



# 海洋化学環境と植物プランクトンの 動態応答に関する研究

杉江 恒二\*

### はじめに

あらゆる時空間単位における海洋の物理環境の変化が、化学成分の変化を通じて生物、ひいては海洋生態系に影響を及ぼす。本稿では、人類活動により放出される二酸化炭素を引き金とした、将来起こり得る環境変化が海洋生態系に及ぼす影響に着目した成果の一部を紹介する。二酸化炭素は光合成の基質であるから、海洋において主要な一次生産者である植物プランクトンを主な研究対象とした。海洋生態系の基盤である植物プランクトンに及ぼす変化は、上位の栄養段階にある生物群にも影響が波及する可能性が高い。将来の海洋資源の利用性の予測の高度化に向けて、将来起こり得る環境変化に対する植物プランクトンの応答に関する知見の蓄積が急務である。人類による環境擾乱が地球環境に及ぼす影響の深刻さおよび海洋に対する知見の蓄積と対応の遅れは、国連開発計画（UNDP）が2015年に採択した持続可能な開発アジェンダを達成するための17の持続可能な開発目標（SDGs）の中における目標14で取り扱われ、ひいては2021年より実施される「国連海洋の10年」に表れているといえよう。

大気二酸化炭素濃度の増加とそれに起因する地球温暖化は、昇温および海水のpHの低下を引き起こす。地球温暖化の将来予測には様々な不確定要素があるが、pHの低下は二酸化炭素濃度が増え続ける限り必ず起こる（Doney et al., 2009）。温暖化も二酸化炭素も大気からのインプットであるから、それらの影響は海洋表層に顕著に表れる。

さらに昇温によって季節混合層が浅くなることは、栄養塩の利用性の低下に繋がる。pHの低下は、鉄と有機配位子の錯安定度に影響を与える可能性（Shi et al., 2010; Sugie et al., 2013: 後述）や細胞表面の酵素活性を変える可能性が指摘されている（Yamada & Suzumura, 2010; Arnosti, 2010; 杉江・芳村, 2011）。この十数年で海洋酸性化に関する影響報告の数は対数的に増加してきたが、水温との相互作用など、複合影響に関する知見は未だに限られている（杉江, 2018）。本稿では、ベーリング海で行った実験で見られた、鉄制限海域における海洋酸性化が鉄の生物利用性に与える可能性、生物に利用可能な鉄の濃度と二酸化炭素を独立して任意に制御可能な培養システムの開発並びにそのシステムを用いた二酸化炭素と鉄の利用性の複合影響評価の研究成果、最後に北極海で行った、水温・二酸化炭素・塩分を調節した複数環境ストレスがプランクトン群集に及ぼす影響について紹介する。

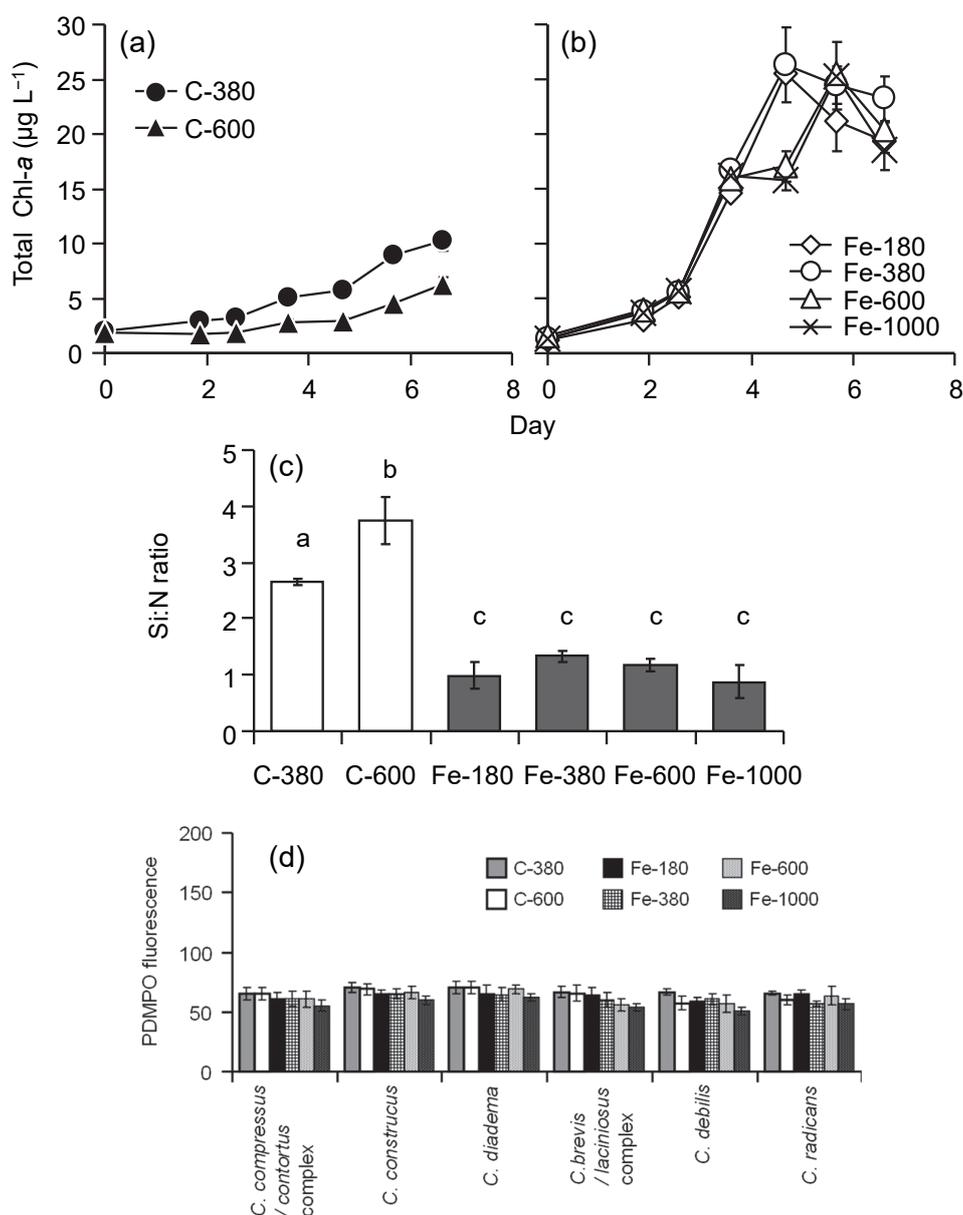
### ベーリング海での培養実験

ベーリング海海盆域は鉄不足が基礎生産を律速するHNLC海域として知られている。鉄制限海域においてクリーンテクニックを適応した培養実験の報告は、本研究を行った2009年の学術研究船白鳳丸航海の当時ではなく、挑戦的な実験であった。鉄を添加する系は180, 380, 600, 1000 ppmの二酸化炭素を含む空気を培養ボトルに散気し、鉄無添加の系には380, 600 ppmの二

\*国立研究開発法人海洋研究開発機構地球環境部門地球表層システム研究センター海洋生態系グループ  
74周年秋季講演会（令和2年11月14日）講演

酸化炭素を含む空気を散気し、異なる鉄濃度環境下における二酸化炭素の影響を調べた (Sugie et al., 2013; Endo et al., 2015). 鉄の添加により、植物プランクトンの比増殖速度が上昇したことから、鉄無添加の系 (C-380 および C-600) は鉄律速であったと考えられる (Fig. 1a and 1b). 鉄添加の系 (Fe-xxx) の比増殖速度並びに粒状態のケイ素と窒素の比 (Si:N ratio) は、二酸化炭素の違いによって有意な差はみられなかったが、鉄

無添加の系においては、二酸化炭素濃度の高い C-600 実験区の比増殖速度の有意な低下と Si:N ratio の有意な増加がみられた (Fig. 1a and 1c). C-380 実験区と比較して C-600 実験区における Si:N ratio が約 30% 上昇した要因が、珪藻の殻が分厚くなったのか、または、藻類の窒素含量が減少したかを調べるため、培養期間中に形成される珪藻の殻を染色する PDMPO を用いて、10-L の培養タンクから採取した一部の海水を 24 時間培



**Fig. 1.** Temporal changes of chlorophyll *a* concentration in (a) unamended controls and (b) Fe-added treatments. (c) Biogenic silica to particulate nitrogen ratio and (d) PDMPO fluorescence of dominant diatom species during exponential growth phase. Error bars in (a)–(c) and (d) represent 1SD of triplicate incubation bottles and 1SD of measured fluorescence. Figures were reconstructed from the selected data of Sugie et al. (2013) Biogeosci.

養した。その結果、優占する珪藻類 (*Chaetoceros* spp.) の殻の蛍光値は、Si:N ratio の変化率と比較して小さかった (Fig. 1d)。二酸化炭素の変化による群集組成の変化も小さかったことから (Endo et al., 2015)、細胞内の窒素含量が変化したと考えられる。Endo et al. (2015) によれば、本実験中において二酸化炭素を同化する酵素のルビスコをコードする遺伝子の発現量が実験区の二酸化炭素濃度の増加と共に減少していた。すなわち、二酸化炭素濃度の上昇に伴う生体内たんぱく質量の減少が、細胞内の窒素含有量を低下させ、Si:N ratio を上昇させていたと考えられる。珪藻類が鉄律速になると Si:N ratio が増加することが知られており (Takeda, 1998)、本研究の結果は、鉄無添加区における二酸化炭素濃度上昇が植物プランクトンの鉄制限をより厳しくさせることを示唆している。鉄無添加の実験区間において、実験終了時の鉄濃度 (未ろ過、全酸可溶態) に有意な差はなく、酸性化によって鉄が使いづらい形態になった可能性が考えられた。これは、Shi et al. (2010) が示した、pH の変化によって鉄と有機配位子の錯体の錯安定度が上昇する可能性を示した結果と整合的であった。すなわち、HNLC 海域における海洋酸性化は、鉄制限の強化に伴う珪

藻類の生産性の低下が想定され、生物ポンプの弱化による大気二酸化炭素濃度に対する正のフィードバックの可能性が示唆された (Fig. 2)。

しかしながら、現場の海水を用いた実験では、二酸化炭素と鉄、それぞれの影響を切り分けることができないため、ベーリング海での実験結果に確度の高い解釈を与えるためには、二酸化炭素と鉄の利用性を独立して調整可能な実験システムを構築する必要があった。

### 鉄と二酸化炭素を操作した室内培養実験

生物に利用可能な鉄は主に溶存無機態 ( $Fe'$ ) と考えられている (Morel et al., 2008)。植物プランクトンにとっての鉄の利用し易さに違いを生じさせる要因は、鉄濃度が一定の場合、鉄と有機配位子 (L) の錯体 ( $Fe-L$ ) の錯安定度および濃度比の変化と考えられる。本研究では、有機配位子として EDTA (培地での濃度は  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) を用いて、結合させる鉄の濃度と散気する空気の  $CO_2$  濃度を変えることで、 $Fe'$  の濃度と pH を独立して操作可能な培地を考案した (Fig. 3; Sugie and Yoshimura, 2013)。異なる pH における  $Fe-EDTA$  の挙動は Sunda and Huntsman (2003) に従った。本研究では、散気する空気の  $CO_2$  濃度を約 200, 380, 600, 800 ppm の 4 段階、 $Fe'$  の濃度を約 5, 10, 20, 50,  $100 \text{ pmol L}^{-1}$  の 5 段階、都合 20 実験区を設定した。各実験区は 2 連とし、40 本のボトルで培養を行った。実験に用いた珪藻は、*Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima* であり、温帯の沿岸から比較的外洋域まで存在する汎存種である。

鉄濃度の増加に伴う細胞の増大が観測されたので、細胞当たりの元素量と比増殖速度の積を細胞表面積で除すことにより標準化した、細胞表面積当たりの見かけの栄養の取り込み速度の結果を示す (Fig. 4a and 4b)。表面積当たりの見かけの栄養 (ケイ素と窒素) の取り込み速度は、主に鉄濃度の増加と共に有意に上昇する傾向があり、さらに  $CO_2$  の増加と共に減少する傾向もみられた

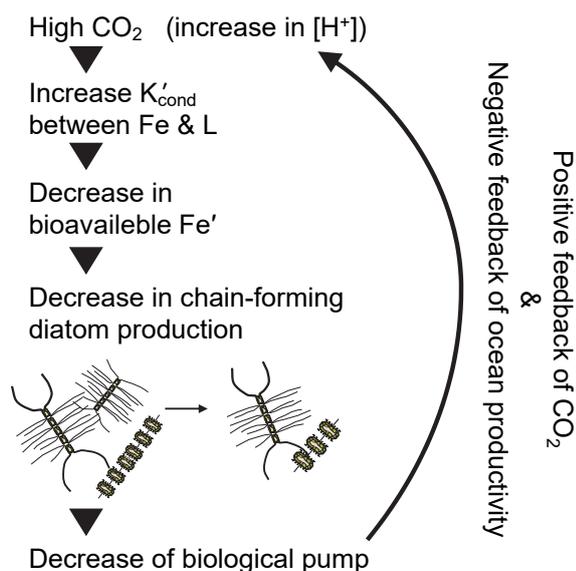
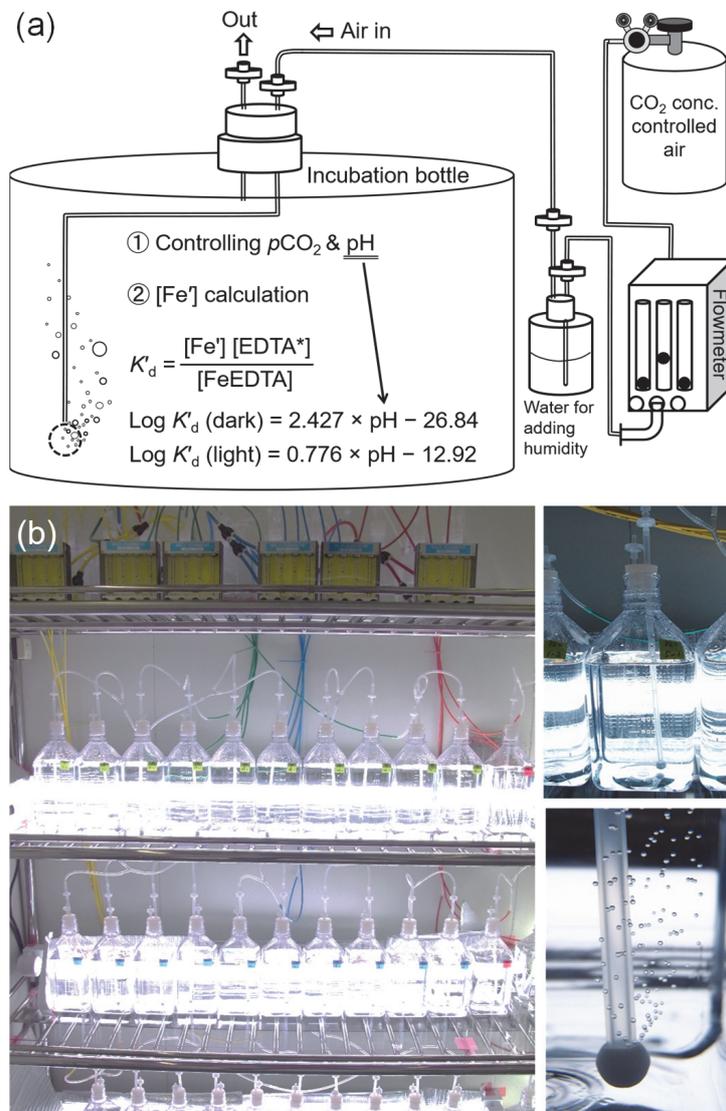


Fig. 2. Schematic diagram of the results and implication of the impact of ocean acidification on the Bering Sea phytoplankton community.

(Fig. 4a and 4b). 実験を行った条件では、ケイ素と比較して窒素の変化率が大きく、その見かけの取り込み比の Si:N 比 (= 粒子状の Si:N 比) は、鉄濃度の低下により上昇し、CO<sub>2</sub> の増加で低下する傾向 ( $\text{Si:N} = 0.40 \times p[\text{Fe}'] - 3.5 \times 10^{-4} \times p\text{CO}_2 - 2.77$ ;  $F_{2,37} = 139$ ,  $p < 0.001$ ,  $R^2 = 0.88$ ) がみられた。p[Fe'] および CO<sub>2</sub> の標準化係数は、それぞれ 0.95 および -0.30 であり、実験を行った範囲内において CO<sub>2</sub> 影響は鉄と比較して小さかった (Fig. 4c).

以上の結果より、Si:N 比を大きく変える要因は Fe' であり、CO<sub>2</sub> 単独の変化ではないことが明らかとなった。すなわち、ベーリング海で見られた、鉄制限下における CO<sub>2</sub> の上昇が群集全体の Si:N

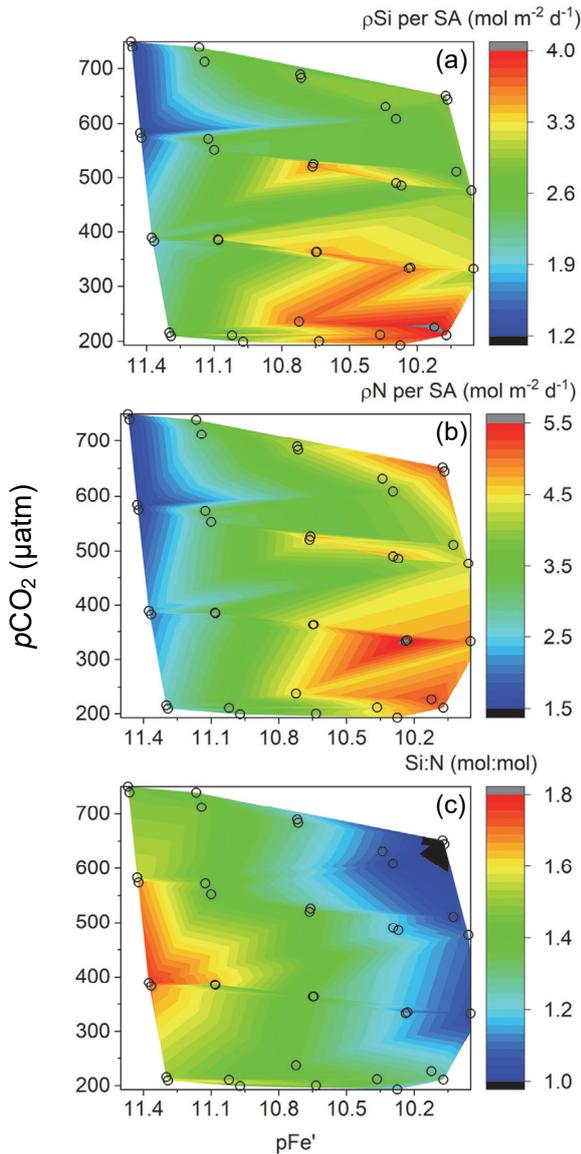
比を上昇させていた要因は、Fe' の減少である可能性が考えられた。pH の低下により条件付き錯安定度が上昇する有機配位子は、金属-有機配位子錯体からカルシウムイオンなどとの交換反応において金属が外れる際に水素イオンを放出するタイプと考えられる (Shi et al., 2010)。ベーリング海での実験時に存在していた有機配位子は EDTA のような非プロトン化した配位結合により鉄と結合していたと考えられる。今後は、現状では困難ではあるが、海水中の有機配位子の構造を把握することで、HNLC 海域における海洋酸性化の影響に対する理解を深化させることができるであろう。



**Fig. 3.** (a) Schematic diagram of culture system using CO<sub>2</sub> concentration controlled air, Fe(III) and EDTA manipulating pCO<sub>2</sub>, pH and bioavailable dissolved inorganic Fe (Fe') concentration. (b) Pictures of culture.

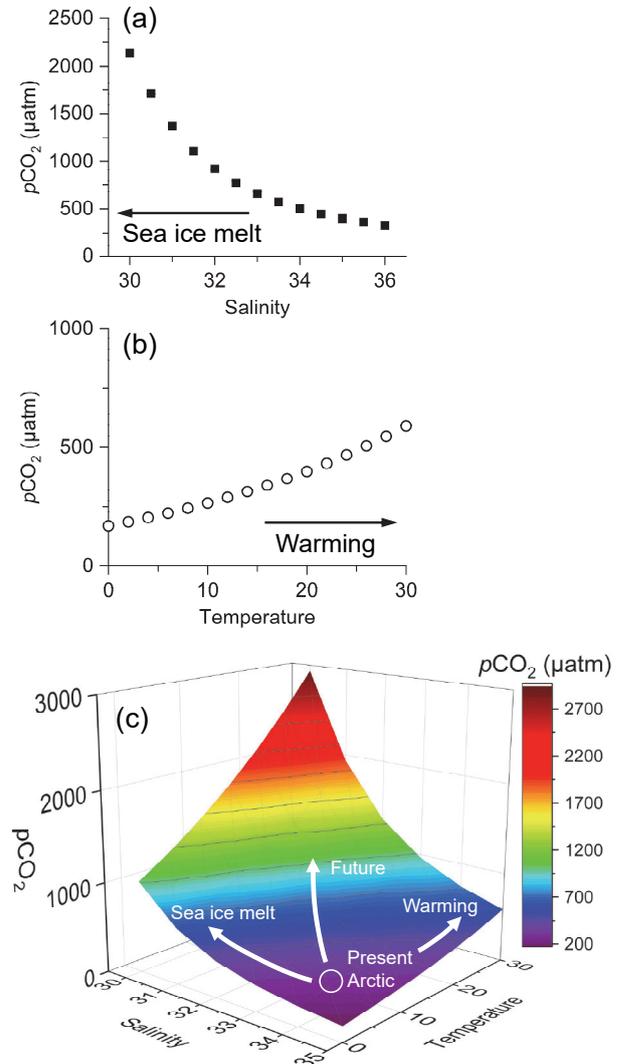
## 北極海での複数環境ストレス培養実験

人為起源の環境変化は、緯度により差があることが知られている。北極海の温暖化は全球平均の約2倍で進行しており、急速な温暖化傾向は今後も続くと考えられている (Overland et al., 2014)。また極域における昇温は、氷の融解を引き起こすため、海水の塩分は甘くなる。全炭酸とアルカリ度が一定の場合、融氷（塩分の低下）と昇温は、



**Fig. 4.** Net uptake rate per unit surface area (SA) of (a) silicon and (b) nitrogen, and (c) biogenic silica to particulate nitrogen ratio (Si:N) in *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima* culture under different  $-\log[\text{Fe}']$  and  $p\text{CO}_2$  ( $\mu\text{atm}$ ). Open circles represent the data points of the culture experiment. Figures were reconstructed from the selected data of Sugie and Yoshimura (2013) J. Phycol.

どちらも海水の  $p\text{CO}_2$  を上昇させる (Fig. 5a and 5b). 両方が同時に起これば、相乗効果によって  $p\text{CO}_2$  は急上昇する計算となる (Fig. 5c). 複数環境ストレスが生態系に及ぼす影響について把握することは、生態系の理解の深化と将来予測の高度化に繋がるだけでなく、今後の環境政策にも役立つ

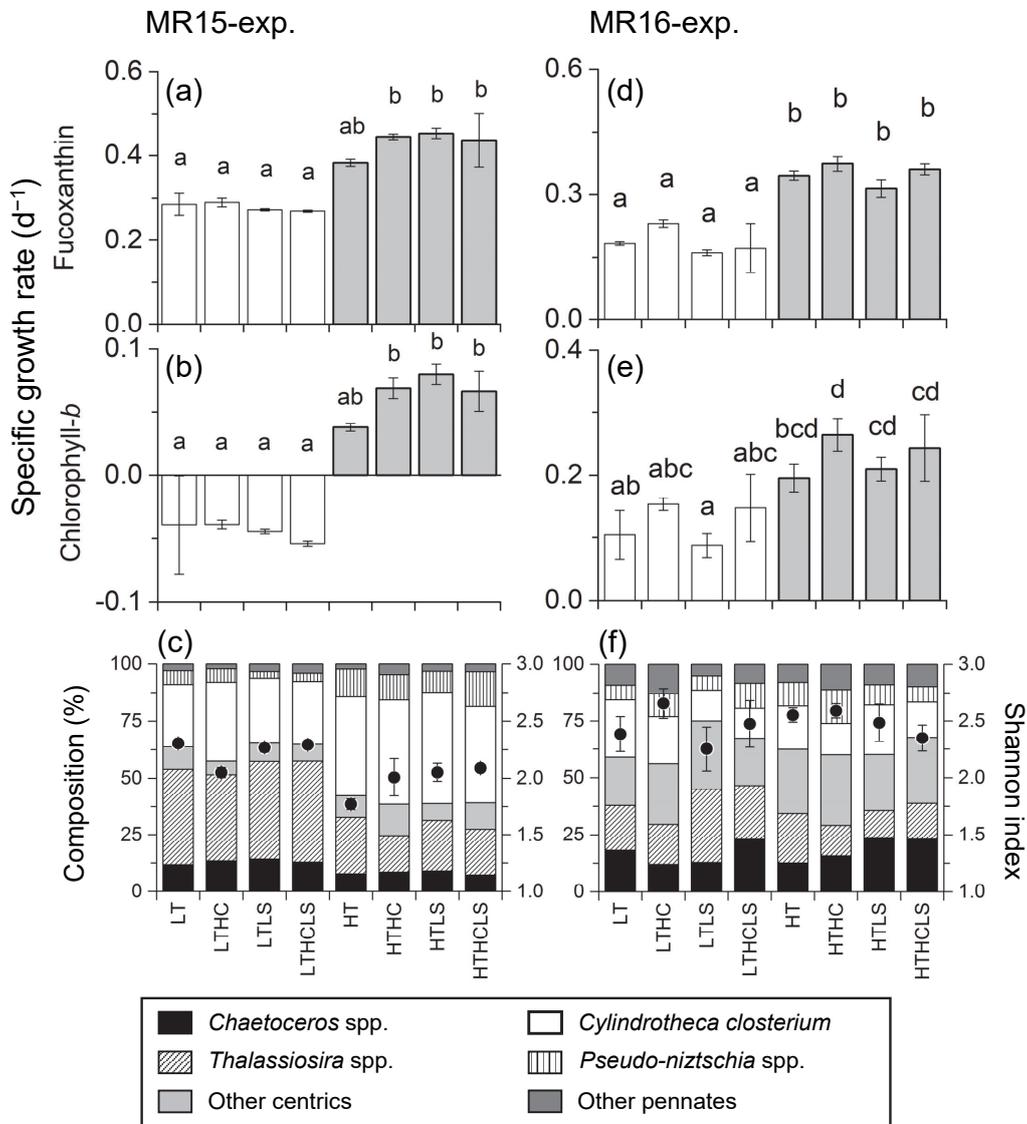


**Fig. 5.** Change in  $p\text{CO}_2$  level under different (a) salinity, (b) temperature, and (c) both salinity and temperature conditions. Reference values of seawater used in this estimation are salinity of 35, temperature of  $20^\circ\text{C}$ ,  $p\text{CO}_2$  of  $400 \mu\text{atm}$ , dissolved inorganic carbon of  $2104 \mu\text{mol kg}^{-1}$ , total alkalinity of  $2381 \mu\text{mol kg}^{-1}$ , phosphate of  $1.0 \mu\text{mol kg}^{-1}$ , and silicic acid of  $10 \mu\text{mol kg}^{-1}$ . In the case of salinity change, total alkalinity was estimated with the function of salinity using the following formula:  $\text{Total alkalinity} = 58.44 \times \text{salinity} + 335.5$  (modified from Yamamoto-Kawai et al. 2005 by using on-board data during MR15-03 R/V Mirai cruise).

つ急務の課題である。

本研究では、北極海における昇温、海洋酸性化、低塩化の3つの環境ストレスがプランクトン群集に及ぼす影響を調べるために、対象区 (LT), 高CO<sub>2</sub>区 (LTHC), 低塩区 (LTLS), 高CO<sub>2</sub>低塩区 (LTHCLS), 高水温区 (HT), 高水温高CO<sub>2</sub>区 (HTHC), 高水温低塩区 (HTLS), 高水温高CO<sub>2</sub>低塩区 (HTHCLS) の8実験区を設け、個別の影響と複合影響を網羅的に調査することを目的とした (Sugie et al., 2020). 昇温によるpCO<sub>2</sub>上昇は、0.1 N NaOH 水溶液によるアルカリ度の

上昇や添加する二酸化炭素の量を変えることで相殺しLTと同レベルにした. LS実験区における酸性化の調整は、淡水添加によるアルカリ度の低下分を培養系に添加する二酸化炭素の量により調整した. 実験は、海洋地球研究船「みらい」MR15-03およびMR16-06次航海において実施した. ここでは、植物プランクトン群集の動態の結果として珪藻類の指標となる補助色素の fucoxanthin (fuco), 緑藻・プラシノ藻類の指標補助色素の chlorophyll-*b* (chl-*b*), および検鏡による珪藻の種・属レベルでの組成の結果を示す



**Fig. 6.** Specific growth rate of (a) and (d) fucoxanthin, (b) and (e) chlorophyll-*b*, and (c) and (f) species composition of diatoms during the experiment of (a)–(c) MR15-04 and (d)–(f) MR16-06 cruises, respectively. Letters above the bars represent statistical results of groups with Tukey-Kramer t-test. Figures were reconstructed from the selected data of Sugie et al., (2020) Front. Mar. Sci.

(Fig. 6). MR15-03 では, fuco および chl-*b* を有する藻類の比増殖速度は昇温により有意に加速した (Fig. 6a and 6b). HT の系列において群体を形成しない *Cylindrotheca closterium* の優占度の上昇と群体を形成する *Thalassiosira* 属の減少によって多様性指数の Shannon index の減少が観察された. MR16-06 では, fuco を有する藻類の増殖は昇温によって加速した一方で, chl-*b* を有する藻類の増殖は昇温と酸性化の両方によって加速していた. Chlorophyll-*a* のサイズ分画分析およびフローサイトメトリーの結果から, chl-*b* を有する藻類は, 2  $\mu\text{m}$  以下のピコ真核藻類であった. 珪藻の多様性は, 塩分の低下によって低下する傾向が見られたが, LT 区と HT 区および CO<sub>2</sub> 無添加区と HC 区において LS に応答する分類群が異なったため, 特定の分類群が多様性に影響を与えたわけではなかった (Fig. 6f).

MR15-03 および MR16-06 の両実験で得られた複数環境ストレスの影響は異なる部分が多かったが, 群体を形成する珪藻の減少 (MR15-03) および珪藻以外の小型の藻類の増加 (MR16-06) とい

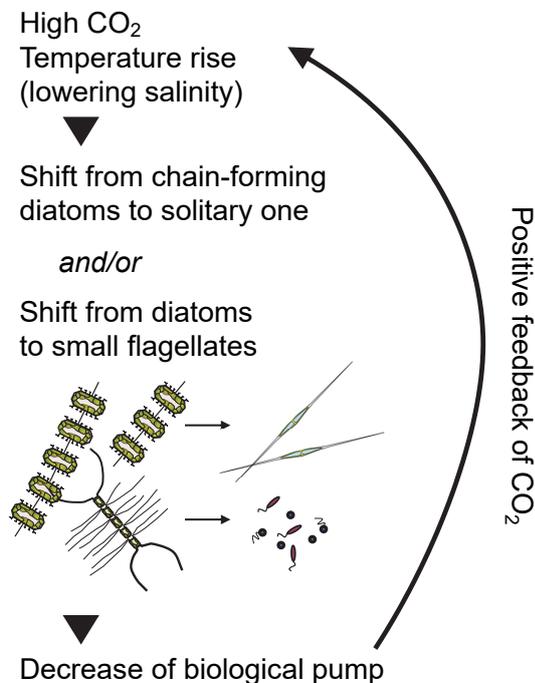


Fig. 7. Schematic diagram of the results and implication of the impact of ocean acidification, temperature rise, and freshening on western Arctic phytoplankton communities.

う結果がもたらす生態学的な示唆は同調的といえる (Fig. 6). すなわち, 二酸化炭素の増加に伴う温暖化は, 北極海の生物ポンプを弱体化させ, 大気二酸化炭素濃度に対する正のフィードバック作用を示唆している (Fig. 7).

## おわりに

大気二酸化炭素濃度が増加することで引き起こされる数々の環境変化は, 大型の珪藻にとって不利に働く可能性がベーリング海と北極海の実験において共通して観察された. 北太平洋, 大西洋および南大洋などのその他の海域の外洋や沿岸域においても, 昇温や二酸化炭素, それぞれ単独での増加や, 温度と二酸化炭素の相乗効果によって小型の藻類が優占しやすくなる可能性が指摘されている (Feng et al., 2009; Meakin and Wyman, 2011; Yoshimura et al., 2014; Davidson et al., 2016; Schulz et al., 2017). すなわち, 大気二酸化炭素濃度の上昇は, 海洋の高次栄養段階生物の繁殖率や生残率に直接的に影響を及ぼすだけでなく (例えば, Mayor et al., 2015; Thor et al., 2018), 植物プランクトンの群集構造の変化を通じた間接影響も受ける可能性を示唆する.

海水中の二酸化炭素分圧は, 海水温や植物プランクトン生産の盛衰の季節性によって大きく変わり, 海域によっては 1000  $\mu\text{atm}$   $p\text{CO}_2$  を遥かに超える. そのため, 季節変化と比較して緩慢な人為起源の二酸化炭素濃度上昇に伴う海洋酸性化の影響は顕著ではないだろう, というのが著者の研究を始めた当初の感覚であった. しかしながら, 2~300  $\mu\text{atm}$  程度の二酸化炭素濃度の上昇によって植物プランクトンの群集組成や生元素組成比を変えることが明らかになった. 今では, 環境中の二酸化炭素は, 水温や栄養塩と同様に植物プランクトン動態を変化させ得る基礎的なパラメータの内の一つという認識に変わった. 今後も多角的な視野で大気二酸化炭素濃度の上昇に起因する環境変化が生態系に与える影響について精査する必要がある.

## 謝辞

この度は海洋化学研究所海洋化学奨励賞の受賞の栄誉を授かり、選考に携わった皆さまには心より御礼申し上げます。(財)電力中央研究所に特別契約研究員として入所し、芳村毅博士(現在:北海道大学)と共に海洋酸性化と鉄の相互作用が藻類に及ぼす研究に携わったことが、現職での複数環境ストレスと生態系プロセスの諸過程に及ぼす影響に関する研究に直結した。(財)電力中央研究所並びに(国研)海洋研究開発機構において自由な研究の場を提供して下さる皆さまには、感謝の念に堪えません。また、さまざまな船舶での観測において安全かつ円滑な調査航海は、本研究および今後の研究活動において必須であり、各船舶の士官並びに船員の皆さま、観測技術員の皆さまに厚く御礼申し上げます。

## 参考文献

Arnosti, C. (2010) Microbial extracellular enzymes and the marine carbon cycle. *Annual Review of Marine Science*, 3, 401–425.

Davidson, A.T., McKinlay, J., Westwood, K., Thomson, P.G., van den Enden, R., de Salas, M., Wright, S., Johnson, R. and Berry, K. (2016) Enhanced CO<sub>2</sub> concentrations change the structure of Antarctic marine microbial communities. *Marine Ecology Progress Series*, 552, 93–113.

Doney, S.C., Fabry, V.J., Feely, R.A., and Kleypas J.A. (2009) Ocean acidification: The other CO<sub>2</sub> problem. *Annual Review of Marine Science*, 1, 169–192.

Endo, H., Sugie, K., Yoshimura, T. and Suzuki, K. (2015) Effects of CO<sub>2</sub> and iron availability on *rbcL* gene expression in Bering Sea diatoms. *Biogeosciences*, 12, 2247–2259.

Feng, Y., Hare, C.E., Leblanc, K., Rose, J.M., Zhang, Y., DiTullio, G.R., Lee, P.A., Wilhelm,

S.W., Rose, J.M., Sun, J., Nemcek, N., Guenguen, C., Passow, U., Benner, I. and Hutchins, D.A. (2009) Effects of increased pCO<sub>2</sub> and temperature on the North Atlantic spring bloom. I. The phytoplankton community and biogeochemical response. *Marine Ecology Progress Series*, 388, 13–25.

Mayor, D.J., Sommer, U., Cook, K.B., Viant, M.R. (2015) The metabolic response of marine copepods to environmental warming and ocean acidification in the absence of food. *Scientific Report*, 5, 13690.

Meakin, N.G. and Wyman, M. (2011) Rapid shifts in picoeukaryote community structure in response to ocean acidification. *ISME Journal*, 8, 1953–1961.

Morel, F.M.M., Kustka, A.B. and Shaked, Y. (2008) The role of unchelated Fe in the iron nutrition of phytoplankton. *Limnology and Oceanography*, 53, 400–404.

Overland, J.E., Wang, M., Walsh, J.E. and Stroeve, J.C. (2014) Future Arctic climate changes: adaptation and mitigation time scales. *Earth's Future*, 2, 68–74.

Schulz, K.G., Bach, L.T., Bellerby, R.G.J., Bermúdez, R., Büdenbender, J., Boxhammer, T., Czerny, Engel, A., Ludwig, A., Meyerhöfer, M., Larsen, A., Paul, A.J., Sswat, M. and Riebesell, U. (2017) Phytoplankton blooms at increasing levels of atmospheric carbon dioxide: experimental evidence for negative effects on Prymnesiophytes and positive on small picoeukaryotes. *Front. Mar. Sci.*, 4, 64. doi:10.3389/fmars.2017.00064.

Shi, D., Xu, Y., Hopkinson, B.M. and Morel, F.M.M. (2010) Effect of ocean acidification on iron availability to marine phytoplankton. *Science*, 327, 676–679.

杉江恒二, 芳村毅 (2011) 海洋酸性化が植物プラ

- ンクトン動態および物質循環に及ぼす影響.  
海の研究, 20, 101-148.
- Sugie, K. and Yoshimura T. (2013) Effects of  $p\text{CO}_2$  and iron on the elemental composition and cell geometry of the marine diatom *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima* (Bacillariophyceae). *Journal of Phycology*, 49, 475-488.
- Sugie, K., Endo, H., Suzuki, K., Nishioka, J., Kiyosawa, H. and Yoshimura, T. (2013) Synergistic effects of  $p\text{CO}_2$  and iron availability on nutrient consumption ratio of the Bering Sea phytoplankton community. *Biogeosciences*, 10, 6309-6321.
- Sugie, K. and Yoshimura T. (2016) Effects of high  $\text{CO}_2$  levels on the ecophysiology of the diatom *Thalassiosira weissflogii* differ depending on the iron nutritional status. *ICES Journal of Marine Science*, 73, 680-692.
- 杉江恒二 (2018) —2017年度日本海洋学会岡田賞受賞記念論文— 植物プランクトン動態および生元素循環に対する海洋酸性化の影響評価. *海の研究*, 27, 125-140.
- Sugie, K., Fujiwara, A., Nishino, S., Kameyama, S., and Harada, N. (2020) Impacts of temperature,  $\text{CO}_2$ , and salinity on phytoplankton community composition in the western Arctic Ocean. *Frontiers in Marine Science*, 6, 821. doi:10.3389/fmars.2019.00821
- Sunda, W. and Huntsman, S. (2003) Effect of pH, light, and temperature on Fe-EDTA chelation and Fe hydrolysis in seawater. *Marine Chemistry*, 84, 35-47.
- Takeda, S. (1998) Influence of iron availability on nutrient consumption ratio of diatoms in oceanic waters. *Nature*, 393, 774-777.
- Thor, P., Bailey, A., Dupont, S., Calosi, P., Søreide, J.E., Wit, P.D., Guscetti, E., Loubet-Sartrou, L., Deichmann, I.M., Candee, M.M., Svensen, C., King, A.L., and Bellerby, R.G. (2018) Contrasting physiological responses to future ocean acidification among Arctic copepod populations. *Global Change Biology*, 24, e365-e377.
- Yamada, N. and Suzumura, M. (2010) Effects of seawater acidification on hydrolytic enzyme activities. *Journal of Oceanography*, 656, 233-241.
- Yamamoto-Kawai, M., Tanaka, N. and Pivovarov, S. (2005) Freshwater and brine behaviors in the Arctic Ocean deduced from historical data of  $\delta^{18}\text{O}$  and alkalinity (1929-2002 A.D.). *Journal of Geophysical Research*, 110, doi:10.1029/2004JC002793.
- Yoshimura, T., Sugie, K., Endo, H., Suzuki, K. and Nishioka, J. (2014) Organic matter production response to  $\text{CO}_2$  increase in open subarctic plankton communities: Comparison of six microcosm experiments under iron-limited and -enriched bloom conditions. *Deep-Sea Research I*, 94, 1-14.