東京大学新領域創成科学研究科 環境学系自然環境学専攻 地球海洋環境学分野

> 2010 年度 修士論文

翼足類及びサンゴを用いた石灰化生物への環境変動の影響評価

Impact assessment of environmental change on marine calcifiers using pteropods and corals

> 2011 年 1 月 28 日提出 2010 年度 3 月修了 指導教員 川幡穂高 教授

096618 新免 浩太郎

- 1. 序論
 - 1.1 海洋酸性化とは
 - 1.2 翼足類と造礁サンゴ類
 - 1.2.1 造礁サンゴ類
 - 1.2.2 翼足類
 - 1.3 これまでの海洋酸性化に関する研究
 - 1.4 本研究の目的
- 2. サンゴポリプに対する海洋酸性化の影響評価
 - 2.1 材料と方法
 - 2.1.1 サンゴポリプ飼育実験の概要
 - 2.1.1.1 精密 pCO2制御飼育実験
 - 2.1.1.2 高水温環境実験
 - 2.1.1.3 低塩分環境実験
 - 2.1.2 サンゴポリプおよび飼育プレートの作成
 - 2.1.2.1 精密 pCO2制御飼育実験
 - 2.1.2.2 高水温環境実験および低塩分環境実験
 - **2.1.3** 各飼育実験装置の設定
 - 2.1.3.1 精密 pCO2 制御飼育実験
 - 2.1.3.2 高水温環境実験
 - 2.1.3.3 低塩分環境実験
 - 2.1.4 その他実験条件と方法
 - 2.1.4.1 海水
 - 2.1.4.2 光量
 - 2.1.4.3 pH
 - 2.1.4.4 全アルカリ度 (TA)
 - 2.1.4.5 各種炭酸系
 - 2.1.5 生物学的評価
 - 2.1.6 統計解析
 - 2.2 結果
 - 2.2.1 高水温環境実験
 - 2.2.2 低塩分環境実験
 - 2.2.3 精密 pCO2 制御飼育実験

2.3 考察

- 2.3.1 褐虫藻がサンゴポリプの初期骨格成長に与える影響
- 2.3.2 低塩分環境および高水温環境がサンゴポリプの初期骨格成長に与える影響
- 2.3.3 海洋酸性化がサンゴポリプの初期骨格成長に与える影響
- 3. 翼足類に対する海洋酸性化の影響評価
 - 3.1 材料と方法
 - 3.1.1 海域炭酸系
 - 3.1.2 堆積物中の翼足類遺骸群集
 - 3.1.3 プラントンネットによる現生翼足類の採取
 - 3.1.4 翼足類殻の酸素炭素同位体比分析
 - 3.1.5 翼足類Creseis aciculaの酸性化海水曝露実験
 - 3.2 結果
 - 3.2.1 沖縄周辺海域の炭酸系
 - 3.2.2 沖縄本島周辺の海底堆積物から産出する翼足類遺骸群集
 - 3.2.2.1 遺骸群集の構成種
 - 3.2.2.2 地点ごとの産出種および産出個体数
 - 3.2.3 プラントンネットによる現生翼足類の採取
 - 3.2.4 翼足類殻の酸素炭素同位体比分析
 - 3.2.5 翼足類 Creseis acicula の酸性化海水曝露実験
 - 3.3 考察
 - 3.3.1 沖縄周辺海域の炭酸系と翼足類の遺骸群集
 - 3.3.2 殻の酸素・炭素同位体比による翼足類の生息深度の推定
 - 3.3.3 酸性化海水に対する生残率と殻の溶解
- 4. 結論
- 5. 参考文献
- 6. 謝辞
- 7. 図表

1. 序論

1.1 海洋酸性化とは

産業革命以降、化石燃料の使用によっての大気中の二酸化炭素濃度は上昇の一途を辿ってお り、それにより引き起こされる地球環境問題は多岐にわたる。これまで二酸化炭素によって強 化された温室効果が気温や水温の上昇を引き起こす地球温暖化や、降雨の増加が関心を集めて きたが、近年新たに注目を集める現象の一つとして海洋酸性化が挙げられる(Hoegh-Guldbarg et al., 2007)。1800年以降に放出された二酸化炭素のうち、約25%にあたる量が海洋に吸収 されている(Sabine et al., 2004)。大気中の二酸化炭素濃度が上昇すると海洋では二酸化炭素 吸収が促進され、海洋表層の二酸化炭素分圧(*p*CO₂)が上昇する。海洋表層へとけ込んだ二 酸化炭素は水と反応して炭酸を形成し、さらに水素イオンと重炭酸イオンに解離する。この時 放出された水素イオンにより海洋表層のpHが低下する(式1)。

 CO_2 +H₂O ≠ H₂CO₃ ≠ HCO₃·+H⁺ (式 1)

気候変動に関する政府間パネル(Intergovernmental Panel on Climate Change: IPCC) の第4次評価報告書(2007)によれば、現在大気中の二酸化炭素濃度は毎年 0.5%上昇してお り、2065 年頃には産業革命前の2倍の二酸化炭素濃度に達すると予測されている。また Caldeira and Wickett(2003)は、産業革命前と比べて現在の海洋表層のpHは既に0.1ほど 低下しており、2300年には海洋表層 pH が最大で現在よりも0.77低下すると報告した。この ような海洋の pH の変化は、過去42万年間を通して海洋生物が経験したことの無い早さで進 んでいる現象であり(Hoegh-Guldbarg et al.,2007)、海洋生態系への影響が懸念されている。 特に影響を強く受けると考えられているのは、石灰化生物(calcifier)である。石灰化生物は 炭酸カルシウムによって殻や骨格を形成し、この形成される炭酸カルシウムの結晶は方解石 (calcite)、あられ石(argonite)、高マグネシウム方解石(high-magnesian calcite)の3種 類に大別される。あられ石は方解石に比べて溶解しやすいという性質を持っている(Kleypas et al., 1996)。石灰化生物は海洋中に存在するカルシウムイオン(Ca²⁺)と炭酸イオン(CO₃²⁻)

を使って炭酸カルシウムの骨格を形成する(式2)。

$CaCO_3 \neq Ca^{2+} + CO_{3^{2-}}$ (式 2)

炭酸カルシウムの飽和度は Ω(式 3)によって定義され、海水中のカルシウムイオン濃度は概 ね一定であるため炭酸イオン濃度が主に飽和度を規定する。

Ω= [Ca²⁺] [CO₃²·] / Ksp(炭酸カルシウム溶解度) (式3)

しかし、海洋酸性化が進行すると上記(式1)で放出された水素イオンと炭酸イオンが反応し て炭酸水素イオンが形成されることによって(式4)、海洋中の炭酸イオン濃度が低下し、炭 酸カルシウム飽和度も低下する。

 $CO_{3^{2}}$ +H⁺ ≠ HCO₃· (式 4)

1.2 造礁サンゴ類および翼足類

炭酸カルシウムで殻骨格を形成する海洋生物は二枚貝や翼足類などの軟体動物、有孔虫、翼 足類、円石藻、石灰藻、造礁サンゴ類等が上げられる(Raven et al., 2005)。その中でも特に 海洋酸性化の影響が特に懸念されているのは造礁サンゴ類と翼足類である。

1.2.1 造礁サンゴ

造礁サンゴはその大部分が刺胞動物門花虫綱六放サンゴ亜綱イシサンゴ目に属して おり、体内に褐虫藻と呼ばれる渦鞭毛藻を共生させている。この褐虫藻は光合成によってサ ンゴの貴重な栄養源となる有機物を生産する。全海洋のわずか 0.2%を占めるサンゴ礁には 海洋生物の 25%が生息しているとも言われており(Spalding and Jarvis., 2002)、その基盤 を成すのが造礁サンゴである。また, サンゴ礁は全球の炭素循環に寄与しているとも言われ ており(Suzuki and Kawahata.,2003)、サンゴの石灰化はサンゴ礁生態系において重要な 役割を担っている。Orr et al. (2005)は、サンゴの生息する低緯度海域の炭酸イオン濃度に 関して、高緯度域よりも濃度は高いものの、産業革命以前から現在までの低下は29 μmol/kg であり、高緯度海域での低下(18 μmol/kg)よりも急激であると指摘している。そして今 世紀末までには、149±14 μmol/kg と産業革命以前と比べて約 45 %の低下が予測されてい る。サンゴは生活史初期段階に周囲の環境変動の影響をより受けやすいことが指摘されてい る。例としては CO2 添加によって海水の pCO2 を約 900 ppm に調節した海水中でサンゴの 精子鞭毛運動の低下等が報告されている(Morita et al., 2009)。また、カリブ海のハマサ ンゴ属の1種 Porites astreoidesの幼生の酸性化した海水中での着底及びその後の動態を観 察した結果、炭酸カルシウム飽和度の低下に伴って成長率が低下するというた報告がされて いる(Albright et al., 2008)。Suwa et al. (2010)では、pH をそれぞれ 8.0、7.6、7.3 に 調節した海水中で造礁サンゴ類の初期生活段階である幼生サンゴを飼育したところ、pH の 低下に伴って骨格面積の低下と褐虫藻感染率の低下が報告されている。しかし、サンゴ成体 への影響評価に比べサンゴ初期生活史への海洋酸性化の影響についての知見はまだ十分で はない。また、地球温暖化によって引き起こされる海水温の上昇や、降雨の増加による塩分 低下への応答もサンゴ成体への影響評価はなされているものの(e.g. Li et al., 2009; Faxneld et al., 2010) 幼生サンゴに対する知見は十分ではない。

1.2.2 翼足類

翼足類は軟体動物門腹足綱有殻翼足目に属する終生プランクトンである。翼足とよばれる 翼状の器官によって外洋での浮遊生活に適応しており、極域から熱帯まで広く外洋に分布し ている。また、補食の際にmucus webと呼ばれる粘膜の網を形成し、これによって捕獲し た植物プランクトン等を濾過補食することが知られている。一方で、種ごとの生息水深や生 活史といった基礎的な知見には乏しく、従来あまり注目されてこなかった海洋プランクトン であった。しかし、Orrらの研究では、2100年に到達すると予想されている海洋表層のpH 7.7 に調節した海水中に、*Clio pyramidata* (ウキビシガイ)を48時間曝露したところ殻の縁辺部 に溶解の痕跡が報告され、正常な殻形成が行えない環境ではその後の成長に負の影響が出る 可能性が示唆されている。また、極域で優占種である*Limacina helicina* (ミジンウキマイマ イ)をpH 7.7の海水中で飼育したところ、石灰化量が約28%減少したという報告もある (Comeau, 2009)。極域では*Limacina helicina*以外にも裸殻翼足目に属する*Clione limacine* (ハダカカメガイ)が優占種であり、*Clione limacina*は*Limacina helicina*を選択的に補食し ていることが知られている(Kattner et al., 1998)。これらはいずれも大型のプランクトン、 サケやニシンといった魚類にとっての重要な餌であり、翼足類の個体数減少はこれら高次捕 食者の餌の減少を意味している(Hunt et al., 2008; Karnovsky et al., 2008)。また、近年 では、死後の翼足類の殻の沈降が、深海への炭酸塩輸送において主要な役割を担っている可 能性も示唆されている(Gangstø, 2008)。以上のように翼足類は生物学的、地球化学的に も重要なプランクトンであり、これに対する海洋酸性化の影響を評価することは重要である。 しかし研究例はまだ少なく、特に熱帯・亜熱帯域における研究はほとんど行われていない。

1.3 海洋酸性化研究の近年の

海洋酸性化が生物に及ぼす影響に関しては、近年様々な生物種において研究が行われている。 Ries らの研究(Ries et al., 2009)では石灰化生物 18 種類に対してあられ石飽和度(Qaragonite) を低下させた海水中で 60 日間飼育したところ、生物種によって石灰化量の変動応答は異なる という結果が得られた。しかし、これまでの海洋酸性化の研究では各実験によって、酸性化海 水の調整方法(二酸化炭素ガス添加か塩酸や炭酸ナトリウム等の試薬添加)、実験期間、各環 境パラメータ(水温、塩分等)など実験条件が異なり、予測される影響の幅が大きいという問 題が挙げられる。特に pH を調節する際に試薬を添加して調節した場合と、二酸化炭素ガスを 添加して調節した場合では、実験海水中の全アルカリ度、重炭酸イオン濃度(HCO₃)、炭酸 イオン濃度(CO₃²)が異なるため、将来の環境変動を予測する上では二酸化炭素ガスを添加 することによって pH を調節する手法を用いる必要がある。将来予測される海洋酸性化が対象 生物にどのような影響を及ぼすかを正確に見積もるためには、これら環境要因を精密に制御し た飼育実験による評価が必要である。 1.4 本研究の目的

以上の背景を元に、本研究では2つの目的を挙げる。

- 沖縄県周辺海域に生息する翼足類への海洋酸性化の影響評価
- 海洋酸性化および褐虫藻が幼サンゴの初期骨格成長に及ぼす影響の評価

今回私は、外洋の浮遊性石灰化生物の代表として翼足類を、沿岸の底生石灰化生物の代表として造礁サンゴを用いた。

翼足類では沖縄県周辺海域に生息する、*Creseis acicula*(ウキヅノガイ)を対象種とした。 本種はプランクトンネットでの採取が可能であり、また表層付近で多産するため、海洋酸性化 の影響を評価する上でも重要な種である。

造礁サンゴでは、沖縄周辺海域において優先種の1つであり、サンゴ礁浅瀬に生息するコリ ンボース型の枝状群体のAcropora digitifera(コユビミドリイシ)を対象種とした。本種は、 配偶子を得られやすく変態ペプチドによるサンゴポリプの作成が可能である(Iwao et al., 2002)。また、共生藻に関しても定着後に外界から獲得する水平伝搬型であるため、褐虫藻感 染個体と非感染個体の作成が容易であり、本実験の評価に適している。

これら2種を対象として、サンゴポリプの初期骨格成長に海洋の酸性化がどのような影響を 与えるか、海洋の酸性化が翼足類類の殻にどのような影響を及ぼすかという点に着目し環境変 動が石灰化生物の骨格形成に及ぼす影響を解明すべく、実験を行った。

2. 幼生サンゴに対する海洋酸性化の影響評価

2.1 材料と方法

2.1.1 サンゴ水槽飼育実験概要

実験は全て琉球大学熱帯生物圏研究センター瀬底研究施設(以下、瀬底研究施設)に て行った。

2.1.1.1 精密 pCO₂制御装置コユビミドリイシ幼サンゴ飼育実験(酸性化海水実験) コユビミドリイシ(Fig1-a)を対象種として、幼生を変態誘引して得られた幼サンゴを 精密 pCO₂制御装置によって海水の pCO₂を 300、400(参照区)、800、1000ppm の 4 段階に設定した条件下で 10 日間(実験期間 2010 年 6 月 18 日~6 月 28 日)水槽内で 飼育した。水温 27℃、光量 130 µmol m⁻² s⁻¹。

2.1.1.2 高水温環境でのコユビミドリイシ幼サンゴ飼育実験(高水温環境実験)

コユビミドリイシを対象種として、幼生を変態誘引して得られた幼サンゴを、それぞ れ水温を 27 (参照区)、29、31、33℃の4段階に調節した飼育水槽内で 10 日間(2010 年7月31日~8月10日)飼育した。光量 180 µmol m⁻² s⁻¹。

2.1.1.3 低塩分環境でのコユビミドリイシ幼サンゴ飼育実験(低塩分環境実験)

コユビミドリイシを対象種として、幼生を変態誘引して得られた幼サンゴを、それぞ れ塩分 34 (参照区)、32、30、28、26 の 5 段階に調節した海水中で 10 日間 (2010 年 7月 30 日~8月 9 日) 飼育した。光量 60 μmol m⁻² s⁻¹。

- 2.1.2 コユビミドリイシ幼サンゴの作成
 - 2.1.2.1 酸性化海水実験

コユビミドリイシは雌雄同体であり、産卵の際には精子と卵がつまったカプセル(バ ンドル)を放出する。同群体内の精子と卵は受精しないため、異なる群体から得られ た精子と卵を用いて受精させる必要がある。本実験では 2010 年 5 月 29 日に産卵した 2 群体からバンドルを採取し、採取したバンドル全てを掛け合わせて受精させ、48 時間後 に幼生を得た(Fig.1-f)。幼生は実験開始日まで閉鎖水槽内で飼育を行い、1 日に 1 回海水 の交換を行った。6 月 11 日に変態誘因物質を用いて変態誘導を行った。変態誘因物質は ペプチド Hym-248 (Iwao, 2002)を滅菌海水 (<0.22 µm、ミリポアフィルター (Millipore 社)で濾過)に溶かし、濃度 2×10⁻⁴M に調節して用いた。酸性化実験では 6 穴プレート を 8 プレート作成し、1 穴に幼生が 10 から 15 個体が着底するように変態誘導を行った

(Fig.1-b)。着底を確認した後、6月15日に4プレートにヒメジャコガイ(*Tridacna crocea*) から単離した褐虫藻 (Fig.1-e、 4×10^5 cell/ml、6 穴プレートの1 穴に2 ml ずつ)を加え、 これら4プレートを褐虫藻感染グループ(Fig.1-c)とし、残りの4プレートに関しては上記 の操作を行わず褐虫藻非感染グループ(Fig.1-d)とした。その後、各 *p*CO₂処理区内の実験 水槽に設置し、実験を開始した。

2.1.2.1 低塩分環境、高水温環境実験

2010年7月6日に産卵した4群体からバンドルを採取した。先述の酸性化海水実 験と同様の手順で18プレートを作成し、9プレートを褐虫藻感染グループとし、残りの9 プレートを褐虫藻非感染グループとした。7月30日に褐虫藻感染プレートの内5プレー ト、褐虫藻非感染プレートの内5プレートに各塩分に調節した海水を添加し、低塩分環境 実験を開始した。また7月31日に褐虫藻感染プレートの4プレート、褐虫藻非感染プレ ートの4プレートを各水温処理区内の実験水槽に設置し、高水温環境実験を開始した。

2.1.3. 飼育実験装置の概要

本研究では以下の方法、制御装置を用いて各実験の条件を調節した。

2.1.3.1 酸性化海水実験

酸性化海水実験では、精密 pCO2制御装置を用いて各水槽の pCO2を調整した。精密 pCO₂制御装置(AICAL装置)(Fig.2-a)は二酸化炭素ガスの供給によって海水の二酸化 炭素分圧を調節し、その誤差を数十 ppm 以下で精密に制御できる装置(紀本電子工業(株)) である。本実験では産業革命以前から今世紀末に予測されている pCO2 値である 300、 400(参照区)、800、1000 ppm の4段階に設定した。AICAL 装置に送り込まれた海水は、 二酸化炭素ガスの添加によって設定した各 pCO2 値に調節され、気液平衡に達した後に、 ベリスタポンプによって流量毎分 150ml のかけ流しで、飼育水槽(12L、GEX 製マリー ナガラス水槽 S: 315×185×244 mm) に供給した。飼育実験期間中、1時間毎に装置内で 調節された海水の pCO2 値を自動的に記録した。また、褐虫藻感染グループのプレートか ら褐虫藻非感染グループへの褐虫藻感染を防ぐために、各設定 pCO2 区内で2 つの飼育水 槽を用意し、それぞれ異なる水槽内で実験を行った。飼育水槽の水温は沖縄の夏期平均水 温に近い 27℃に設定した。水槽内にデジタルサーモスタット (POWER THERMO ET-30B、コトブキ(株))を設置し、設定水温よりも低くなった場合にヒーター(MICRO SAFE POWER-HEATER 150、(株) EVERS) が作動するように設定した。また、各飼 育水槽は大型浴槽内に設置し、クーラー(ZENSUI、NISSO)によって冷却水を循環させ、 外側からの冷却を行った。各水槽には水温ロガー(サーモクロン SL、KN ラボラトリー ズ)を設置し、30分毎に水槽内の水温を記録した。各水槽内の水温を一定にし、サンゴ の健康状態を維持するために適度な水流が必要であるため(Nakamura et al., 2005)、水

中フィルターポンプ(MINI BOX 120、コトブキ(株))を入れ、海水を循環させた。

2.1.3.2 低塩分環境実験

低塩分環境実験では、実験開始前に塩分 34(参照区)、32、30、28、26 の塩分の海水を 2L ずつ調製した。これらの海水を各設定塩分プレート内の1穴に 10ml ずつ入れ、実験 を開始した(Fig.2-c)。その後は1日に1回、海水を交換した。交換した海水は毎日スクリ ユー管に保存し、実験終了後に産業技術総合研究所で塩分測定器を用いて実験期間中の塩 分の変動を確認した。また、各飼育6穴プレートは実験室内のエアコンの温度を 27℃に 設定し、実験期間中はこれにより外部からの冷却を行った。

2.1.3.3 高水温環境実験

高水温環境実験では、ペリスタポンプ(MASTER FLEX, Cole-Parmer Instrument Company)を用いて流量毎分 200 ml のかけ流しで、各飼育水槽へ海水を供給した。 飼育水槽は酸性化環境実験と同様に、褐虫藻感染、非感染グループ毎に飼育水槽を分け、 実験を行った。各飼育水槽は大型浴槽内に設置し、クーラー(ZENSUI、NISSO)によっ て冷却水を循環させ、外側からの冷却を行った(Fig.2-d)。設定温度 27℃(参照区)、29℃ の飼育水槽が入った浴槽内には 24℃の冷却水を、31℃と 33℃の設定区の水槽が入った浴 槽内には 29℃の冷却水を循環させ、外部からの冷却を行った。水温は各水槽内にデジタ ルサーモスタット(POWER THERMO ET-30B、コトブキ(株))を設置し、設定水温よ りも低くなった場合にヒーター(MICRO SAFE POWER-HEATER 150、(株) EVERS) が作動するように設定した。各水槽には水温ロガー(サーモクロン SL、KN ラボラトリ ーズ)を設置し、30 分毎に水槽内の水温を記録した。また、水銀温度計を用いて 1 日 2 回飼育水槽内水温の確認を行った。酸性化海水実験と同様に水中フィルターポンプ (MINI BOX 120、コトブキ(株))を入れ、海水を循環させた。

2.1.4 その他の実験条件と設定方法

2.1.4.1 海水

瀬底研究施設前から採水した生海水を孔経 10 µm と 1 µm のフィルター(ポリプロ ピレン製、オルガノ(株))で濾過し、各実験に使用した。

2.1.4.2 光量

光量はメタルハイドロランプ(FUNNEL 2 150W、カミハタ)を使用した。照射時間は12時間毎の明暗周期(午前7時から午後7時まで点灯)とした。実験期間中に 光量子計を用いて測定を行い、設定光量の確認を行った。 2.1.4.3 pH

週に2回、簡易pH計(713pH meter、Metrohm)で飼育水槽の海水と濾過後の海 水のpHを測定した。測定の際には毎回、NBS scale と標準溶液と Seawater scal 標準 溶液のTris、AMP(Dickson et al., 2007)を用いて電極の較正を行い、pH は Seawater scale で算出した。

2.1.4.4 全アルカリ度 (TA)

本実験期間中に使用した海水の原海水、及び塩分実験で用いた各塩分に調整した海水は それぞれ 100 ml バイアルに分取し、HgCl₂飽和溶液 200 µl を添加して生物の影響を取り 除いた上で常温保存した。アルカリ度の分析には自動滴定装置(ABU91, Radiometer)を 用いて、Dickson et al.(2007)の方法に準じた。すなわち、海水試料約 40ml の重量を秤量 し、25℃の恒温槽において、0.1M 塩酸(HCl)溶液(イオン強度調節のために塩化ナト リウムを添加して、0.7M NaCl とした)により、0.25 ml をプリドーズした後に 0.1 ml 単位で滴定を行った。一連の測定は解放系で行い、終点の計算はグランプロッット法 (Gran,1952)を用いた。また、測定開始前に株式会社環境総合テクノス製の全炭酸参照物 質を用いて、塩酸溶液の標定を行った。

2.1.4.5 炭酸系計算

炭酸系の計算には海水炭酸系コンピュータプログラム CO2SYS(Lewis and Wallace, 1998)を用いた。これは測定した pH、全アルカリ度、全炭酸、 pCO_2 の4パラメータのうち2つと水温・塩分から炭酸塩の飽和度を算出することができるプログラムである。酸性化海水実験では pCO_2 と全アルカリ度から、低塩分環境実験および高水温環境実験では pH と全アルカリ度からそれぞれ $\Omega_{aragonite}$ を計算した。

2.1.5 骨格成長量の評価

サンゴポリプの骨格成長量は実験期間中に2日毎に撮影した写真を元に骨格面積を算 出し、指標とした。各プレートから20個体ずつを選出し、実験開始から2日毎に光学顕 微鏡(SZH10, OLYMPUS)にデジタルカメラ(C-3030ZOOM CAMEDIA, OLYMPUS) を取り付け、写真を撮影した。その後画像処理ソフトウェア Image-J 1.38 (National Institutes of Health, Bethesda, MD)を用いて、各ポリプの骨格面積を測定した。

2.1.6 統計解析

統計解析は、統計解析ソフトウェア JMP8.1.2(SAS Institute Japan(株))を用いた。

2.2.1 酸性化海水実験

酸性化海水実験では300、400、800 ppmのpCO₂において、褐虫藻の有無によって骨格 面積に差が見られた(Fig. 3, Table2)。褐虫藻感染グループでは、1000 ppmで飼育した幼 サンゴの骨格成長量は300 ppmで飼育された幼サンゴの骨格成長量と比較して有意な減 少が見られた(one-way ANOVA, *F*3,64 = 3.93, p < 0.05, *post hoc* Tukey-HSD test)。一方 で褐虫藻非感染グループでは各条件間で有意な差は見らなれかった。

2.2.2 高水温環境実験

高水温環境実験では、27℃および33℃において褐虫藻の有無によって骨格成長量に差が見 られた(Fig. 4, Table2)。褐虫藻感染グループでは33℃で飼育したポリプの骨格成長量は27, 29, 31℃で飼育したポリプの骨格成長量と比較して有意な減少が見られた(one-way ANOVA, F3,79 = 16.05, p < 0.05, post hoc Tukey-HSD test)。一方で褐虫藻非感染グループでは各条 件間で有意な差は見られなかった。33℃のサンゴポリプは実験終了時には、 褐虫藻の感染に 関わらず全ての個体が死亡しており、褐虫藻感染グループでは全ての個体で白化も認められ た。

2.2.3 低塩分環境実験

低塩分環境実験では、塩分34, 32, 28, 26の条件において褐虫藻の有無によって成長量 に有意な差が見られた (Fig. 5, Table2)。褐虫藻感染グループでは塩分26で飼育した幼サ ンゴは34, 32で飼育した幼サンゴと比較して骨格成長量に有意な減少が見られた (one-way ANOVA, F4,99 = 2.95, p < 0.05, post hoc Tukey-HSD test)。また、褐虫藻 非感染グループでは塩分26で飼育した幼サンゴは32, 30で飼育した幼サンゴと比較して 骨格成長量に有意な減少が見られた(one-way ANOVA, F4,99 = 6.17, p < 0.05, post hoc Tukey-HSD test)。 全体の傾向として、低塩分になるほど骨格の成長量は減少する傾向 が見られた。

各実験における結果は、分散分析による統計処理を行い、それぞれの結果を比較して有為 な差が見られるかを判定した。統計の結果はTable3に示す。

2.3.1 褐虫藻が幼サンゴの初期骨格成長に与える影響

本研究では、低塩分環境、高水温環境、海洋酸性化環境のいずれの条件においても、 褐虫藻感染幼サンゴと褐虫藻非感染幼サンゴとの間に骨格成長量の差が見られた。これ らは、先行研究で報告されてきたように褐虫藻が幼サンゴの初期骨格成長に正の影響を 与えていることが本飼育実験によっても明らかとなった。

2.3.2 高水温及び低塩分の環境が幼サンゴの初期骨格成長に与える影響

高水温環境実験では、褐虫藻非感染グループでは各条件間で骨格成長量に有意な差は 見られなかったが、褐虫藻感染グループでは最も水温の高い33 ℃において顕著な骨格成 長量の減少が見られた。この理由として、褐虫藻の働きによって体内に活性酸素が蓄積 することにより引き起こされる酸化ストレスが発生している可能性が考えられ、水温 31℃以上ではサンゴ本体が共生藻によって酸化ストレスを受けるといった報告とも整合 的である(Nesa and Hidaka, 2009; Yakovleva et al., 2009)。

低塩分環境実験では、褐虫藻の感染に関わらず、塩分が低下するほど骨格成長量が減 少する傾向が見られた。先行研究では低塩分環境への曝露がサンゴの光合成量を低下さ せているという報告もあり(Moberg et al, 1997)、幼サンゴの骨格成長量減少は褐虫藻の 光合成量減少に起因している可能性が示唆される。また、今回実験に用いた海水のあら れ石飽和度($\Omega_{aragonite}$)は塩分の低下に伴って減少しているため(Table1-C)、飼育環境中 の $\Omega_{aragonite}$ の低下が骨格成長量の低下に繋がった可能性も考えられる。自然界では雨期に 降雨量が増大し、陸水の流入が強化されることによって塩分低下が起きており

(Menasveta and Hongskul., 1988)、今後環境変動によって降水量が増大した場合に、 サンゴの骨格成長に負の影響を与える可能性が示唆される。

2.3.3 酸性化海水が幼サンゴの初期骨格成長に与える影響

産業革命以前から今世紀末に予測されている海洋表層の pCO2範囲(300~1000 µatm) で行われた本実験だが、褐虫藻の有無によって幼サンゴの応答が異なった。褐虫藻非感 染グループでは各 pCO2条件間で骨格成長量に有意な差は見られなかったが、褐虫藻感染 グループでは 1000 µatm において顕著な減少が見られた。また、1000 µatm では褐虫藻 の有無によって骨格面積で統計的に有意な差が見られず、1000 µatm の環境下では褐虫 藻が幼サンゴの骨格成長に与える影響が減少している可能性が示唆される。これらの結 果は今世紀末に予測される海洋酸性化によってサンゴの成長に負の影響が及ぶことを示 している。

幼サンゴやサンゴの初期生活史に対する海洋酸性化の影響は、これまでにもいくつか

報告が出されている。Albright et al. (2008)はカリブ海のハマサンゴ属である Porites astreoides の幼生を酸性化海水中で飼育し着底及び着底後の動態を観察し、Ω_{aragonite}の低下に伴って着底後の骨格成長率が減少することを報告した。着底をはじめとするサンゴの初期生活史は周囲の環境影響を最も受けやすく個体群の維持という観点でも重要な時期に当たり、更なる影響の評価が必要である。

3. 翼足類に対する海洋酸性化の影響評価

3.1 材料と方法

3.1.1 沖縄県西方沖海域における炭酸系の測定

本研究では対象周辺海域の炭酸系について理解を深めるため、独立行政法人産業技術総合研究所(産総研)が2009年7月16日から8月13日まで行った沖縄県西方沖海域調査(以下GH09航海)で採取された表層水及び底層水合計24 サンプルの全アルカリ度を分析した(Fig. 6)。採取された海水は100 mlバイアル瓶に分取し、飽和塩化第二水銀(HgCl₂)溶液200 μlを添加して密封し、実験室へと持ち帰った。全アルカリ度の分析手法は先述の2.1.4.4と同様である。その後、CO2SYSを用いてΩ_{aragonite}、Ω_{calcite}を算出した。計算には全アルカリ度とGH09航海で計測されたpH(SWS)、水温、塩分を用いた。

3.1.2 堆積物中の翼足類遺骸群集

本研究では、産総研が2009年7月28日から8月29日まで行った沖縄県周辺海域調査の GH08航海及びGH09航海で採取された24地点(Fig. 7)の表層堆積物試料を用いて、翼足 類の種構成を明らかにした。表層堆積物は木下式グラブ採泥器(K-grab)によって採取さ れ、その後産総研において篩によってφサイズ -2.25から4.00まで0.25間隔で分別された。 遺骸群集の解析はに光学顕微鏡を用い、各地点で産出する翼足類の種同定および産出個体数 の計測を行った。

3.1.3 プラントンネットによる現生翼足類の採取

本研究では海洋表層における現生の翼足類の種構成を調べるために、瀬底研究施設の協力 のもと2009年及び2010年に7回の船上採取を行った(Fig. 8, Table. 6)。中原式中層プラン クトンネット(口径30 cm,目合100µm、離合社(株))を用いて表層15 mから45 mまでを 約10分間曳航することで採取した試料を採取した。採取されたプランクトンは船上で500 mlポリ容器の中に移し替え、容器内は海水で満たし、クーラーバッグ内の暗所に保管し、 瀬底研究施設の実験室まで持ち帰った。実験室では光学顕微鏡を用いて、採取したプランク トン群集の中から翼足類のみを単離し、種同定を行った。単離した翼足類は精密CO2調整飼 育装置内(Fig. 9)に投入して27℃、pCO2 400 µatmの海水中で養生させた。また、殻の炭 素酸素同位体比分析に用いる試料は、エタノール(99.5%, Wako(株))の入ったエッペンド ルフチューブ中に保存し、産総研へと持ち帰った。

3.1.4 翼足類殻の酸素炭素同位体比分析

翼足類殻の酸素炭素同位体比分析は産業技術総合研究所において、質量分析計 (Micromass ISOPRIME, Manchester, UK)を用いて行った。分析対象とした試料は、プ ランクトンネットによって採取された*Creseis acicula*(ウキツノガイ)5個体、表層堆積物試 料から単離した、*Clio pyramidata*、*Cavolinia longirostris*、*Creseis acicula*、*Creseis virgula*、 *Hyalocylis striata*、の5種をそれぞれ5個体ずつの合計30試料である。表層堆積物から単離 した試料に関しては、超音波洗浄及び光学顕微鏡での観察を行い、他の堆積物が付着してい ないか確認を行った上で分析に用いた。試料の精製及び分析手法はIshimura et al.(2008) を元に改良された手順に従った。また、炭酸塩骨格中に見られる酸素同位体(δ¹⁸O)は、 骨格形成時の周囲の水温および海水の酸素同位体組成によって決定される。本研究では GH08、09、10航海でCTDによって採取された水温データと、沖縄周辺海域の酸素同位体 平衡値を計算に用いた。δ¹⁸OwはGH09における実測値を平均した0.035(‰VSMOW)とし て、Kim and O'Neil. (2007)の式を用いて計算を行った

(式5)。

$1000 \ln \alpha_{aragonite-water} = 17.88 \pm 0.13 (10^3/T) \cdot 31.14 \pm 0.46$ (式5)

上記式により沖縄県周辺海域の酸素同位体平衡値を算出し、採取された翼足類が殻を形成していた深度の推定を試みた。

3.1.5 翼足類 Creseis aciculaの酸性化海水曝露実験

酸性化海水への曝露実験は、2010年11月2日から4日(以後第1期と呼ぶ)、及び11月 6日から8日(以後第2期と呼ぶ)の2回行った。海水のpCO₂調整にはサンゴポリプ実験 と同様に、AICAL装置を用いた。プランクトンネットによって採取された翼足類 Creseis aciculaを実体顕微鏡下で単離した後、第1期では400,1000 µatmの2段階に調節した海 水中に、第2期では400、1000、2000 µatmの3段階に調節した海水中に曝露し、経過時 間毎の生存率を算出した。翼足類は飼育装置の中で飼育した。この飼育装置は、独立行政法 人水産総合研究センター中央水産研究所で開発された、軟体動物幼生用の飼育装置を改良し たものである。塩化ビニルパイプの側面及び底部に孔をあけ、目合100µmのメッシュを張 ることで、水の循環を可能とした縦長の飼育装置であり、翼足類の鉛直移動を妨げない構造 となっている(Fig. 9)。実験終了後に、曝露した翼足類個体を99.5%エタノールの入ったエ ッペンドルフチューブ内に入れて保存した。その後産総研において電子顕微鏡(JEOL 6390) を用いて翼足類殻の表面構造を観察し、酸性化海水が殻構造に与えた影響を考察した。 3.2 結果

3.2.1 沖縄周辺海域の炭酸系

本研究では表層水1試料、底層水23試料について全アルカリ度分析を行った(Table. 4)。 その結果、沖縄県周辺海域のQaragoniteは表層で約3.4 、その後深度を増すごとに減少し、 約750 m付近で1を下回ることが分かった。

3.2.2 沖縄本島周辺の海底堆積物から産出する翼足類遺骸群集

3.2.2.1 遺骸群集の構成種

本研究で用いた24地点からの堆積物試料の内、翼足類が産出した表層堆積物は10地 点であった(Table. 5)。遺骸群集の構成種は、Creseis acicula 、Creseis virgula、styliola subula、Daicria quadridentata、Clio pyramidata、Hyalocylis striata、Cavolinia globurosa、Cavolinia longirostris、Cavolinia columnella、Diacria trispinosa、Diacria maculata、Cavolinia inflexa、の1科8属12種(Fig. 12a~l)であった。

3.2.2.2 地点ごとの産出種および産出個体数

翼足類の産出した10地点のうち7地点に関して種ごとの産出個体数を計測(Table.7)。 その結果沖縄県周辺海域では、*Clio pyramidata、Styliola subula、Cavolinia longirostris*の3種が多産することが分かった。また,GS 1およびGS 2のように大量の翼 足類が産出した地点の表層堆積物は比較的多くの種によって構成されていたが、産出 数の少ない地点は遺骸群集の構成種も少ない傾向が見られた。

3.2.3 プラントンネットによる現生翼足類の採取

プランクトンネットによって採取された種は、Creseis acicula、 Creseis virgula、 Diacria quadridentata の3種であった。(Table. 6)。8月から11月にかけて採取を行った が、時期によって採取個体数に大きな差がみられた。8月から10月にかけては水深15mか ら45mにかけて、いずれの深度でも少数の翼足類しか採取されなかった。この傾向は実 験的に採取を試みた水深100mであっても同様であった。一方で11月は表層50 m以浅にお いてCreseisi aciculaが大量に採取された。7回の採取はいずれも瀬底研究施設周辺で行わ れたが、採取地点による翼足類の偏りはみられなかった。また、15m, 30m, 45m, 03段 階の深度で採取を行ったが、Creseis virgula、Diacria quadridentataの2種はいずれの深 度でも採取個体数に大きな差が見られなかった。一方で、Creseis aciculaに関しては、最 も表層に近い水深15mで最も多く採取された。

3.2.4 翼足類殻の酸素炭素同位体比分析

翼足類殻の酸素同位体比($\delta^{18}O$)及び炭素同位体比($\delta^{13}C$)の測定は翼足類種に関して5 個体ずつ測定を行った。プランクトンネットによって採取された、*C.acicula*の殻の $\delta^{18}O$ は夏期(8月)に採取された個体が -1.75 ± 0.1 ‰(平均値 ± 標準誤差)、 $\delta^{13}C$ は、-0.08 ± 0.1 ‰であった。また、秋期(11月)に採取された個体は $\delta^{18}O = -1.12 \pm 0.06$ ‰、 $\delta^{13}C$ $= -0.08 \pm 0.1$ ‰であった。海底堆積物から産出した*C.acicula*の殻は $\delta^{18}O = -0.81 \pm$ 0.08‰、 $\delta^{13}C = 1.09 \pm 0.17$ ‰であった。海底堆積物から産出したその他の翼足類4種の $\delta^{18}O$ はそれぞれ、 -0.08 ± 0.02 ‰ (*Clio pyramidata*)、 -1.16 ± 0.4 ‰ (*C.virgula*)、 -0.68 ± 0.22 ‰ (*Hyalocylis striata*)、 -0.96 ± 0.2 ‰ (*Cavolinia longirostris*)であ った。また、炭素同位体比はそれぞれ1.88 ± 0.11 ‰ (*Clio pyramidata*)、 0.9 ± 0.29 ‰ (*C.virgula*)、 1.67 ± 0.29 ‰ (*Hyalocylis striata*)、 1.39 ± 0.12 ‰ (*Cavolinia longirostris*) であった (Fig. 14,15、Table. 8)。

3.2.5 翼足類 Crese is aciculaの酸性化海水曝露実験

実験開始時には、どの pCO_2 条件においても投入された *C. acicula* は活発な活動を見せて いた。時間の経過とともに生存個体数は減少し、実験開始から 48 時間後に *C. acicula* が生 存していたのは pCO_2 が最も低い 400 μ atm だけであった。

また、電子顕微鏡で各 pCO_2 条件において飼育した *C. acicula* の殻構造を観察したところ、 1000、2000 μ atm では、400 μ atm で観察されなかった殻表面の凹凸構造や、成長線部の溶 解が確認された。またこの溶解の痕跡は 1000 μ atm よりも 2000 μ atm の方が顕著に確認さ れた(Fig.16,17)。

3.3 考察

3.3.1 沖縄県周辺海域の炭酸系及び翼足類の遺骸群集

全アルカリ度分析の結果から沖縄県周辺海域ではあられ石飽和度が不飽和(Ωaragonite < 1) となるのは水深約 750m 付近であることが分かった。今回分析を行った表層堆積物試料の中 で、水深 750m よりも深い地点から採取されたものからは翼足類遺骸は産出しなかったが、 産総研 GH09 航海報告書(塚本・松田)でも表層堆積物中のあられ石含有量が深度とともに 減少する傾向が見られ、水深約 800m 以深では0%という結果が報告されており、今回の分 析結果と整合的である。

また、GS1(採取深度 703m)から産出した翼足類殻を電子顕微鏡で観察したところ、表面の構造に酸性化海水に海水に曝露した翼足類殻に見られるものと酷似した溶解の痕跡が見られた(Fig. 18)。このことから、水深 750m よりも浅い場所に堆積している表層堆積物中の翼足類殻も溶解の影響を受けている可能性が示唆される。加えて表層堆積物から産出した翼足類遺骸は堆積の影響による殻構造の破損も見られるため、酸性化実験にはプランクトンネット採取によって均一な条件の殻を揃える必要がある。

表層堆積物から産出した翼足類は 12 種であったが、そのうち、styliola subula、Cavolinia longirostris、Clio pyramidataの3種はどの地点の表層堆積物中からも産出し、産出個体 数も多かった。一方で Hyalocylis striata や Diacria maculata は産出数の多い地点から数個 体ずつが産出するのみであった。表層堆積物中の翼足類遺骸群集の解析は、南太平洋で先行 研究が行われているが、H. striataの設は堆積物中から断片化した状態で産出することが多 く、胎殻を残したまま産出することは非常に少ないとの報告がある(Greene et al., 1994)。 今回表層堆積物中からは少数の H.striata が産出したが、その多くは胎殻を残した保存状態 の良好なものであった。これらの違いは海域における堆積速度や海底環境の違いによるもの と考えられる。また、他の海域では破損してしまうような脆弱な遺骸の保存状態が良いとい うことは、堆積後の続成作用の少ない環境であると考えられ、表層堆積物はこの海域におけ る翼足類構成種をよく反映していると考えられる。

3.3.2 翼足類殻の酸素炭素同位体比組成から推定する生息深度

沖縄周辺海域では表層 50m 以浅において、酸素同位体平衡値(δ^{18} Ow)の明瞭な季節変化 が見られた。夏期(8月)における表層の δ^{18} Owは -2.31 ± 0.01 ‰(Mean ± SE)であり、水 深が深まるにつれて重くなる傾向が見られた。また、秋期(11月)では表層での水温も低く、 鉛直混合が進んでいたため水深 75m までは -1.53 ± 0.01 ‰でほぼ一定であった。今回ネット 採取試料として用いた *C. acicula* は夏期および秋期に水深 15m~45m で採取された個体を 分析した。これらの δ^{18} O はいずれも採取時期の表層の海水の δ^{18} Owによく一致していた。

翼足類は鉛直運動をすることが知られており、殻の δ^{18} O は翼足類が殻を形成する平均水 深の δ^{18} O wを反映していると考えられる。表層堆積物試料から産出した4種に関しても同様 に殻の δ^{18} O から生息水深の推定を行った(Fig. 14)。その結果、各翼足類の平均生息深度は、 *Clio pyramidata* が水深 250m から 270m、*Hyalocylis striata* は 130m から 160m、*Creseis acicula* が 120m から 140m、 *Cavolinia longirostris* が 100m、*Creseis virgula* が 80m で あった。*Creseis acicula* と *Creseis virgula* は今回のプランクトンネットによるサンプリン グでも採取されており、これらの結果と整合的である。*C. acicula* の殻の δ^{18} O はネットで採 取したものと表層堆積物で異なっているが、表層堆積物から得られた結果は、冬期の表層水 温と良く一致しており、今回分析した表層堆積物の δ^{18} O は冬期の表層水温を反映している 可能性がある。また、殻の δ^{13} C は GH09 航海で観測された各水深の炭素同位体比との比較 を行ったが、相関は見られなかった(Fig. 15)。この結果は、翼足類殻の炭素同位体比は、 周辺海水の炭素同位体比よりも、その他の要因(呼吸、食性等)からの影響を強く受けてい る可能性を示唆している。

ネットサンプリングの結果と合わせて考えると、*C. acicula* と *C.virgula* は鉛直移動によって極表層まで生息範囲を広げていると考えられ、*Clio pyramidata* や *Hyalocylis striata* といった比較的深い水深に生息する種と比較しても、先に海洋酸性化の影響を受けやすいことが示唆される。

3.3.3 酸性化海水に対する生残率と殻の溶解

酸性化海水曝露実験では2回とも *p*CO₂が低い方の生存率が上昇する傾向が見られた。特 に2回目に実験において、参照区である400 µatm に対して2000 µatm での生存率は顕著 な差が見られた(Table.9)。これらの結果は酸性化海水が生体翼足類へ負の影響を与えてい ることを示唆している。

翼足類に対する海洋酸性化の影響評価として Orr 等の研究(Orr et al., 2005)では Clio pyramidata を対象に実験が行われており、48 時間の酸性化海水(800ppm)曝露後も生存率 は 100%であった。また、Comeau et al.(2009)でも Limacina helicina を酸性化海水(pH 7.8) 中で 5 日間飼育して殻成長量の減少を確認したが、実験終了後の生存率は 100%であった。 本実験において、先行研究と比較して短時間で Creseis acicula が死亡した原因として、採 取後の環境による負荷が Creseis acicula に影響を与えていた可能性が考えられる。前述の 2 つの先行研究ではいずれもプランクトンネットによる採取後、直ちに大型水槽へと移され、 養生期間をおいてストレスが軽減されてから実験が開始された。本実験では、プランクトン ネットによる採取後は、ボトル内に他のプランクトンと一緒に保管し、実験室まで持ち帰っ た。この際にボトル内の酸素が急速に消費され貧酸素環境となったことで、翼足類へのスト レスがかかった可能性が考えられる。しかし、実験開始時には飼育水槽内で活発に活動して いる個体を選別したため、各条件に用いた翼足類の状態に大きな差はなかったものと考えら れる。

電子顕微鏡による表面の観察では、各条件間で顕著な差が観察された(Fig. 16,17)。現在の 海水の *p*CO₂である 400 µatm に対して、1000、2000 µatm では殻表面に凹凸状の溶解の痕 跡が見られた。また、殻中央部の表面では成長線に沿って溶解が進んでいる様子が観察され た。一方で Orr らが報告したような殻の縁辺部におけるささくれ状や穴状の溶解の痕跡は見 られなかった (Orr et al., 2005)。これらの結果は、種によって殻の構造上脆弱な部分が異 なり、そこから溶解が進行する可能性を示唆している。*Creseis acicula* に対する海洋酸性化 の影響評価は本研究が初めてであるが、種によって殻への影響の度合いが異なる可能性が示 唆された。

4. 結論

本研究では近未来に予測される海洋酸性化が、翼足類および造礁サンゴ類に与える影響の評価を行うことを目的とした。造礁サンゴ類の Acropora digitifera(コユビミドリイシ)幼生と翼 足類の Creseis acicula(ウキヅノガイ)を対象種として、異なる海水の pCO2環境を設定し、環 境要因を制御した室内飼育実験を行った。幼サンゴに対する実験では高水温環境および低塩分 環境に関しても実験を行った。いずれの実験においても pCO2をはじめとする各種環境要因は 安定しており、精密に制御された環境下で実験を行うことができた。

サンゴの環境変動に対する応答として、高水環境温実験では 33℃の褐虫藻感染グループで 骨格成長面積の著しい減少が見られた。また、低塩分環境では全体的に塩分の低下に伴って骨 格成長面積が低下する傾向が見られた。酸性化海水実験では褐虫藻非感染グループでは条件間 で骨格成長面積に有為な差は見られなかったが、感染グループでは 1000 µatm では骨格成長 面積が減少した。この結果は近未来の海洋酸性化環境で幼サンゴの骨格成長が負の影響を受け ることを示した。

翼足類では、400μatm(参照区)の条件で飼育した個体は、1000、2000μatm の条件で飼育 した個体よりも生存期間が長くなる傾向が見られた。また、電子顕微鏡で殻表面を観察すると、 2000μatm で飼育した個体の表面には凹凸構造や成長線に沿った溶解の痕跡が見られた。これ らの痕跡は 400μatm で飼育した個体では見られなかった。また、先行研究とで報告とは異な る部位の溶解が見られ、種の殻構造によって海洋酸性化の影響を受ける部位が異なる可能性が 示された。

- Albright, R., Mason, B. and Langdon, Chris. (2008): Seawater carbonate chemistry, larval settlement and growth rate during experiments with coral Porites astreoides larvae. Coral Reefs ,27, 485–490
- Caldeira, K. and Wickett, M.E.(2003): Anthropogenic carbon and ocean pH. Nature, 425, 365
- 千原光雄・村野正昭 (1997): 日本産海洋プランクトン検索図説 = An illustrated guide to marine plankton in Japan. 東海大学出版会, 東京, 572-597
- Comeau, S., Gorsky, G., Jeffree, R., Teyssi'e, J.L., and Gattuso, J.P. (2009): Impact of ocean acidification on a key Arctic pelagic mollusk (*Limacina helicina*). Biogeosciences, 6, 1877–1882
- Dickson, A.G., Sabine, C.L. and Christian, J.R. (Eds.) 2007. Guide to best practices for ocean CO2 measurements. PICES Special Publication, 3, 191
- Gangstø, R., Gehlen, M., Schneider, B., Bopp, L., Aumont, O. (2008): Modeling the marine aragonite cycle: changes under rising carbon dioxide and its role in shallow water CaCO₃ dissolution. Biogeosciences, 5, 1057–1072
- Gran, G. (1952): Determination of the equivalence point in potentiometric titrations—Part II. Analyst, 77, 661-671
- Greene, H.G., Collot, J.Y., Stokking, L.B., Glaçon, G., Rampal, J., Gaspard, D., THEIR REMAINS IN LATE QUATERNARY DEPOSITS ON THE BOUGAINVILLE GUYOT AND THE CENTRAL NEW HEBRIDES ISLAND ARC. Proceedings of the Ocean Drilling Program, Scientific Results, Vol. 134
- Hoegh-Guldberg, O., Mumby, P. J., Hooten, A.J., Steneck, R.S., Greenfield, P., Gomez, E., Harvell, C.D., Sale, P.F., Edwards, A.J., Caldeira, K., Knowlton, N., Eakin, C.M., Iglesias-Prieto, R., Muthiga, N., Bradbury, R. H., Dubi, A., Hatziolos, M. E.(2007): Coral Reefs Under Rapid ClimateChange and Ocean Acidification. Science, 318, 1737-1742
- Hunt, B.P.V., Pakhomov, E.A., Hosie, G.W., Siegel, V., Ward, P., and Bernard, K. (2008): Pteropods in Southern Ocean ecosystems. Prog. Oceanogr., 78, 193–221
- Intergorvernmental Panel on Climate Change (2007): Contribution of Working Groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, NewYork

- Ishimura, T., Tsunogai, U., Nakagawa, F. (2008): Grain-scale heterogeneity of the stable carbon and oxygen isotopic compositions in international standard calcite materials (NBS19, NBS18, IAEA-CO-1, and IAEA-CO-8). Rapid Communications in Mass Spectrometry, 22, 1925–1932.
- Iwao, K., Fujisawa, T., Hatta, M. (2002): A cnidarian neuropeptide of the GLWamide family induces metamorphosis of reef-building corals in the genus Acropora. Coral reefs, 21, 127–129
- Karnovsky, N.J., Hobson, K.A., Iverson, S., and Hunt Jr.G.L. (2008): Seasonal changes in diets of seabirds in the NorthWater Polynya : a multiple-indicator approach. Mar. Ecol. Prog. Ser., 357, 291–299
- Kim, S.T., O'Neil, J., Hillaire-Marcel, R.C., Mucci, Alfonso. (2007): Oxygen isotope fractionation between synthetic aragonite and water: Influence of temperature and Mg²⁺ concentration. Geochimica et Cosmochimica Acta, 71, 4704–4715
- Kleypas, J.A., Buddemeier, R.W., Archer, D., Gattuso, J.P., Langdon, C., Opdyke, B.N. (1999): Geochemical consequence of increased atmospheric carbon dioxcide on coral reefs. Science, 284, 118-120
- Li, X., Huang, H., Lian, J., Huang, L., Dong, J. (2009): Effects of the multiple stressors high temperature and reduced salinity on the photosynthesis of the hermatypic coral *Galaxea fascicularis*. Acta Ecologica Sinica, 29, 155–159
- Moberg, F., Nyström, M., Kautsky, N., Tedengren, M., Jarayabhand, P. (1997): Effects of reduced salinity on the rates of photosynthesis and respiration in the hermatypic corals *Porites lutea* and *Pocillopora damicornis*. Mar. Ecol. Prog. Ser., 157, 53-59
- Morita, M., Suwa, R., Iguchi, A., Nakamura, M., Shimada, K., Sakai, K., and Suzuki, A. (2009): Ocean acidification reduces sperm flagellar motility in broadcast spawning reef invertebrates. Zygote, 18, 103–107
- Nakamura, T., van Woesik, R., Yamasaki, H. (2005): Photoinhibition of photosynthesis is reduced by water flow in the reef-building coral *Acropora digitifera*. Mar. Ecol.Prog. Ser., 301, 109–118
- Menasveta, D., Hongskul, V. (1988): The Gulf of Thailand. In: Postma, H. and J.J. Zijlstra editors. Ecosystems of the world, Vol 27, Continental shelves. Elsevier, Armsterdam, pp. 363-383.
- Nesa, B., Hidaka, M. (2009): High zooxanthella density shortens the survival time of coral cell aggregates under thermal stress. J.Exp.Mar.Biol.Ecol, 368,81-87
- Orr, J.C., Fabry, V.J., Aumont, O., Bopp, L., Doney, S.C., Feely, R.A., Gnanadesikan, Anand., Grube, N., Ishida, Akio., Joos, Fortunat., Key, Robert.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., and Yool, A. (2005): Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. Nature, 437, 618–686

- Raven, J., Calderia, K., Elderfield, H., Hoegh-Guldberg, O., Liss, P., Riebesell, U., Shephe rd, J., Turley, C., and Watson, A. (2005): Ocean acidification due to increasing atmospheric carbon dioxide. Policy Document 12/05, Royal society, London
- Ries, J.B., Cohen, A.L., McCorkle, D.C. (2009): Marine calcifiers exhibit mixed responses to CO₂-induced oceanacidification. GEOLOGY, 37, 12, 1131–1134
- Sabine, C. L., Feely, R.A., Gruber, N., Key, R.M., Lee, K., Bullister, J.L., Wanninkhof, R.
 Wong, C.S., Wallace, D.W.R., Tilbrook, B. Millero, F.J., Peng, T.H., Kozyr, A., Ono, T.,
 Rios, A.F. (2004): The Oceanic Sink for Anthropogenic CO₂. Science, 305, 367
- Spalding, M. D., Jarvis, G. E. (2002): The impact of the 1998 coral mortality on reef fish communities in the Seychelles. Mar. Poll. Bull, 44, 309–321
- Suwa, R., Nakamura, M., Morita, M., Shimada, K., Iguchi, A., Sakai, K., Suzuki, A. (2010): Effects of acidified seawater on early life stages of scleractinian corals (Genus Acropora). Fisheries Science, 76, 93–99
- Suzuki, A. and Kawahata, H. (2003): Carbon budget of coral reef systems: an overview of observations in fringing reefs, barrier reefsand atolls in the Indo-Pacific regions. Tellus, 55, 428–444
- 塚本裕樹・松田博貴(2010): GH09航海で採取された表層堆積物の炭酸塩含有量と炭酸塩鉱物
 組成(予察).「沖縄周辺海域の海洋地質学的研究」平成21年度研究概要報告書―沖縄
 西方海域―,産業技術総合研究所地質調査総合センター速報,51,93-102
- Yakovleva, I.M., Baird, A.H., Yamamoto, H.H., Bhagooli, R., Nonaka, M., Hidaka M. (2009): Algal symbionts increase oxidative damage and death in coral larvae at high temperatures. Mar. Ecol. Prog. Ser., 378, 105–112

6. 謝辞

本研究は、多くの方々からご協力御助言をいただき行うことができました

指導教員である川幡穂高教授には、快く研究室に迎えていただき、修士課程の2年間を通し て研究に私生活にと多くのご指導、ご助言をいただきました。この場をお借りして厚く御礼申 し上げます。井上麻夕里助教には、研究だけでなく日常生活での身の回りのサポート等幅広く お世話になりました。

独立行政法人産業技術総合研究所地質情報部門の鈴木淳研究員には、研究を行うにあたって 必要な知識や心構えを教えていただくとともに、すばらしい環境を整えていただきました。産 総研での研究生活のサポートから研究へのご指導まで色々とお世話いただいたことに深く感 謝いたします。石村豊穂博士には、同位体分析を始めとして、研究に関する多くのご指導とご 協力をいただきました。

琉球大学熱帯生物圏研究センター瀬底研究施設の皆様には3ヶ月に渡る長期滞在の中、暖か いご指導、ご協力をいただきました。

琉球大学熱帯生物圏研究センター瀬底研究施設長の酒井一彦教授には研究を行うにあたっ てより良い環境を整えていただいたことに心より感謝いたします。

井口亮博士には、実験計画のご指導から滞在中の生活面のサポートまできめ細やかなご配慮 をいただき、様々な相談にものっていただくなど大変お世話になりました。

中野義勝技官には翼足類のサンプリングを行うにあたって実習船の操縦から予定調整まで 様々な面で大変お世話になりました。

加藤亜記博士には、実験手法を丁寧にご指導頂き、多くのご助言をいただきました。中村崇 助教には研究でのご助言とともに私生活でも暖かい励ましをいただき、お世話になりました。 大木駿氏には翼足類サンプリングの際にご協力頂き、お世話になりました。実験測定等のサポ ートをしていただいた金城裕美さんに感謝いたします。

また同学年の荒岡大輔君、松倉誠也君を始めとして、海洋底科学部門のメンバーの方々には 公私ともに大変お世話になりました。修士課程の2年間を通して様々な相談に応じていただき、 充実した日々を過ごすことができましたことを深く感謝いたします。

最後に修士課程の学生生活を日々側で支えてくれた家族に心から感謝します。

7. 図表



(a)



(b)

(c)

(d)





(f)

Fig. 1 コユビミドリイシ Acropora digitifera
(a) 成体, (b) 6 穴プレート着底後のサンゴポリプ
(c) 褐虫藻感染サンゴポリプ (d)褐虫藻非感染サンゴポリプ
(e) シャコガイ褐虫藻 (f)成体サンゴから採取した卵・精子





(a)





(c)



(b)

- Fig.2 飼育実験装置
- (a) 精密 pCO2 制御装置(AICAL 装置)
- (b) 酸性化海水実験飼育水槽
- (c) 高水温環境飼育実験装置
- (d) 低塩分環境飼育実験装置

Table.1 各飼育実験における炭酸系パラメータ (平均値 ± 標準偏差)

(水温, pH は実測値、pCO2, HCO3⁻, CO3^{2⁻}, Ωaragonite は CO2SYS による計算値)

酸性化海水実験	飼育期間中	(10日間)	の炭酸系パラメータ

pCO_2	Temperature	$\mathrm{p}H_{\mathrm{sws}}$	HCO ₃ -	$\mathrm{CO}_{3^{2^{-}}}$	$\Omega_{ m aragonite}$
242 ± 13	26.9	8.18 ± 0.01	1577.2 ± 19.7	275.6 ± 7.9	4.4 ± 0.1
390 ± 21	27.2	8.03 ± 0.01	1742.5 ± 17.4	209.1 ± 7.0	3.4 ± 0.1
777 ± 9	27.2	7.81 ± 0.01	1937.9 ± 2.8	130.0 ± 1.1	2.1 ± 0.0
944 ± 13	27.3	7.74 ± 0.00	1981.9 ± 2.9	112.2 ± 1.2	1.8 ± 0.0
(µatm)	(°C)		(µmol/kgSW)	(µmol/kgSW)	

高水温環境実験 飼育期間中(10日間)の炭酸系パラメータ

Temperature	Salinity	$\mathrm{p}H_{\mathrm{sws}}$	HCO ₃ -	$\mathrm{CO}_3^{2^-}$	$\Omega_{ m aragonite}$
26.8 ± 0.3	34.54 ± 0.21	8.08 ± 0.01	1711.8 ± 0.1	231.7 ± 0.1	3.7 ± 0.0
29.0 ± 0.1	34.54 ± 0.21	8.09 ± 0.01	1711.0 ± 0.0	232.2 ± 0.0	3.8 ± 0.0
30.9 ± 0.1	34.54 ± 0.21	8.09 ± 0.01	1710.0 ± 0.0	232.6 ± 0.0	3.8 ± 0.0
33.1 ± 0.3	34.54 ± 0.21	8.08 ± 0.01	1710.0 ± 0.1	233.0 ± 0.0	3.9 ± 0.0
(°C)			(µmol/kgSW)	(µmol/kgSW)	

低塩分環境実験 飼育期間中(10日間)の炭酸系パラメータ

Temperature	Salinity	pH_sws	HCO ₃ -	$\mathrm{CO}_{3^{2^{-}}}$	$\Omega_{\mathrm{aragonite}}$
27.1 ± 0.7	34.54 ± 0.21	8.08 ± 0.01	1369.1 ± 1.3	150.4 ± 0.2	3.7 ± 0.0
27.1 ± 0.7	32.60 ± 0.26	8.09 ± 0.01	1457.2 ± 1.4	168.9 ± 0.2	3.4 ± 0.0
27.1 ± 0.7	30.45 ± 0.29	8.09 ± 0.01	1544.1 ± 4.8	188.9 ± 0.6	3.1 ± 0.0
27.1 ± 0.7	28.38 ± 0.28	8.09 ± 0.01	1628.2 ± 4.1	210.3 ± 0.5	2.8 ± 0.0
27.1 ± 0.7	26.43 ± 0.25	8.09 ± 0.01	1696.4 ± 2.5	229.7 ± 0.3	2.5 ± 0.0
(°C)			(µmol/kgSW)	(µmol/kgSW)	



 Fig. 3
 酸性化海水実験
 10日間飼育後のコユビミドリイシ幼サンゴ骨格面積

 (エラーバーは標準誤差, n=20)



Fig 4 高水温環境実験 10日間飼育後のコユビミドリイシ幼サンゴ骨格成長面積 (エラーバーは標準誤差, n=20)



 Fig. 5
 低塩分環境実験
 10日間飼育後のコユビミドリイシ幼サンゴ骨格成長面積

 (エラーバーは標準誤差, n=20)

		300ppm	l	400	ppm	8	00ppm	1000ppm
褐虫藻	あり	0.734 ± 0.0)22	0.722 ±	€ 0.022	0.72	21 ± 0.028	0.645 ± 0.017
褐虫藻	なし	0.628 ± 0.0	014	0.607 =	€ 0.017	0.59	$03 \pm 0,019$	0.608 ± 0.017
		平均 ± 標準	誤差					
高水温環	境実験	(mm^2)						n =20
		27°C		29	°C		31°C	33°C
褐虫藻	あり	0.202 ± 0.0)13	0.157 =	€ 0.027	0.1	53 ± 0.02	0.026 ± 0.011
褐虫藻	なし	0.128 ± 0.0	009	0.109 =	± 0.028	0.15	53 ± 0.019	0.132 ± 0.019
		平均 ± 標準	誤差					
低塩分環	境実験	(mm^2)						n = 20
		26	2	28	30		32	34
褐虫藻	あり	0.1±0.013	0.16	±0.019	0.148±0	.022	0.202±0.028	3 0.194±0.033
褐虫藻	なし	0.054 ± 0.01	0.093	±0.011	0.119±0	.011	0.136±0.015	5 0.099±0.014
	平均 ± 標準誤差							

n = 15

酸性化海水実験(mm²)

Table.3 コユビミドリイシ 各実験における骨格成長量 分散分析

Factor	褐虫藻	df	SS	F-value	p(Prob > F)
$p\mathrm{CO}_2$	0	3	0.09305	3.9306	0.0125
$p\mathrm{CO}_2$	×	3	0.00953	0.7463	0.529
Temperature	0	3	0.34101	16.0505	< 0.0001
Temperature	×	3	0.01932	1.2354	0.3028
salinity	0	4	0.13301	2.9505	0.024
salinity	×	4	0.07657	6.1795	0.0002



Fig. 6 産総研 GH09 航海採水地点

	14510					
Site	t(°C)	depth(m)	ТА	pН	Ω Calcite	Ω Aragonite
1	6.8	772	2328.1	7.548	1.48	0.94
2	20.0	217	2289.0	7.995	4.42	2.88
3	23.6	79	2267.9	8.072	5.20	3.41
4	20.8	134	2287.9	8.016	4.67	3.04
5	23.4	64	2286.6	8.036	5.02	3.29
6	20.2	168	2281.7	8.002	4.50	2.93
7	15.9	351	2286.6	7.887	3.52	2.27
8	29.1	0	2247.8	8.093	5.48	3.66
9	24.4	76	2275.7	8.028	4.93	3.24
10	23.7	69	2275.4	7.973	4.45	2.92
11	15.8	380	2294.2	7.863	3.28	2.12
12	20.7	148	2287.8	8.004	4.54	2.96
13	11.9	422	2293.5	7.753	2.54	1.63
14	11.2	512	2281.9	7.740	2.41	1.55
15	7.6	593	2324.0	7.574	1.64	1.04
16	6.0	797	2338.3	7.506	1.33	0.85
17	6.8	720	2316.8	7.551	1.50	0.96
18	4.8	1008	2357.6	7.463	1.14	0.73
19	4.9	904	2351.1	7.464	1.17	0.75
20	4.7	1177	2362.9	7.456	1.08	0.69
21	4.7	1072	2358.6	7.463	1.12	0.72
22	8.1	674	2314.2	7.605	1.73	1.10
23	3.9	2122	2386.7	7.448	0.86	0.56
24	4.0	1410	2380.8	7.457	1.03	0.66

Table. 4 産総研 GH09 航海 採水地点炭酸系パラメータ



Table.5 産総研 GH08・09 航海 表層堆積物試料採取地点データ

sit	e	depth	pteropod	sit	e	depth	pteropod
num	ber	(m)	shell	num	ber	(m)	shell
GS	1	703	0	GS	13	270	×
GS	2	474	0	\mathbf{GS}	14	255	0
GS	3	217	0	\mathbf{GS}	15	421	×
GS	4	258	0	\mathbf{GS}	16	611	0
GS	5	166	0	\mathbf{GS}	17	968	×
\mathbf{GS}	6	219	0	\mathbf{GS}	18	1117	×
\mathbf{GS}	$\overline{7}$	331	0	\mathbf{GS}	19	1040	×
\mathbf{GS}	8	328	×	\mathbf{GS}	20	1611	×
\mathbf{GS}	9	119	×	\mathbf{GS}	21	1952	×
GS	10	336	×	\mathbf{GS}	22	1621	×
GS	11	262	×	\mathbf{GS}	23	2373	×
\mathbf{GS}	12	496	0	GS	24	2679	×



Fig. 8 プランクトンネットサンプリング地点

Table.6	プランク	トンネッ	トによる翼足類採取結果
---------	------	------	-------------

	サンプリン	サンプリン	採取される	た翼足類(個	体数)
採取日時	グ地点	グ回数	Diacria quadridentata	Creseis virgula	Creseis acicula
2009年 10月 20日	А	4	0	0	24
2010年 8月 20日	В	4	1	2	6
2010年 9月 9日	А	5	1	1	6
2010年 9月 17日	С	11	3	2	5
2010年 10月 24日	D	7	0	0	10
2010年 11月 2日	А	6	0	0	73
2010年 11月 6日	А	9	0	0	92



Fig.9 翼足類飼育装置 概要





Fig.11 堆積物中あられ石含有量 (GH09 航海報告書 改変)





(a)









Fig.12 表層堆積物中から産出した翼足類遺骸群集構成種(スケールバーは2.5mm) (b) Clio pyraidata (a) Cavolinia geoblosa (c) Cavolinia inflexa (d) Diacria trispinosa (e) Styliola subula (f) Cavolinia longirostris

























Table.7 各表層堆積物サンプリング地点からの翼足類遺骸産出数

種名\サンプリング地点	GS 1	$\mathrm{GS}\ 2$	GS 3	GS 4	GS5	GS6	GS16
Clio pyramidata	176	181	35	8	9	16	
Creseis acicula	63	24			2		
$Styliola\ subula$	20	117	2	11	13	9	3
Cavolinia inflexa	38	73	10		1	8	
Creseis virgula	20	24	1		1		3
Cavolinia longistris	12	178	10	5	6	20	4
Hyalocylix striata	12	2					
Diacria maculata	7		3		2		
Diacria quadridentata	2			3	2		
Cuvierina columnella	1	11	10			1	
Cavolinia globulosa	1	11					
Diacria trispinosa	1	16	7			1	

	$10^3 \mathrm{~x~} \delta^{13}\mathrm{C}$	$10^3 \mathrm{~x~} \delta^{18}\mathrm{O}$
Sample name	relative to VPDB(‰)	relative to VPDB(‰)
Clio pyramidata	1.88 ± 0.11	-0.08 ± 0.02
Hyalocylis striata	1.67 ± 0.29	-0.68 ± 0.22
Creseis acicula	1.09 ± 0.17	-0.81 ± 0.08
Cavolinia longirostris	1.39 ± 0.12	-0.96 ± 0.20
Creseis acicula (Net Autum)	0.04 ± 0.06	-1.12 ± 0.06
Creseis virgula	0.90 ± 0.29	-1.16 ± 0.40
Creseis acicula (Net summer)	-0.08 ± 0.10	-1.75 ± 0.10





Fig.14 翼足類殻の酸素同位体比(δ¹⁸O)測定結果



Fig.15 翼足類殻の炭素同位体比(δ¹³C)測定結果



Fig.16 翼足類酸性化海水曝露実験 電子顕微鏡観察結果(先端部表面)



Fig.17 翼足類酸性化海水曝露実験 電子顕微鏡観察結果(殻表面)

Table.9 翼足類酸性化海水曝露実験 生存個体数変化

第1回 (2010年11月2日~4日) n=11

経過時間

pCO_2	実験開始	24 時間	36 時間	48 時間
400µatm	11	3	2	0
1000µatm	11	2	1	0

第2回 (2010年11月6日~8日) n=8

	経過時間						
pCO_2	実験開始	12 時間	24 時間	36 時間	48 時間	53 時間	
400µatm	8	5	3	2	1	0	
1000µatm	8	2	1	1	0		
2000µatm	8	4	0				
	-						



Fig.18 堆積物翼足類遺骸(Diacria quadridentata)に見られる溶解の痕跡

- (a) 殼先端部 (b) 殼表面中央
- (c) 殻縁辺部 (d) 正常な殻表面中央部
- (スケールバーは 10µm)







