ワダ　シゲキ
和田　茂樹

略　歴

2008年 3月　筑波大学生命環境科学研究科卒業
　　　　　　博士（理学）取得
2008年 4月　愛媛大学沿岸環境科学研究センター
　　　　　　グローバルCOE研究員
2010年 3月　同上退職
2010年 4月　筑波大学下田臨海実験センター　助教
　　　　　　現在に至る

海洋への炭素吸収プロセスに対する海洋酸性化の影響 ―マリンスノー生成プロセスの応答から―

Effect of ocean acidification on the process of carbon sequestration into ocean.

Increase in pCO_2 of surface seawater induced ocean acidification, and it has been expected to alter the marine ecosystems. Biological response to ocean acidification could result in the driving force of biological pump. Therefore, it would have feedback to progress of ocean acidification. Here, we tested the effect of ocean acidification on formation of large particles based on the process of aggregation and cell size of phytoplankton. The pH of seawater was adjusted by bubbling, and the seawater samples were incubated under natural sunlight. In this experiment, aggregate had little contribution to formation of large particles. On the other hand, cell size of phytoplankton became smaller with acidification. Considering that cell size relates to the sinking of particles, suppression of driving force of biological pump might accelerates the progress of ocean acidification in future.

要　旨

海洋酸性化は、海洋表層のpCO_2の増加に伴うpHの低下であり、海洋生物ならびに生態系に対する影響が危惧されている。生物への影響は、生物ポンプの駆動効率にも変化をもたらす可能性があり、その結果として生じる酸性化の進行へのフィードバック作用は、海洋生態系の将来予測において不可欠である。本研究では、生物ポンプを駆動させるメカニズムの一つである、粒子の大型化について着目し、凝集体の生成や植物プランクトンのサイズに対する酸性化の影響を評価した。実験は自然海水を用い、CO_2分圧をバブリングで調整して自然光下で培養を実施した。その結果、今回の実験では凝集体は大型粒子の生成要因とはならないことが示された一方で、植物プランクトンのサイズは酸性化に伴って小型化することが明らかとなり、粒子の沈降速度の低下が示唆された。粒子の沈降速度の低下は、生物ポンプの駆動効率の低下につながることから、将来的に酸性化の進行を加速させる可能性が指摘された。

導　入

人間活動の活発化は、大気への二酸化炭素（CO_2）の放出を増大させ、その結果として生じる地球温暖化が深刻な環境問題として取りざたされている。人類が大気中へ放出したCO_2は、その1/3～1/4が海洋へ吸収されると見積もられており（Sabine et al. 2004）、これまでは海洋へのCO_2吸収が地球温暖化の抑制効果を持つとして、ポジティブなイメージでとらえられてきた。しかし一方で、海洋に吸収されたCO_2が海水の炭酸平衡に影響し、結果的に海洋表層のpHが低下するという「海洋酸性化」が、第二のCO_2問題として報告されるようになってきた（Orr et al. 2005）。産業革命以降現在までに、既に海洋表層のpHは約0.1低下しており、CO_2の放出がこれまでと同様に加速し続けると、100－150年後には海洋表層のpHは現在の8.1から7.6付近まで低下すると予測されている（Doney et al. 2009）。これは過去の地球史において最も急激な海洋のpHの変化であり、海洋生態系の激変が予想されている。

酸性化は海洋表層におけるCO_2の増加が主要因であるが、その進行を抑制する機構として生物ポンプと呼ばれるメカニズムが注目されている。生物ポンプは、海洋表層の植物プランクトンが光合成によってCO_2を有機炭素に変換し、その一部が沈降粒子となって海洋深層に沈降することによって駆動する（Ducklow et al. 2001）。沈降粒子に含有される有機炭素が深層へ移送されることで、炭素を有機態のまま深層へ隔離し、表層の炭素の除去に寄与している。

沈降粒子には様々な生成プロセスが提唱されており、その一つとして凝集体の形成が挙げられる（Simon et al. 2000 ; Passow 2002）。凝集体の定義は報告によって若干異なるが、本研究における凝集体の定義は、植物プランクトンやバクテリアが海水中に放出したコロイド態有機物が互いに衝突して接着し、その結果生成された大型の粒子を指すこととする。凝集体は強い粘着性を帯びた細胞外多糖（EPS : Exopolysaccharides）を多く含有し、その粘着性によって接着することが知られている。海洋酸性化は、EPSの生成および分解過程（Thornton 2009 ; Piontek et al 2010）を抑制することが示唆されていることから、酸性化の進行に伴って凝集体の生成量が低下する可能性が考えられる。この他にも生物体自身の沈降なども沈降粒子の生成要因である（Alldredge and Silver 1988）。植物プランクトンなどは大型の細胞であるほど沈降速度が速いことが知られており（Miklasz and Denny 2010）、炭素隔離におけるプランクトンサイズの影響が指摘されている。

そこで本研究では、異なるpHに調整した自然海水を大型タンクに入れて培養し、凝集体の生成やプランクトンのサイズに対する酸性化の影響を評価することとした。凝集体の生成量を評価する際には、擬似的な凝集体生成実験を実施する。この実験では、Drapeau and Dam（1994）の手法を基にして、海水試料をCouette Chamberと呼ばれる装置を用いて一定条件下で撹拌し、コロイド態有機物の衝突を促すことで、実験期間中に生成した凝集体を定量する。さらに、植物プランクトンの細胞のサイズをフローサイトメーターで測定し、細胞サイズに対する酸性化の影響を検証した。以上の結果を基にして、酸性化の進行に対する生物ポンプの駆動効率の応答と、酸性化の進行に対するフィードバック作用の推定を実施した。

材料と方法

自然海水の培養実験

2012年6月30日に、静岡県下田市大浦湾の沿岸海水をポンプアップし、捕食による影響を無視するために100μmメッシュを用いて動物プランクトンの多くを除去した後、6基の大容量培養器（500L）に試水を導入した。容器はさらに大型のFRP製水槽内に設置し、培養器の周囲に沿岸海水を恒常的に導入しながら入れ替えることで、水温を自然環境に類似した条件に調整した。試水にはガス混合機でCO_2濃度を調整した空気を通気し、CO_2分圧を400、800および1200ppmに設定した。実験開始前に2日間バブリングを実施して、目的のpHへ安定させた後、植物プランクトンの増殖を促進するために栄養塩（終濃度：KNO3：3.23μM, KH2PO4：0.202μM, Na2SiO3・9H2O：3.23μM）を添加して培養を開始した。培養開始後は、毎日同時刻（午前7時）から6時間バブリングを実施し、CO_2分圧を維持することでpHを一定にした。また、pHの測定はバブリングを行う直前に実施した。培養は2週間にわたって実施し、1－3日おきに試料の採取を実施した。

凝集体生成実験

Couette Chamberは、2つの異なる径の円筒が二重にかぶさっている構造をしており、2つの円筒の間の部分に試水を導入する。外側の円筒のみが回転し、内側の円筒は静止するために、Shearと呼ばれる力が発生する。Shearの大きさについては以下の式で算出される（Drapeau and Dam 1994）。

$$G_m = (2\pi N/60)(2R_1R_2/R_2^2 - R_1^2)$$

（G_m：一秒当たりのShear rate, N：1分あたりの回転回数，R_1：内側の円筒の直径、R_2：外側の円筒の直径）

本研究で用いたCouette Chamberは、内側の円筒の直径が9cm、外側の円筒の直径が11.5cmであり、1分当たりの回転回数は20回としたことから、Shearは$8.46s^{-1}$と算出される。Drapeau and Dam（1994）は、自然環境におけるshearを$10s^{-1}$以下と推定しており、本研究で用いたshearは自然環境で起こりうる範囲と考えられる。

凝集体生成実験に用いた海水は、あらかじめ高温処理（450℃、4時間）を行ったガラス繊維ろ紙（Whatman, GF/F）で吸引ろ過を実施し、粒子を取り除いた。このろ液をCouette Chamberに導入し、1時間後に海水を回収して再度GF/Fフィルターでろ過を行い、ろ紙上に捕集された粒子の量を凝集体生成量とした。

その他の分析

海水をGF/Fでろ過した際に、ろ紙上に捕集される懸濁態有機炭素（POC：Particulate Organic Carbon）および懸濁態窒素（PN：Particulate Nitrogen）は、元素分析計（FASONS, EA1108）を用いて測定した。クロロフィル*a*濃度の測定には、海水をろ過したフィルターからジメチルホルムアミドを用いてクロロフィル*a*を抽出し、その後高速液体クロマトグラフ（Agilent, 1100 Series）を用いて蛍光検出器で測定を行った。植物プランクトン細胞のサイズ測定は、フローサイトメーター（BD, FACSCalibur）を用いて、試料採取後12時間以内の非固定試料を分析した。既知のサイズビーズをあらかじめ測定して、6および10μmのサイズを決定し、植物プランクトン細胞を6μm以下、6－10μmおよび10μm以上の3つのサイズにグループ分けをした。

結　果

培養器内のpCO_2、pHおよび水温の変化

実験開始前の海水のpCO_2は356－360ppmであり、培養器の間での差異はほとんど認められなかった。pHは8.09であり、これは一般的な海水のpHと同程度である（Doney et al. 2009）。2日間のバブリング後にはpCO_2は設定値付近に達しており、400 、800および1200ppmに設定した培養器内でそれぞれ、411、841および1205ppmとなった（図1a）。この時のpHはそれぞれ、8.04 、7.77および7.63であり、この値は実験期間を通してほぼ一定の値に維持されていた（図1b）。また、期間中の水温は、20－25℃に維持されていた。

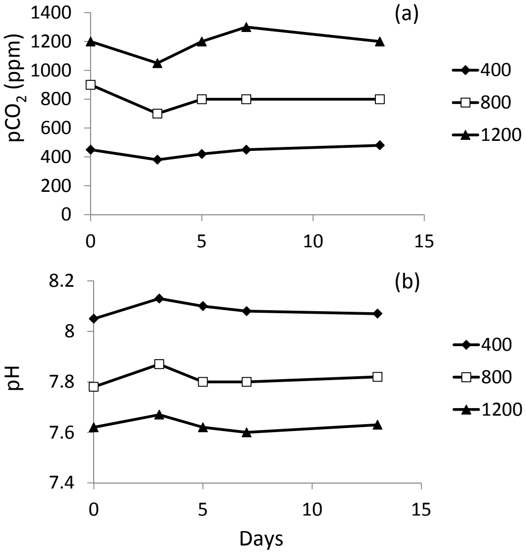

図 1

凝集体生成量の変化

pCO_2を400ppmに設定した培養タンクにおいて、Couette Chamberを用いた30分の実験で生成した凝集体に含まれる有機炭素の量は、栄養塩添加直後の海水試料で4.70μMCであった。その後、培養中期（6－8日目）にかけて増加し、8日目に最大値を取り5.82μMCとなった。一方、800および1200ppmに設定した培養器においては、8日目における凝集体生成量が相対的に低く、3.77－4.52μMであった（図2a）。生成した凝集体に含まれる窒素量は、800および1200ppmに設定した培養タンクにおいて0.213－0.428μMNの範囲内であり、培養期間中を通して大きな変化は見られなかった。一方で、400ppmに設定した培養タンクにおいては、8日目の窒素量（1.44±0.375μMN）の値が、それ以外の試料における窒素量（0.222－0.338μMN）と比較して4－5倍近く高い値を示した（図2b）。C/N比は8日目以外の試料に関しては、12.7－16.9の間で顕著な変化が見られなかった。8日目に関しては、400 、800および1200ppmに設定したタンクでそれぞれ、4.05±0.16、11.6±4.34および14.9±2.95となり、pHの低下に伴ってC/N比が上昇する傾向を示した（図2c）。

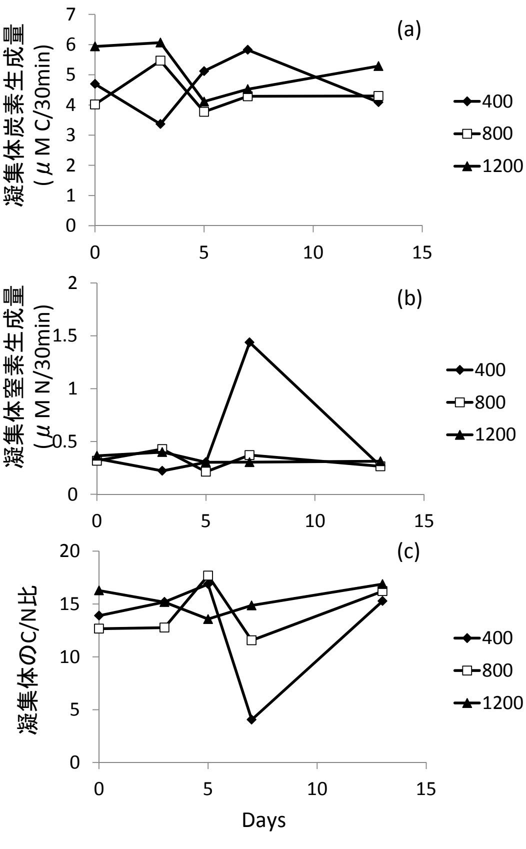

図 2

POCおよびPN濃度

POC濃度は栄養塩添加後1日目から増加し始め、4日目にピークに達した。ピーク時の濃度は400、800および1200ppmで設定した培養タンクにおいてそれぞれ、74.7±2.98、72.1±5.28および64.3±5.12μMCであり、酸性化に伴って低下する傾向を示した。このように、pHに対する濃度変化の傾向は実験終了時まで継続して観察された（図3a）。PN濃度もPOC濃度と同様に栄養塩添加後1日目より増加し、4日目にピークに達した。しかしpHの差に伴う違いは実験期間を通して見られず、4日目におけるPN濃度は400、800および1200ppmで設定した培養タンクにおいてそれぞれ、4.34±0.357、4.45±0.329および4.58±0.212μMNであった。PN濃度は6日目以降、実験終了時まで単調に減少を示した（図3b）。C/N比は、栄養塩添加直後で7.63－7.88であり、その後緩やかな上昇を示した。実験終了時には、20前後にまで上昇し、pCO_2の増加に伴って値が低下する傾向を示した（図3c）。

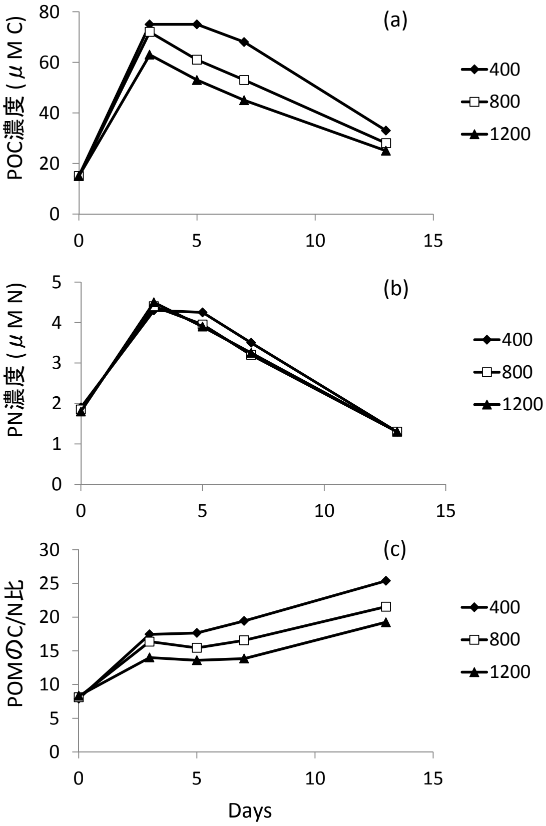

図 3

クロロフィル*a*濃度

クロロフィル*a*濃度は、栄養塩添加後1日目に最大となり、400、800および1200ppmに設定した培養器においてそれぞれ、4.1、4.2および4.4μgl^{-1}であった。その後は11日目における値（0.24－0.48μgl^{-1}）まで単調な減少を示した。クロロフィル*a*濃度はpHの低下に伴って増加する傾向を示し、その差が最大に達した時は1200ppmの培養タンクにおける濃度は400ppmと比較して2.1倍に達していた（図4）。

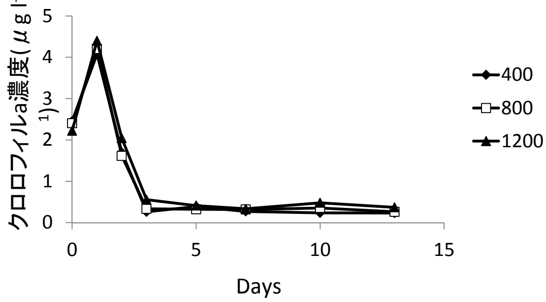

図 4

植物プランクトンのサイズごとの細胞数

10μm以上のサイズの細胞数は、1もしくは2日目に最大値を取り、その値は400、800および1200ppmに設定した培養器においてそれぞれ、9900、11000および12000 cells ml^{-1}となった。このようにピーク時は1200ppmの細胞数がやや多い傾向を示したが、その後6日目以降は逆に400ppmにおいて最も多く、pCO_2分圧が増加するにつれて細胞数が減少する傾向を示した。6－10μmの細胞サイズにおいても同様に、ピーク時は1200ppmに設定した培養器が最も細胞数が大きく、その後実験の後半におい

て400ppmの細胞サイズが最も多くなる傾向を示した。6 μ m以下のサイズにおいては、ピーク時の400、800および1200ppmに設定した培養器でそれぞれ、細胞数が14000、17000および19000 cells ml^{-1}となっており、pCO_2の増加と共に細胞数の増加傾向が見られた。一方、実験の後半においては、pCO_2の変化に対する明瞭な細胞数の違いは認められなかった（図5）。

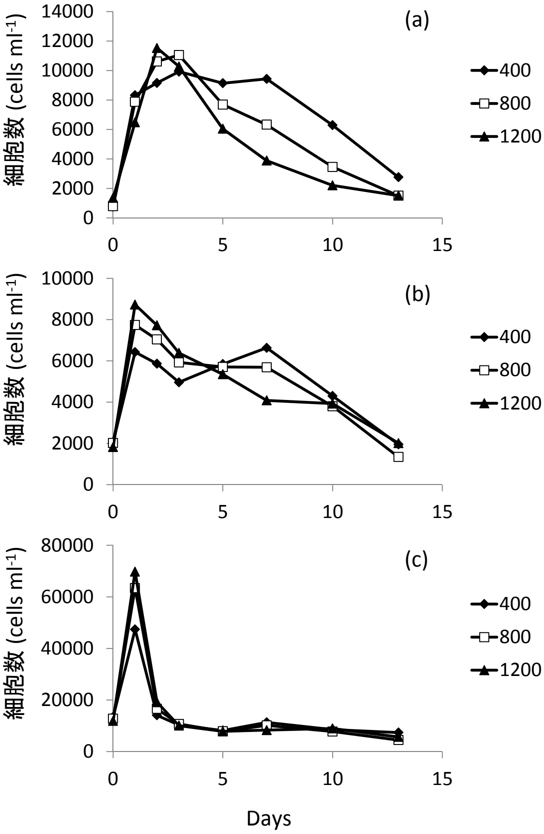

図 5

考　察

海洋酸性化は、その可能性はBroecker et al.（1971）によって初めて指摘されたが、その進行の実態が明らかにされたのは2000年以降である。そのため研究の歴史は浅く、海洋生態系に及ぼす影響について、未だ十分に明らかとはされていない。近年、ノルウェーのフィヨルドをフィールドとして、Riebesellらは生物ポンプに対する酸性化の影響を評価するために巨大なメソコスム実験（容量：20000－50000L）を実施しているが（e.g., Riebesell et al. 2007 ; 2013）、実験系内のpHが培養期間中に大きく変動するという点で、酸性化の影響評価を行う実験系として問題を抱えている。彼らのような大規模な実験系は、より自然環境に近付けるという点では有効であるが、pHの安定した調整は難しくなる。

そこで本研究では、500Lという中規模なサイズでの培養実験を行った。このサイズはpHの安定的な調整は十分可能であり、酸性化の影響を評価する上ではより適していると考えられる。実験期間中に継続的にpHを測定した結果、pCO_2を400、800および1200ppmに設定した培養タンクにおいてそれぞれ、pHは8.03－8.14、7.79－7.90および7.60－7.73の範囲内に調整されており、pHの影響評価を行う上での実験系の設定は十分に達成できたと言える。

クロロフィル*a*濃度は、栄養塩添加後1日目においてピークを迎えたことから、添加した無機態の窒素、リンおよびケイ素を取り込んで植物プランクトンのブルームが生じたと考えられる。POCおよびPNのピークは共に4日目であり、クロロフィル濃度のピークに遅れて生じていたが、これはクロロフィル*a*が、植物プラ

ンクトンの死滅後に短期間で分解を受けるのに対し、有機態の炭素および窒素は無機化されるまでに相対的に長い時間を要することに起因すると考えられる。また、POC の濃度は pH の低下と共に減少する傾向を示したことから、粒子の生成プロセスに対する酸性化の影響が予測される。

凝集体として生成する有機炭素および窒素量は、400ppm に設定した培養タンクにおいて 8 日目に最大値を示していたが、800 および 1200ppm においては同様のピークは観察されなかった。また、8 日目の凝集体の C/N 比は、pH の低下と共に上昇するという傾向を示した。今回生成した凝集体は、Couette Chamber を用いて疑似的に生成したものであるため、実際の培養タンク内における凝集体の生成量を反映しているかは不明である。そこで、生成した凝集体の C/N 比を、試水の POM の C/N 比と比較することで、POM の動態に対する凝集体の影響を推定することとした。生成した凝集体の C/N 比は 8日目を除いて 12.7－16.9 の間を取っており、8日目に関しては 400ppm に設定したタンクにおいて 4.05 という低い値を示した。しかし、懸濁態有機物（POM：Particulate Organic Matter）の C/N 比は栄養塩添加直後で 7.63－7.88 であり、その後緩やかに増加を続けて実験終了時には 20 前後の値となった。また、pH の低下と共に、C/N 比は低下する傾向を示していた。このように、POM の C/N 比の値および変化傾向はともに、凝集体の C/N の変化と関係なく推移していることから、今回の実験中において凝集体は POM の構成要素としての寄与が小さいと考えられる。

フローサイトメーターによる細胞サイズの計測の結果、ピーク時には pCO_2 の増加に伴い大型の細胞サイズの植物プランクトンが増加する傾向が見られたが、その後 6 日目以降は、10 μm 以上および 6－10 μm の細胞サイズの植物プランクトンは、pCO_2 の増加に伴って細胞数が減少する傾向を示した。特に、6 日目以降の傾向が生じた期間は長く、実験終了時まで継続していたことから、海洋酸性化という長期のタイムスケールで生じる気候変動を予想する上で、植物プランクトン細胞の小型化が生じる可能性がより高いと考えられる。

粒子の沈降速度と粒子径の関係を示したストークス式に基づくと、沈降速度は粒子径の二乗に比例すると計算される（Miklasz and Denny 2010）。そのため、植物プランクトンの細胞サイズは生物ポンプの駆動効率の決定要因の一つとして重要視されている。以上のことから、酸性化によって引き起こされる植物プランクトンの細胞サイズの小型化は、生物ポンプの効率を低下させ、海洋酸性化の進行を将来的に加速させる可能性を持つと考えられる。

引用文献

Alldredge AL, Silver MW. Characteristics, dynamics and significance of marine snow. Progress in Oceanography 20, 41-82 (1988)

Broecker WS, Li YH, Peng T-H. Carbon dioxide – man's unseen artifact. In: Hood DW (ed.) Impingement of man on the oceans, 287-324

Doney SC, Fabry VJ, Feely RA, Kleypas JA. Ocean acidification: the other CO_2 problem. Annual Review of Marine Science 1, 169-192 (2009)

Drapeau DT, Dam HG. An improved flocculator design for use in particle aggregation experiments. Limnology and Oceanography 39, 723-729 (1994)

Ducklow HW, Steinberg DK, Buesseler KO. Upper ocean carbon export and the biological pump. Oceanography 14, 50-58 (2001)

Miklasz KA, Denny MW. Diatom sinking speeds: improved predictions and insight from a modified Stokes' law. Limnology and Oceanography 55, 2513-2525 (2010)

Orr JC, Fabry VJ, Aumont O, Bopp L, Doney SC, Feely RA, Gnanadesikan A, Gruber N, Ishida A, Joos F, Key RM, Lindsay K, Maier-Reimer E, Matear R, Monfray P, Mouchet A, Najjar RG, Plattner G-K, Rodgers KB, Sabine CL, Sarmiento JL, Schlitzer R, Slater RD, Totterdell IJ, Weirig M-F, Yamanaka Y, Yool A. Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. Nature 437, 681-686 (2005)

Passow U. Transparent exopolymer particles (TEP) in aquatic environments. Progress in Oceanography 55, 287-333 (2002)

Piontek J, Lunau M, Handel N, Borchard C, Wurst M, Engel A. Acidification increases microbial polysaccharide degradation in the ocean. Biogeosiences 7, 1615-1624 (2010)

Riebesell U, Schulz KG, Bellerby RGJ, Botros M, Fritsche P, Meyerhofer M, Neill C, Nondal G, Oschlies A, Wohlers J, Zollner E. Enhanced biological carbon consumption in a high CO2 ocean. Nature 450, 545-549 (2007)

Riebesell U, Czerny J, von Brockel K, Boxhammer T, Budenbender J, Deckelnick M, Fischer M, Hoffman D, Krug S, Lentz U, Ludwig A, Muche R, Schulz KG. Technical Notes; a mobile sea-going mesocosm system – new opportunities for ocean change research. Biogeosciences 10, 1835-1847 (2013)

Sabine CL, Feely RA, Gruber N, Key RM, Lee K, Bullister JL, Wanninkhof R, Wong CS, Wallace DWR, Tilbrook B, Millero FJ, Peng T-H, Kozyr A, Ono T, Rios AF. The ocean sink for anthropogenic CO2. Science 305, 367-371 (2004)

Simon M, Grossart H-P, Schweitzer B, Ploug H. Microbial ecology of organic aggregates in aquatic ecosystems. Aquatic Microbial Ecology 28, 175-211 (2002)

Thornton DCO. Effect of low pH on carbohydrate production by a marine planktonic diatom (*Chaetoceros muelleri*). Research Letters in Ecology 105901 (2009)