

# Calcification responses of symbiont-bearing reef foraminifers to ocean acidification; Results from high-precision culture experiments

Mar. 2012, Department of Natural Environment Studies, 106625 Mana Hikami

Supervisor; Professor, Hodaka Kawahata

Keywords: symbiont-bearing reef foraminifera, ocean acidification, calcification, high-precision culture experiment

## 1. Introduction

Ocean acidification, which like global warming is an outcome of anthropogenic CO<sub>2</sub> emissions, severely impacts marine calcifying organisms, especially those living in coral reef ecosystems. However, knowledge about the responses of reef calcifiers to ocean acidification is quite limited, although coral responses are known to be generally negative. In this study, I focused on calcification responses to ocean acidification between species of algal symbiont-bearing reef foraminifers that are important producer of inorganic carbonate in coral reef, biodiversity hot spot, by conducting a series of culture experiments.

## 2. Ocean acidification (OA) experiment and Constant carbonate (CC) experiment

I conducted ocean acidification (OA) experiment using a high-precision  $p\text{CO}_2$  control system to evaluate the effects of ongoing ocean acidification on foraminiferal calcification under possible near-future  $p\text{CO}_2$  conditions. Target species are *Amphisorus kudakajimensis* and *Calcarina gaudichaudii* individuals that are host to dinoflagellate and diatom endosymbionts, respectively. The five treatment levels used, 245, 375, 588, 763, and 907  $\mu\text{atm}$ , represented pre-industrial (Low  $p\text{CO}_2$ ), present-day (Control), and three near-future (High  $p\text{CO}_2$ -1,2,3)  $p\text{CO}_2$  conditions, respectively (Figure 1).

Moreover, to evaluate the impact of  $\text{HCO}_3^-$  and  $\text{CO}_3^{2-}$  concentration changes in seawater on net calcification of foraminifers separately, we also conducted constant carbonate (CC) experiment in which seawater was chemically manipulated to vary the  $\text{HCO}_3^-$  concentration under a constant  $\text{CO}_3^{2-}$  concentration with *Amphisorus hemprichii* and *C. gaudichaudii*. The carbonate chemistry in the five treatments in this experiment was designed to represent a similar range of  $\text{HCO}_3^-$  concentrations to those in the OA experiment while maintaining a constant  $\text{CO}_3^{2-}$  concentration similar to that of the control treatment in the OA experiment (Figure 1).

Asexually reproduced clone individuals can be used for culture experiments to exclude the effect of genetic variability on experimental results. We cultured more 20 individuals each of treatment and both culture experiments were maintained for about 4 weeks at the same constant water temperature and light intensity under a 12

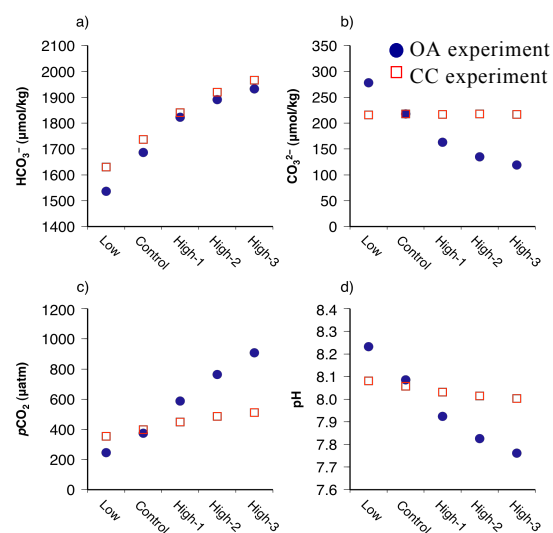


Figure 1. Experimental seawater of each treatment in the ocean acidification (closed circles) and constant carbonate (open squares) experiments. (a) Bicarbonate and (b) carbonate concentrations, (c)  $p\text{CO}_2$ , and (d) pH.

h:12 h light:dark cycle. After the experiment, foraminiferal shells were dried and their weights were measured separately.

### 3. Results and Discussions

In the OA experiment, *A. kudakajimensis* tended to decline mean shell weight with increasing seawater  $p\text{CO}_2$  (Figure 2a). Conversely, in *C. gaudichaudii*, seawater  $p\text{CO}_2$  and shell weight were positively related (Figure 2b). On the other hand, in the CC experiment, no statistically significant trend in shell weight was found among the five treatments in either *A. hemprichii* or *C. gaudichaudii* (Figures 2c and 2d).

To shed light on the causes of the different calcification responses between *Amphisorus* (*A. kudakajimensis* and *A. hemprichii*) and *Calcarina* (*C. gaudichaudii*), I considered the combined results of the OA and CC experiments to evaluate which inorganic carbon species in seawater most affected calcification by foraminifers. As *Amphisorus* did not show any significant trend with higher  $p\text{CO}_2$  or lower pH in the CC experiment, it is highly likely that the  $\text{CO}_3^{2-}$  concentration, importantly influences calcification in *Amphisorus*. Despite lower  $\text{CO}_3^{2-}$ , *Calcarina* showed an increase in net calcification with higher  $p\text{CO}_2$  in the OA experiment, but like *Amphisorus*, no significant trend in the CC experiment. Because the two experiments were designed to have a similar bicarbonate ion concentration range (Figure 1a), the upward trend in the OA experiment can probably be attributed to the increase in  $\text{CO}_2$ , possibly through enhancement of symbiont photosynthesis, a phenomenon known as the  $\text{CO}_2$ -fertilizing effect (Iglesias-Rodriguez et al., 2008; Reis et al., 2009).

I speculate that these different influences of seawater chemistry may be attributable to the different types of symbiotic algae, diatom and dinoflagellate, hosted by *Calcarina* and *Amphisorus*, respectively. Wu et al. (2010) indicated that high- $\text{CO}_2$  seawater is favorable to diatom growth in a single-species culture experiment. On the other hand, many laboratory studies of various coral species having dinoflagellates as their symbiotic algae have confirmed that coral calcification rates decrease with increasing  $p\text{CO}_2$  (Doney et al., 2009); these results may indicate that the  $\text{CO}_2$ -fertilizing effect of dinoflagellates is weak, or that the dependence of *Amphisorus* on photosynthesis is low (Lee et al., 1991). Although experimental results have suggested that photosynthesis by isolated in situ diatom symbionts is saturated at the inorganic carbon concentration of the present seawater (ter Kuile et al., 1989), further studies are needed to measure photosynthetic rates of algal symbionts at various  $p\text{CO}_2$  levels.

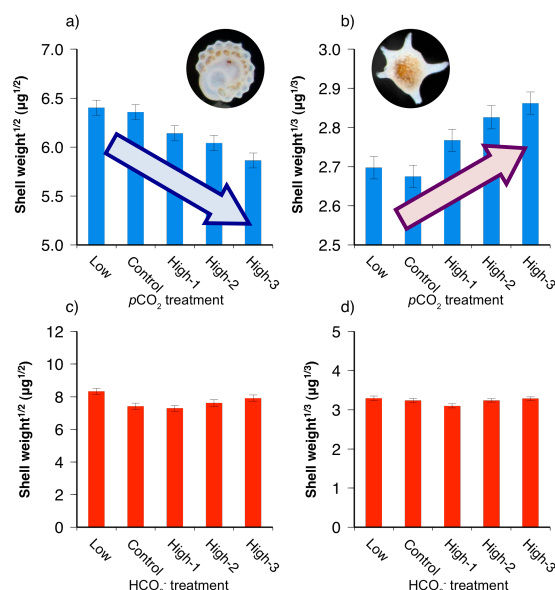


Figure 2. Calcification responses to Ocean acidification experiment (a: *A. kudakajimensis*, b: *C. gaudichaudii*) and Constant carbonate experiment (c: *A. hemprichii*, d: *C. gaudichaudii*).

# 精密飼育実験によるサンゴ礁棲大型有孔虫の海洋酸性化に対する石灰化応答の解明

2012 年 3 月 自然環境学専攻 106625 氷上 愛  
指導教員 教授 川幡穂高

キーワード：サンゴ礁棲大型有孔虫，海洋酸性化，石灰化，精密飼育実験，酸素炭素同位体比

## 1. はじめに

大気中二酸化炭素濃度の増加によって引き起こされる海洋酸性化は、海水の pH を低下させるとともに、炭酸カルシウム飽和度に影響する炭酸イオン濃度 $[\text{CO}_3^{2-}]$ を減少させて、海洋石灰化生物に深刻な影響を及ぼすと考えられている。生物多様性が高いサンゴ礁では、造礁サンゴは海洋酸性化によって負の影響を被ることが多くの研究から報告されているが、他の石灰化生物の海洋酸性化に関する研究例は少ない。そこで、本研究では、サンゴ礁生態系において主要な無機炭酸塩生産者として重要なサンゴ礁棲大型有孔虫 2 種を対象に、海洋酸性化に対する石灰化応答とそのメカニズムを明らかにすることを目的とし、精密に環境を制御した 2 つの飼育実験、“酸性化実験”と“炭酸種実験”を行った。

## 2. 酸性化実験と炭酸種実験の概要

海洋酸性化に対するサンゴ礁棲大型有孔虫の石灰化応答を検証するため、海水中の二酸化炭素分圧(以下、 $p\text{CO}_2$ )を 5 段階に調整した海水を用いて飼育実験を行った(“酸性化実験”)。実験海水は  $p\text{CO}_2$  を高精度 ( $\pm 10 \mu\text{atm}$ ) で長期間制御できる高精度  $p\text{CO}_2$  制御装置を用いて作成した。対象種は *Amphisorus kudakajimensis* と *Calcarina gaudichaudii* で、それぞれ渦鞭毛藻、珪藻を細胞内共生

していることが知られている (Lee, 2006)。実験海水の  $p\text{CO}_2$  は産業革命前の 245  $\mu\text{atm}$  (Low  $p\text{CO}_2$ )、現在の 375  $\mu\text{atm}$  (Control), 近未来に予測される 588, 763, 907  $\mu\text{atm}$  (High  $p\text{CO}_2$ -1,2,3) の 5 段階に設定した(図 1)。また、海水中の炭酸イオン濃度 $[\text{CO}_3^{2-}]$ を一定にし、重炭酸イオン濃度 $[\text{HCO}_3^-]$ を 5 段階に設定した海水を調製して、有孔虫の石灰化応答を検討した(“炭酸種実験”)。実験海水の全炭酸、全アルカリ度を変化させて、 $[\text{CO}_3^{2-}]$ は全条件において一定になるように調整した(図 1)。このとき、実験海水の $[\text{HCO}_3^-]$ は酸性化実験の各段階とほぼ同じ濃度になるように設定されている。対象種は、*Amphisorus hemprichii* と *C. gaudichaudii* であり、前

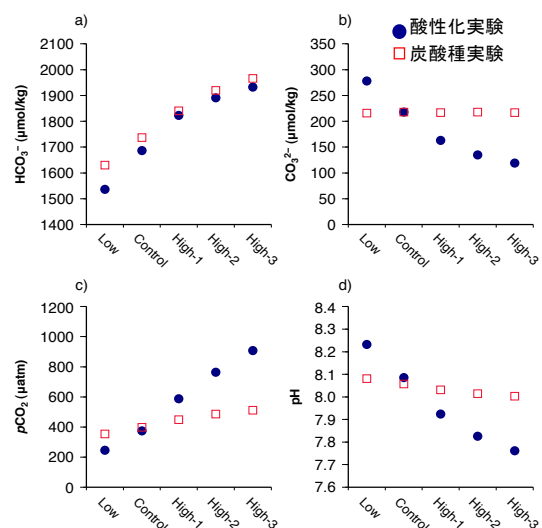


図 1. 2 つの飼育実験に用いた実験海水の各炭酸種濃度. 酸性化実験は丸、炭酸種実験は四角で示されている. (a) 重炭酸イオン濃度、(b) 炭酸イオン濃度、(c) 二酸化炭素分圧、(d) pH.

者は「酸性化実験」の対象種である *A. kudakajimensis* の近縁種である。考察では *A. kudakajimensis* と *A. hemprichii* をまとめて *Amphisorus* として扱う。両実験の実験個体はそれぞれ無性生殖で生まれたクローン個体群（同じ遺伝型）を用い、各条件では 20 個体以上の有孔虫を飼育した。飼育期間は 4 週間で、実験期間中、水温と光量は一定に調整し、光の明暗は 12 時間周期とした。実験終了後、1 個体ずつ乾重量の測定を行った。

### 3. 結果と考察

海水の  $p\text{CO}_2$  を 5 段階に変化させた酸性化実験の結果、 $p\text{CO}_2$  の増加に伴い *A. kudakajimensis* の殻重量は減少傾向を示した（図 2a）。反対に *C. gaudichaudii* の殻重量は  $p\text{CO}_2$  の上昇に伴い、増加する傾向を示した（図 2b）。一方、炭酸種実験では、海水中の炭酸種組成の変化に伴う傾向は両種ともみられなかった（図 2c,d）。以上、2 つの実験結果より、本実験の *Amphisorus* の石灰化量の変化は $[\text{CO}_3^{2-}]$ の変化に強く影響を受けることが示唆された。また、*C. gaudichaudii* も炭酸種実験において石灰化量の変化がみられなかったことは、 $[\text{HCO}_3^-]$ の変化ではなく、 $p\text{CO}_2$ の変化と石灰化応答が対応していることを示唆している。 $p\text{CO}_2$  の上昇は共生藻類の光合成を活性化させる可能性が考えられる（施肥効果）。*C. gaudichaudii* でみられた石灰化量の増加は、珪藻の施肥効果が宿主の石灰化を促進させている可能性が考えられる。光合成活性による石灰化促進効果はこれまで円石藻や石灰藻において報告されている（Iglesias-Rodriguez et al., 2008; Ries et al., 2009）。また、Wu et al. (2010) は珪藻類の単離実験を行い、 $\text{CO}_2$  増加に対して珪藻類の生物生産量が増加することを報告した。*C. gaudichaudii* は海水の  $p\text{CO}_2$  の上昇によって珪藻の光合成が活発化し、石灰化が促進されている可能性がある。一方、渦鞭毛藻を共生藻としている造礁サンゴの酸性化海水に対する石灰量は、酸性化海水に対して減少傾向を示すという報告以外なされていない（Doney et al., 2009）ため、渦鞭毛藻をもつ石灰化生物は施肥効果による石灰化量の増加がみられないことが示されている。以上のことから、サンゴ礁棲有孔虫 2 種の海洋酸性化に対する石灰化応答の違いは共生藻の違い、つまり渦鞭毛藻の施肥効果が珪藻に比べて低いこと、もしくは *Amphisorus* の光合成依存度が低い可能性が考えられる（Lee et al., 1991）。今回の研究結果より、今後は、海水中の  $p\text{CO}_2$  増加における共生藻の光合成活性の関係性についての議論が、海洋酸性化に対するサンゴ礁の生物応答研究において必要である。

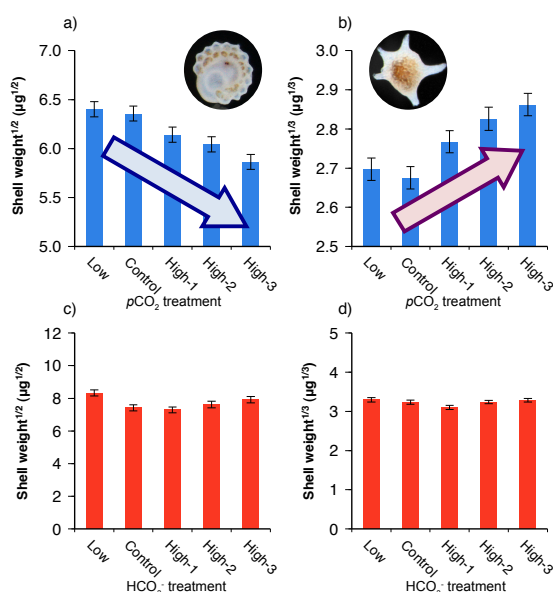


図 2. 酸性化実験 (a,b) と炭酸種実験における有孔虫の石灰化応答の結果。酸性化実験 (a) *Amphisorus kudakajimensis*, (b) *Calcarina gaudichaudii*, 炭酸種実験 (c) *Amphisorus hemprichii*, (d) *Calcarina gaudichaudii*.