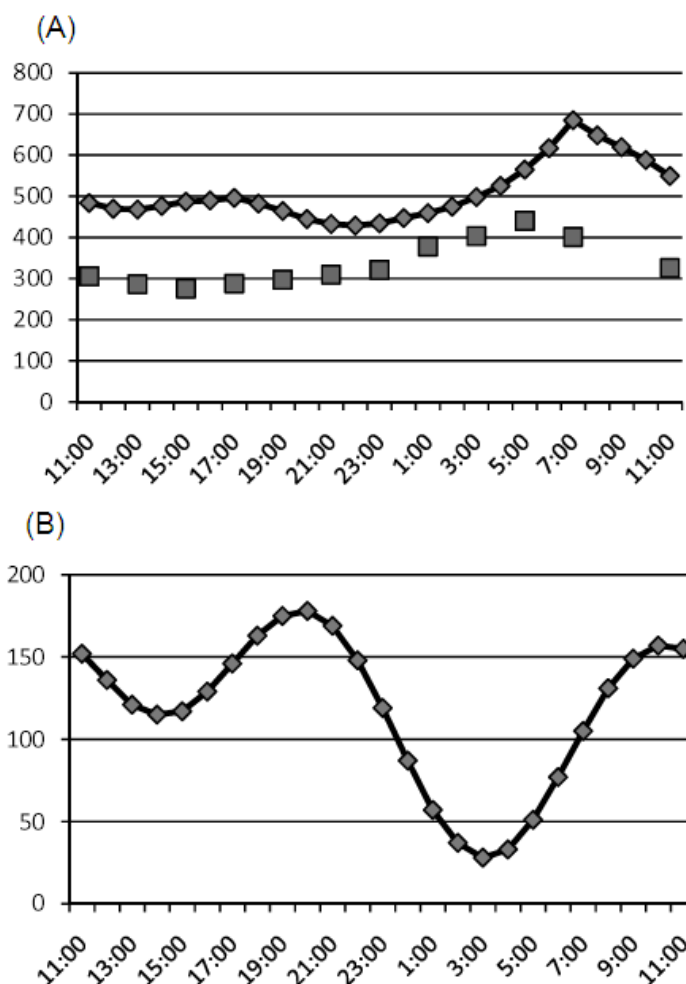


図4 (A) 取水口（現場）と水族館蛇口から供給される海水のCO₂分圧の日周変化（◆：水族館蛇口 ■：現場取水口）。
(B) 取水口のある場所の水位の変化。

の供給海水を用いて飼育されている動物たちはすでに将来のCO₂分圧に近い高CO₂環境で飼育をされているとすることができる。この原因は海水の貯留槽に取水口からくみ上げた海水が一時的にためられており、貯留槽の中で有機物の分解が起きているためと解釈される。供給海水の日周変化は午前8時にピークに達した。もし一定の速度で貯留槽の海水が取水口からの供給と蛇口からの排出を継続している場合は周辺の気温がもっとも高くなる午後2時ごろにCO₂分圧が最大になるはずである。その結果はむしろこの測定をしたときの潮位の変化に大きく影響されているものと考えられる(図4B)。すなわち、この日潮位がもっとも低くなった午前3時の前後数時間の間、貯留槽には取水口から新鮮な海水が供給されず、貯留槽内での有機物の分解によるCO₂分圧の増加のみが進行した。潮位が十分に回復した午前7時以降は取水口から新鮮でCO₂分圧が低い海水が貯留槽内に供給されるようになったため、CO₂分圧が低下に転じたと思われる。実際13時前後にあったもう一つの干潮では、水位があまり下がらなかったため、水族館の蛇口から供給される海水のCO₂分圧には大きな変化が見られなかった。

b. 初期システムの実証試験

次に、初期システムにおける水槽内の環境変化を追跡した結果、コントロール区においては、供給空気のCO₂分圧に比べて実際のおよそ毎時2%による新鮮海水の供給と低CO₂分圧空気の曝気では十分に解消されないことを示

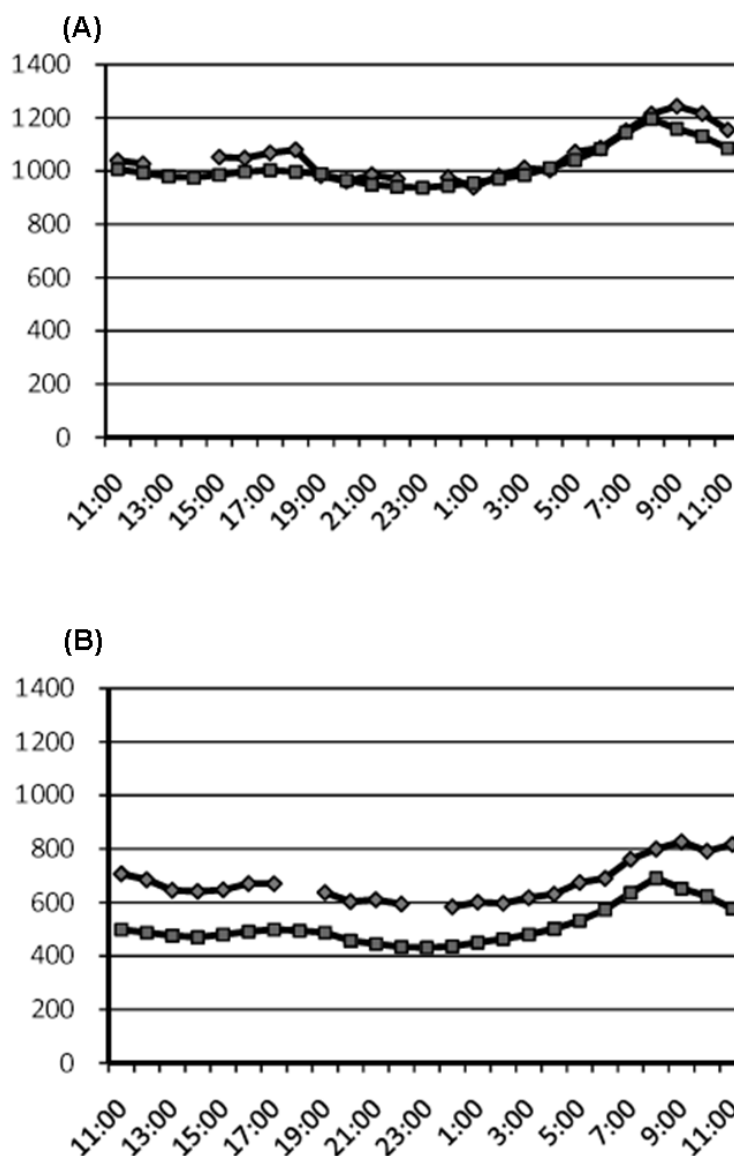


図5 コントロール区(A)と、+500 ppmの条件に制御することを目指している実験区(B)の水槽内のCO₂分圧の日周変化。
 ■：供給している調整した空気のCO₂分圧 ◆：実際のおよそ毎時2%による新鮮海水の供給と低CO₂分圧空気の曝気では十分に解消されないことを示している。

している。しかし供給している空気中のCO₂の変動パターンと水槽内のCO₂分圧の変動パターンは比較的良好に一致しており、本水槽システムが目指しているCO₂分圧の日周変化を水槽中で再現するという目的にはおおむね達していた。

コントロールに対して+500 ppmになるように調整した空気中で曝気している実験区の水槽内のCO₂分圧は供給している空気中のCO₂分圧とよく一致していた（図5 B）。この結果は、CO₂分圧を水槽内で上昇させることは曝気によって達成することができるが、水槽内のCO₂分圧を低下させることは水槽内に直接調整した空気を供給するだけでは困難であることを示唆している。これは、単位pCO₂変化をもたらすのに必要な全炭酸量の変化と関係しており、同じ原海水のpCO₂から曝気でpCO₂を変化させるときにpCO₂を高める方が小さい全炭酸変化でよいが、低める場合はより大きな全炭酸変化を必要とする。また、飼育水槽は有機物分解によるCO₂分圧増加の要因もあり、これらの複合的な効果で+500 ppm区は曝気空気と近いCO₂分圧になり、コントロール区は曝気空気中のCO₂分圧にまで下がらなかったものと解釈することができよう。

これらの結果から、初期システムでは、現在の海洋のCO₂の日周変化をおおむね模擬しながら、およそ+300 ppm前後の条件の水槽（コントロール区）とおよそ+600 ppm前後の条件の水槽（実験区）で実験を継続していたと考えている。コントロール区と実験区との間には、およそ300 ppmのCO₂分圧の定常的な差があり、また日周変化は現場のパターンをよく再現しているものとなっていると評価することができる。

コントロール区中のCO₂分圧を正確に制御して現在の現場の分圧と同じレベルに下げするためには、十分な気液比をもったCO₂吸収機構を使うことが必要とわかった。この長期飼育水槽実験では、本プロジェクトで開発した向流型の吸収塔をその後追加した。できるだけ高い換水率でCO₂分圧を制御した海水を水槽内に供給し、よりよい実験水槽内CO₂環境制御とするよう改善し、実験を継続している。

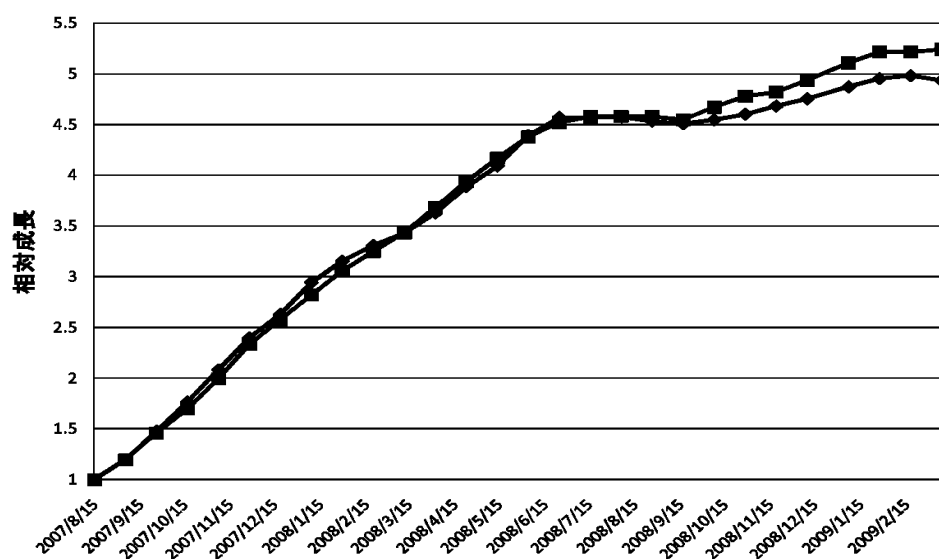


図6 ムラサキウニの相対成長。■：コントロール区 ◆：実験区。実験開始後14か月の間はほとんど差がみられないが、その後相対成長は実験区の方がコントロール区より低い傾向が次第に顕著になってきている。

c. ムラサキウニの長期飼育実験

上記のような条件で長期間飼育したムラサキウニの幼稚体の成長を追跡した結果、実験の初期段階では、コントロール区と実験区の動物の間で、成長にはほとんど差がなかったにもかかわらず、実験を開始してから14か月程度を経過した段階で、両者の間には差が生じ始め、20か月を経過した段階まで徐々にその差が広がりつつある（図6）。

従来の止水条件で小型水槽（30 L）を用いて得られた実験結果（Shirayama and Thornson, 2005⁴）：図7）に比べて、大型水槽（200 L）を用い継続的な換水を行った今回の実験では、高CO₂の影響が顕著になるまでの時間が大幅に長くなっていった。この結果は従来の実験システムでは、CO₂分圧の微妙な制御が十分できておらず、実験区のCO₂分圧は供給している空気のCO₂分圧よりも高くなっており、影響を過大評価していた可能性が高いことを示唆している。実際、本システムにおいてさえも、コントロール区の海水のCO₂分圧は、供給している空気のCO₂分圧よりも高くなっており、低分圧の制御を精密に行うことが、将来の海洋酸性化の影響評価には重要となる。

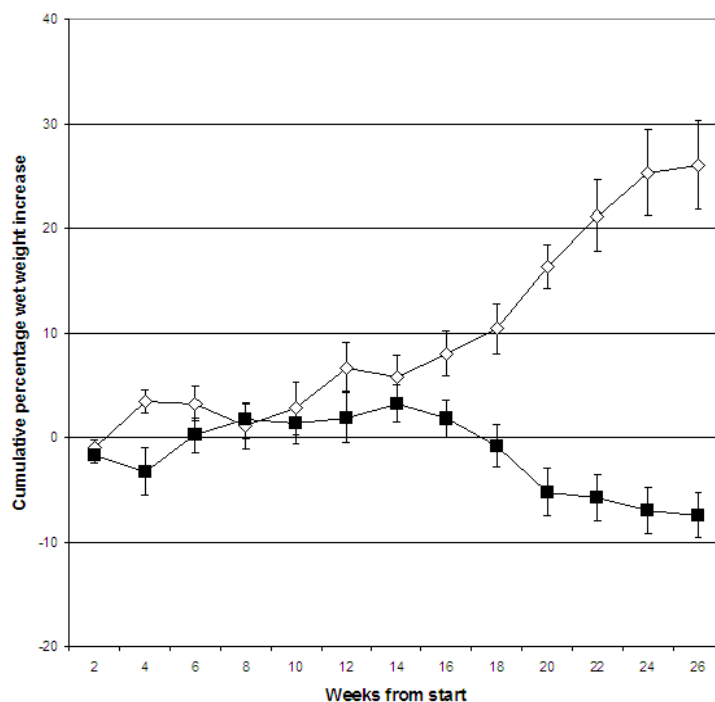


図7 小型水槽止水条件で得られた、高CO₂分圧条件でのツマジロナガウニの成長に対する影響（Shirayama and Thornton, 2005⁴より）。この実験の場合、16週（3か月）から、コントロール区と実験区との間で成長率に差がみられるようになってきた。一方、白山が2003年から2005年にかけて実施した一定分圧の大型水槽実験（白山ら、未発表）では、今回の実験と同程度の換水を常時行った。そのためか、影響は実験開始から500日程度を経過して顕著になり、日周変動を加味した今回の実験とよく似た結果となっている。したがって日周変化を加味したことが結果にはあまり大きな影響を与えていないかもしれないが、その実験では、700日近くになって顕著な影響が観察されており、今回の実験後もさらに継続して推移を見守る必要があると考えた。そこで、低分圧側の制御をより精密に行うために、本節以降の実験ではプロジェクトで開発した向流式のCO₂溶解システム（図2）を用いた。

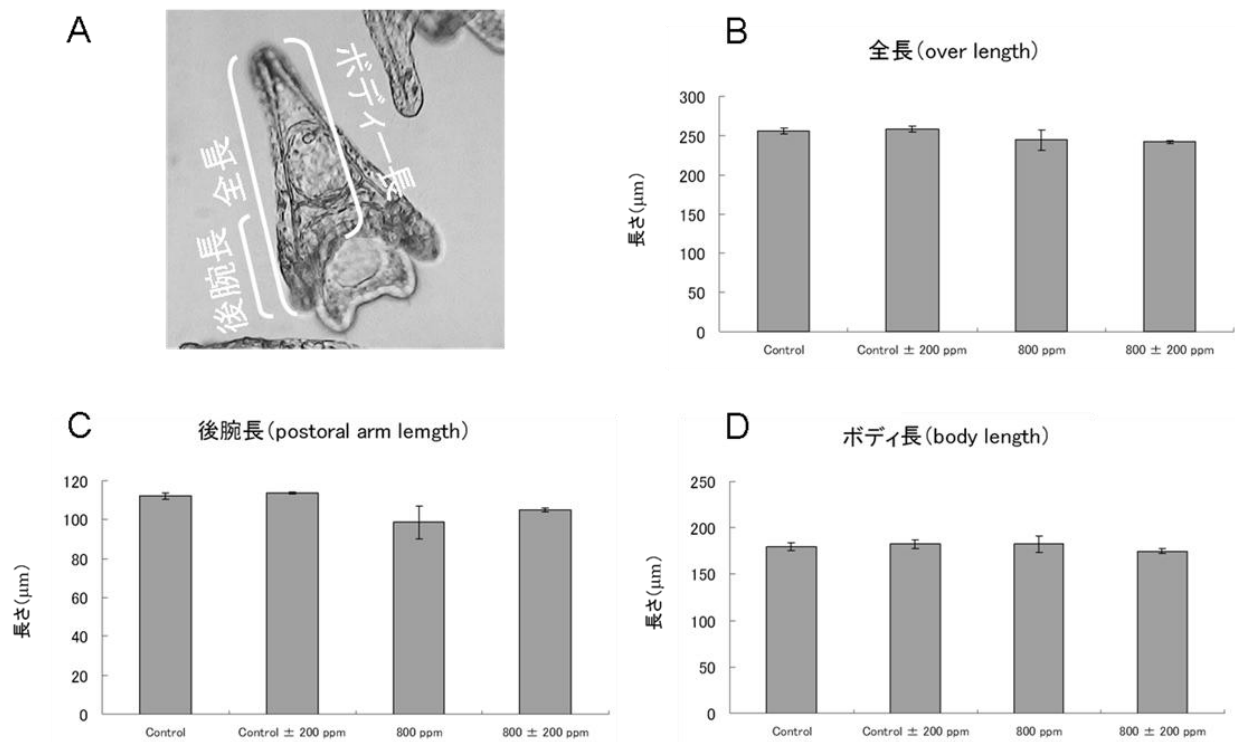


図8 A：計測したバフンウニ幼生の形態部位。B-D：日周変動するCO₂分圧条件と高CO₂分圧条件に3日間曝したバフンウニ幼生の各形態部位のサイズ（平均値±標準誤差、サンプル数 n=4）。

2) 日周CO₂分圧変動を加味した酸性化条件がバフンウニ幼生に与える影響の評価実験

CO₂分圧が一日の中で変動する条件（400±200 ppm、800±200 ppm、図3）で培養したバフンウニの幼生は、CO₂分圧が一定な条件に曝したものに比べてその形態に差は認められなかった（Bonferroni、各 $p > 0.05$ 、図8 B-D）。幼生の全長とボディ長には各条件間に差はみられなかった（Bonferroni、各 $p > 0.05$ ）が、後腕の長さにおいてCO₂分圧を高めた2条件800 ppmと800±200 ppmではコントロールよりも長さがそれぞれ12.0 %と6.20 %有意に短くなっていることが分かった（Bonferroni、各 $p < 0.05$ 、図8）。

バフンウニ幼生の体サイズはCO₂分圧の上昇に伴い減少することが報告されており（Kurihara and Shirayama 2004⁷⁾）、これは今回得られた高CO₂分圧実験区における後腕長サイズの低下を示す結果（図8 C）と一致する。この結果と、後述する低CO₂分圧域におけるバフンウニ幼生サイズの増大を考慮すると、日周変動するCO₂分圧条件下において、形態サイズの低CO₂分圧時間域における増大と、高CO₂分圧時間域における減少が同条件下にて起こっているために見かけ上の変化が現れなかった可能性が示唆される。今後は、CO₂分圧レベルやその変動パターンが異なる条件について同様の実験を実施することで、CO₂分圧の日周変化とウニ幼生の形態形成の関係をより詳細に調べていく必要がある。

3) 低レベルCO₂分圧がムラサキウニとバフンウニの初期発生に与える影響の評価実験

低レベルCO₂分圧条件に105分間曝したバフンウニの受精卵約300個の卵割数を計測した結果、未

卵割卵から8細胞期までの胚が観察されたものの、2条件間の各細胞期の割合に有意差は検出されなかった (U-test、each $p > 0.05$ 、図9)。

各CO₂分圧条件に3日間曝したバフンウニのウニ幼生の骨格サイズは全長、後腕長、ボディ長の全てにおいて230 ppm条件の方が430 ppm条件より有意に長かった (全長 : Nested ANOVA、 $F_{1, 159} = 38.1$ 、後腕長 : $F_{1, 159} = 13.9$ 、ボディ長 : $F_{1, 159} = 21.5$ 、each $p < 0.001$ 、図10)。一方、各CO₂分圧条件に3日間曝した後のムラサキウニのウニ幼生の骨格サイズは、全長と後腕長において、300 ppmに曝した幼生の方が500と600 ppmに曝したものよりもサイズが有意に長くなった (Nested ANOVA、

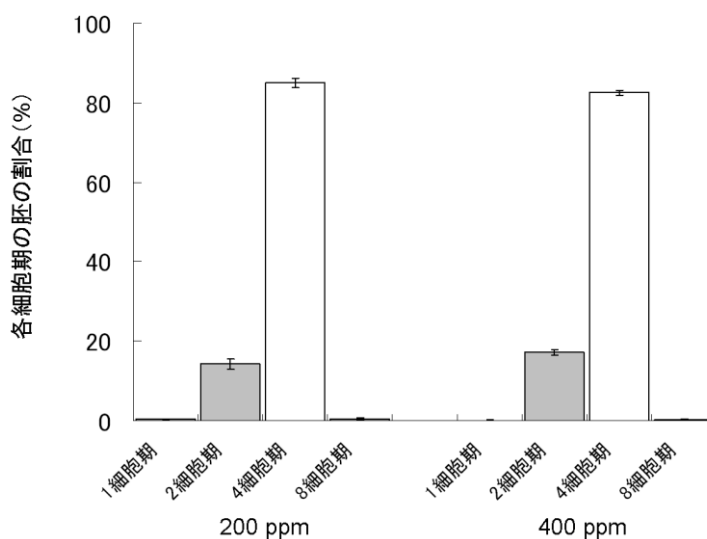


図9 低CO₂分圧条件に105分間曝したバフンウニ受精卵の初期発生における各細胞期の胚の割合 (平均値±標準、サンプル数 n=4)

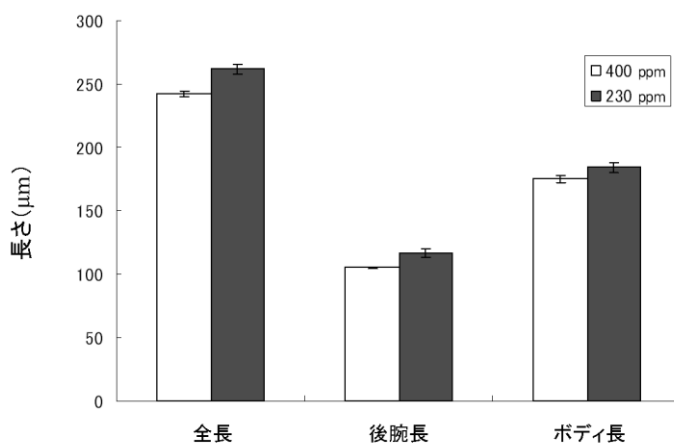


図10 低CO₂分圧条件に3日間曝したバフンウニ幼生の各形態部位のサイズ (平均値±標準誤差、サンプル数 n=4)

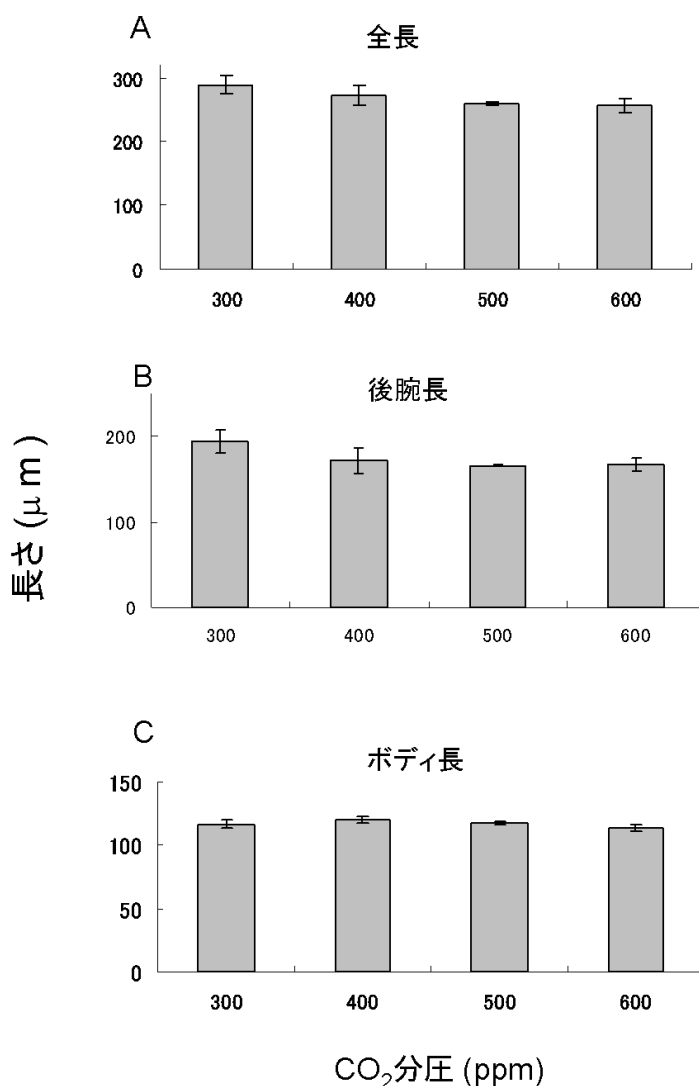


図11 低CO₂分圧条件に3日間曝したムラサキウニ幼生の各形態部位のサイズ (平均値±標準誤差、サンプル数 n=4)

post hoc Tukey-Kramer HSD test, each $p < 0.05$, 図11A–B)。また、ムラサキウニのウニ幼生の全長は600 ppm条件において400 ppm条件よりも有意に短くなった (Nested ANOVA, post hoc Tukey-Kramer HSD test, $p < 0.05$, 図11C)。本研究において実験に用いたウニ類の幼生サイズが産業革命前のCO₂分圧レベルの条件下において、現在や近未来に予測されているCO₂分圧条件に曝した幼生よりも大きくなることが明らかとなった。このことは、将来予想される海洋酸性化の石灰化生物への影響は現在において既に起こっている可能性を示唆するものである。

(2) 造礁サンゴ類への海洋酸性化の影響評価

1) 日周CO₂分圧変動を加味した酸性化条件がクシハダミドリイシ幼個体に与える影響の評価実験
 実験後に計測した各条件の幼個体の骨格表面積は475 ppmにおいては $1.05 \pm 0.03 \text{ mm}^2$ 、605 ppmは $0.98 \pm 0.03 \text{ mm}^2$ 、800 ppmは $0.96 \pm 0.02 \text{ mm}^2$ 、1000 ppmは $0.90 \pm 0.05 \text{ mm}^2$ となり、CO₂分圧値との強い相関を示した ($y = -0.03 \times 10^{-2}x + 1.152$, $R^2 = 0.9316$, $p < 0.05$, 図12)。また、日周変動条件

(600と1000 ppmの12時間サイクル)においては $0.90 \pm 0.02 \text{ mm}^2$ となり、この回帰直線よりも低い値となった。本研究は CO_2 分圧が日周変動する自然条件を模した実験条件を人工的に作成することでその影響を調べたものである。その結果、600 ppmと1000 ppmに12時間毎に曝露されたクシハダミドリイシ幼個体の骨格表面積は一定の CO_2 分圧条件に曝したものよりも表面積サイズが小さくなるというマイナス影響がより大きくなる可能性があることが明らかとなった。このことは、海洋酸性化の海洋生物への影響評価をより正確に行うためには、本実験における CO_2 分圧の日周変動を加味した条件のような、より自然条件に近い実験条件を用いる必要があるといえる。

2) 酸性化条件と高水温の複合条件がコブミドリイシ幼個体に与える影響の評価実験

高 CO_2 分圧に曝した条件では骨格重量の低下がみられた (2-way ANOVA、 $p < 0.001$ 、図13)。また、高水温による骨格重量の低下促進はみられず、むしろ高水温による骨格重量の有意な増加傾向がみられた (2-way ANOVA、 $p < 0.01$ 、図13)。

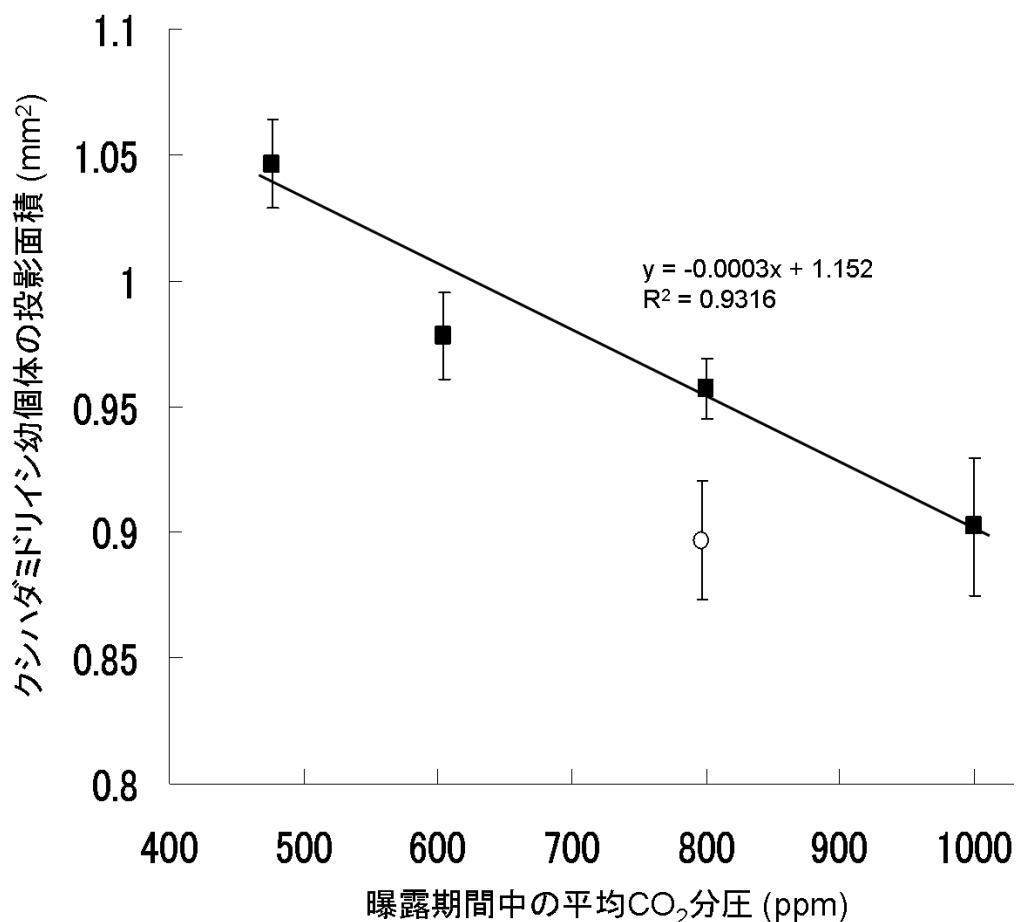


図12 日周 CO_2 分圧変動を加味した酸性化条件がクシハダミドリイシ幼個体に与える影響。10日間各条件に曝露した幼個体の投影面積、黒四角 (■) : 475 ppmから1000 ppmの固定 CO_2 分圧条件、白丸 (○) : 600 ppmと1000 ppmの12時間変動サイクル条件 (平均値 \pm 標準誤差、サンプル数 $n=4$)。回帰直線と回帰式は475 ppmから1000 ppmの CO_2 分圧条件に曝露した幼個体の投影面積より算出。日周変動を加味した酸性化条件に曝した幼個体の投影面積はこの回帰式の下に位置しているのが分かる。

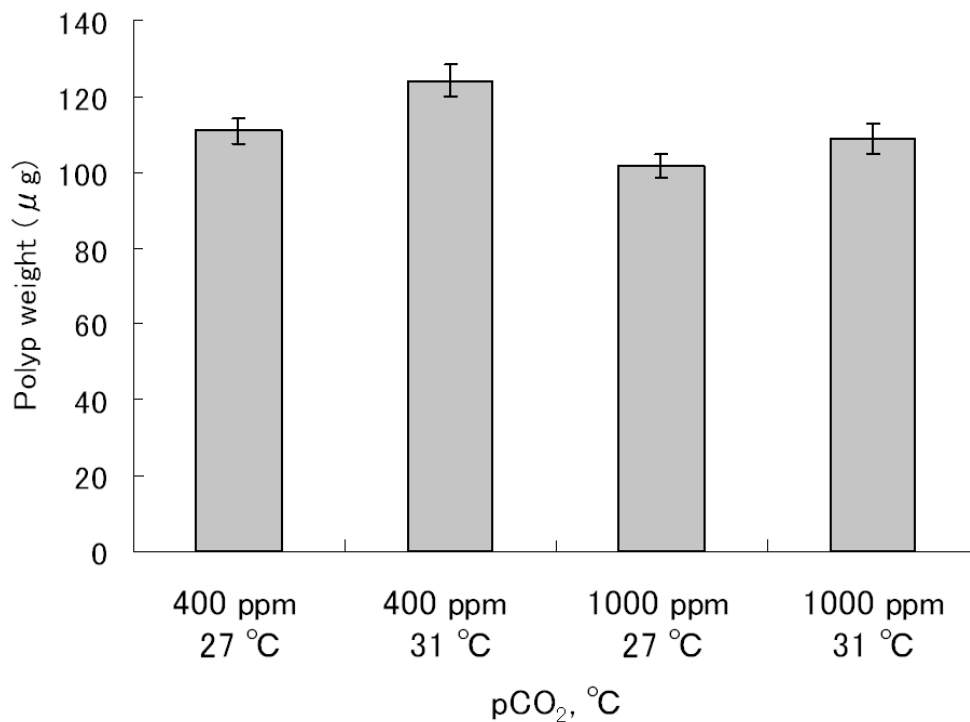


図13 高CO₂分圧と高水温条件に10日間曝したコユビミドリイシの幼個体の骨格重量（平均値±標準誤差、サンプル数 n=57, 60, 60, 60）

幼個体の成長はCO₂分圧の上昇に伴い減少することが報告されており（Suwa et al. 2010⁸⁾）、今回の結果もこれと一致する。高CO₂分圧条件化における石灰化の減少については、これに伴う骨格形成の材料となる炭酸イオン（CO₃²⁻）の減少が原因である可能性が報告されている（Marubini et al. 2008⁹⁾）が、高海水温がサンゴの骨格形成に与える影響についてはまだ詳しく分かっていない。同じ造礁サンゴ類であるショウガサンゴの成群体の石灰化において高CO₂分圧（約800 ppm）条件下での減少と海水温上昇（+3°C）による促進という、本実験と同様の結果が報告されている（Reynaud et al. 2003¹⁰⁾）。高海水温による石灰化の促進はサンゴの代謝が上昇したためであることが示唆されている。一方で、高海水温によるサンゴの石灰化の減少も報告されている（Anthony et al. 2009¹¹⁾）が、この両者の報告の違いは、高温条件下でのサンゴの共生藻の動態が影響しているのではないかと考えられる。サンゴの共生藻はある一定以上の高海水温や強光に曝されると、光合成系の異常により、サンゴに悪影響を及ぼすことが知られている（Lesser et al. 1997¹²⁾）。本研究に用いた幼個体は、まだ共生藻を獲得しておらず、サンゴ宿主の代謝の上昇に伴う石灰化の促進がみられた可能性がある。以上のことから、コユビミドリイシ幼個体に対する高CO₂分圧と高水温の複合影響は、石灰化の高CO₂分圧による減少と高水温による増加というふたつの拮抗する現象が同時に起こるために、骨格重量に見かけ上の変化が表れなかった可能性が示唆される。今後は、人工的に共生藻を獲得させた幼個体を用いて同様の実験を行い、上記の可能性を検証してゆく必要がある。

3) 低レベルCO₂分圧がコユビミドリイシに与える影響の評価実験

低CO₂分圧がクシハダミドリイシ幼個体に及ぼす影響について調べた結果、現在の海の環境を想定したコントロール条件(400 ppm)に比べ、骨格重量の8.85%の増加がみられた(U-test、各p < 0.05、図14)。このことは、前述のウニ幼生と同じくクシハダミドリイシの幼個体の成長にとって、化石燃料の消費が活発になる産業革命以前の低CO₂分圧の海洋環境が現在と異なっていたことを示唆するものであり、現在の海は生物に既に負の影響を及ぼしている可能性がある。今後はウニやサンゴの成体(成群体)を含む様々な生物についても低CO₂分圧の影響を調べていくことで将来の海洋酸性化の海洋生態系に対するインパクトを正しく予測するために必要な知見をより広範に集めていく必要がある。

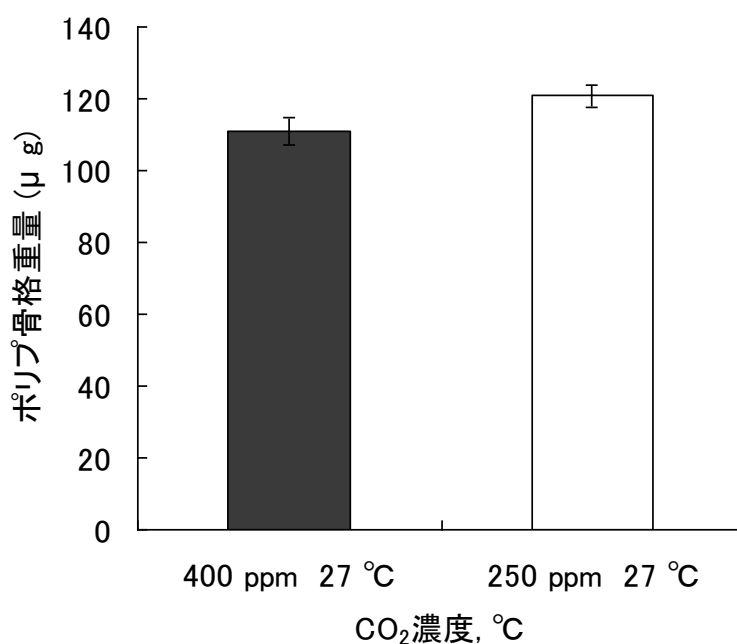


図14 低CO₂分圧条件に10日間曝したコユビミドリイシ幼個体の骨格重量(平均値±標準誤差、サンプル数n=60)

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

従来の研究においては、一定のCO₂分圧での条件で研究が進められてきたが、今回の研究においてはCO₂分圧の日周変化や水温上昇も反映されており、その実験結果の意味するものは従来の結果よりも大きいといえる。また、産業革命前の現在よりも低かったCO₂分圧がウニ幼生と幼個体の成長を増大させることが明らかとなったことは、今後のCO₂の排出抑制対策や生物影響そして海洋生態系への影響を考える上で意義深い。

(2) 環境政策への貢献

本研究から得られた多くの新しい知見は、今後の地球温暖化に伴う海洋酸性化の進行が海洋生態系に及ぼす影響を予測する上で必要性が高いものであり、今後この結果を論文等で広く公表するとともに、IPCC第5次評価報告書のための議論においても、このような結果が反映されるよう努力したい。本サブグループのメンバーはIPCC第5次評価報告書作成のための集会であるIPCC海洋酸性化ワークショップ（沖縄県名護市、2011年1月）に2名参加（うち1名は招待講演者として）し、ウニ類幼生の低レベルCO₂分圧条件への感受性（本報告書中の（1）－3）と造礁サンゴ類幼个体の日周変動条件（同じく（2）－1））及び高海水温下における酸性化条件への感受性（同じく（2）－2））についての研究成果を報告した。

6. 引用文献

- 1) IPCC (2006) Special Technical Report, Carbon Capture and Storage. IPCC, Geneva.
- 2) Kleypas J A, Feely R A, Fabry V J, Langdon C, Sabine C L, Robbins L L (2006) Impacts of Ocean Acidification on Coral Reefs and Other Marine Calcifiers: A Guide for Future Research, Report of a Workshop Held 18–20 April 2005, St. Petersburg, FL, Sponsored by NSF, NOAA, and the U.S. Geological Survey, NSF, Washington DC.
- 3) Orr J C, Fabry V J, Aumont O, Bopp L, Doney S C, Feely R A, Gnanadesikan A, Gruber N, Ishida A, Joos F, Key R M, Lindsay K, Maier-Reimer E, Matear R, Monfray P, Mouchet A, Najjar R G, Plattner G K, Rodgers K B, Sabine C L, Sarmiento J L, Schlitzer R, Slater R D, Totterdell I J, Weirig M-F, Yamanaka Y, Yool A (2005) Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. *Nature* 437: 681-686.
- 4) Shirayama Y, Thornton H. (2005) Effect of increased atmospheric CO₂ on shallow water marine benthos. *J. Geophys. R.-Oceans* 110: C09S08. doi:10.1029/2004JC002618.
- 5) Michaelidis B, Ouzounis C, Paleras A, Pörtner H O (2005) Effects of long-term moderate hypercapnia on acid-base balance and growth rate in marine mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 293:109-118.
- 6) Kitada Y, Fujimura H, Tokeshi R, Oomori T (2006) Air-sea CO₂ flux and gas exchange coefficient at the Sesoko coral reefs, Okinawa, Japan. *Galaxea* 8:51-60.
- 7) Kurihara H, Shirayama Y (2004) Effects of increased atmospheric CO₂ on sea urchin early development. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 274:161-169.
- 8) Suwa R, Nakamura M, Morita M, Shimada K, Iguchi A, Sakai K and Suzuki A (2010) Effects of acidified seawater on early life stages of scleractinian corals (Genus *Acropora*). *Fish. Sci.* 76: 93-99.
- 9) Marubini F, Ferrier-Pagès C, Furla P, Allemand D (2008) Coral calcification responds to seawater acidification: a working hypothesis towards a physiological mechanism. *Coral Reefs* 27:491-499.
- 10) Reynaud S, Leclercq N, Romaine-Lioud S, Ferrier C, Jaubert J, Gattuso J-P (2003) Interaction effects of CO₂ partial pressure and temperature on photosynthesis and calcification in a scleractinian coral. *Glob. Change Biol.* 9:1660-1668.
- 11) Anthony K R N, Kline D I, Diaz-Pulido G, Dove S, Hoegh-Guldberg O (2008) Ocean acidification causes bleaching and productivity loss in coral reef builders. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*

105:17442-17446.

- 12) Lesser M P (1997) Oxidative stress causes coral bleaching during exposure to elevated temperatures. *Coral Reefs* 16:187-192.

7. 国際共同研究等の状況

韓国の研究機関 Korea Ocean Research & Development Institute (KORDI) に所属する Dr. Dongsung Kim の研究グループと将来海洋酸性化に関する国際共同研究を実施することを前提として、計画立案のため、当研究機関において予備的な実験と打ち合わせを行った。

8. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文 (査読あり) >

- 1) 諏訪僚太, 中村崇, 井口亮, 中村雅子, 守田昌哉, 加藤重記, 藤田和彦, 井上麻夕里, 酒井一彦, 鈴木淳, 小池勲夫, 白山義久, 野尻幸宏: 海の研究 19, 21-40 (2010)、 「海洋酸性化がサンゴ礁域の石灰化生物に及ぼす影響」
- 2) Suwa R, Nakamura M, Morita M, Shimada K, Iguchi A, Sakai K, Suzuki A: *Fish. Sci.* 76, 93-99 (2010) “Effects of acidified seawater on early life stages of scleractinian corals (Genus *Acropora*)”

<その他誌上発表 (査読なし) >

- 1) 諏訪僚太: 環境省自然環境局 国際サンゴ礁研究・モニタリングセンター ニュースレター Lagoon、14,7-9 (2010) 「海洋酸性化とサンゴ礁域の生物」

(2) 口頭発表 (学会等)

- 1) Nojiri Y, Shirayama Y, Kimoto H, Egashira T, and Kinoshita K: An ocean acidification simulation experiment with benthic animals using a precise pCO₂ control system, 2nd International Symposium on The Ocean in the High-CO₂ World, Monaco, October, 2008.
- 2) 諏訪僚太, 中村雅子, 井口亮, 守田昌哉, 島田和明, 酒井一彦, 鈴木淳: 共同利用研究集会「バイオミネラルイゼーションと石灰化 -遺伝子から地球環境まで-」(2009)、 「高CO₂濃度がサンゴの初期生活史に及ぼす影響」
- 3) 白山義久: 日本サンゴ礁学会第12回大会シンポジウム「二酸化炭素増加がサンゴ礁域の海洋生物に及ぼす影響-分子から生理、生態まで-」(2009)、 「海洋酸性化研究の概要」
- 4) 諏訪僚太: 日本サンゴ礁学会第12回大会シンポジウム「二酸化炭素増加がサンゴ礁域の海洋生物に及ぼす影響-分子から生理、生態まで-」(2009)、 「シンポジウムの概要紹介」
- 5) 諏訪僚太: 東京大学海洋研究所共同利用研究集会「pHからみた地球環境— 酸性からアルカリ性までの水と生物地球化」(2010)、 「AICAL装置を用いた精密飼育実験と海洋酸性化」
- 6) Suwa R, Shirayama Y: Effects of diurnal pCO₂ fluctuation on sea urchin larvae: a preliminary report, International Symposium on "Climate change effects on fish and fisheries", Sendai, Japan, April, 2010.
- 7) Shirayama Y and Suwa R: Potential impacts of ocean acidification on marine biodiversity, Pre-workshop event of IPCC workshop on 'Impacts of ocean acidification on marine biology and ecosystems',

Okinawa, Japan, January, 2011

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない

(4) シンポジウム、セミナーの開催（主催のもの）

- 1) 日本サンゴ礁学会第12回大会シンポジウム「二酸化炭素増加がサンゴ礁域の海洋生物に及ぼす影響-分子から生理、生態まで-」（2009年11月28日、本部町立中央公民館大ホール、観客200名）

(5) マスコミ等への公表・報道等

- 1) 紀伊民報（平成20年6月3日）
- 2) 紀伊民報（平成20年11月1日）
- 3) 紀伊民報（平成21年3月19日）忍び寄る海洋酸性化の危機
- 4) 朝日新聞（平成21年5月9日）CO₂放出増→海が酸性化→生態系に打撃
- 5) 共同通信社（平成21年11月以降に紀伊民報、大分合同新聞社、中国新聞社など複数の新聞社により掲載）CO₂が海を脅かす：精子の運動大幅に低下
- 6) 朝日新聞（平成22年2月1日）酸性化 サンゴ育たぬ海

(6) その他

- 1) 国際会議ESABII and Nagisa Joint Conference in Commemoration of the CBD COP10, Nagoya（開催地：愛知県名古屋市）にてポスター賞を受賞（研究タイトル「Effects of pCO₂ changes on sea urchin larvae」、発表者Suwa R and Shirayama Y）