

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 9月 19日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21310013

研究課題名（和文）

CO₂濃度上昇による海洋酸性化が魚類の初期発生と成長に及ぼす影響

研究課題名（英文）

Effect of ocean acidification due to increasing seawater CO₂ concentration on early development and growth of fishes

研究代表者

石松 惇（ISHIMATSU ATSUSHI）

長崎大学・大学院水産・環境科学総合研究科・教授

研究者番号：00184565

研究成果の概要（和文）：本研究では、モデル魚種としてクマノミ（*Amphiprion clarkii*）・カクレクマノミ（*A. ocellaris*）およびジャワメダカ（*Oryzias javanicus*）の3種を用いた。クマノミ・カクレクマノミについては、CO₂と水温上昇が胚発生に及ぼす影響について検討した。ジャワメダカについては、長期CO₂曝露が親魚の成長・生残および再生産に及ぼす影響について検討した。クマノミ・カクレクマノミ胚ともに、1000ppmCO₂曝露が発生に及ぼす有意な影響は認められなかった。しかし、高水温で飼育した場合、クマノミでは生残率の低下・奇形の発生が認められた。カクレクマノミでは全くその様な影響は見られなかった。ジャワメダカについては、1000ppmのCO₂環境は、測定した全ての項目（生残率・成長・酸素消費量・酸排泄量・産卵数・孵化仔魚サイズ等）に関して有意な影響を与えなかった。

研究成果の概要（英文）：Two species of clownfish (*Amphiprion clarkii* and *A. ocellaris*) and a minnow (*Oryzias javanicus*) was used in this project to investigate effects of elevated CO₂ and temperature rise on early development (*A. clarkii* and *A. ocellaris*) and effects of long-term exposure to elevated CO₂ on growth and reproduction (*O. javanicus*). Embryos of both clownfish species developed normally under 1000 ppm CO₂ conditions. Rearing at elevated temperature (31, 32°C vs 29°C) resulted in significantly lower survival and enhanced deformity in *A. clarkii*, although these negative effects were not observed in *A. ocellaris*. Long-term exposure of *O. javanicus* to 1000 ppm CO₂ did not exert any significant negative impacts on all parameters studied (survival, growth, oxygen uptake rate, acid excretion rate, fecundity, and the size of just hatched larvae).

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
21年度	10,300,000	3,090,000	13,390,000
22年度	2,200,000	660,000	2,860,000
23年度	2,100,000	630,000	2,730,000
年度			
年度			
総計	14,600,000	4,380,000	18,980,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・環境動態解析

キーワード：生物海洋・海洋酸性化

1. 研究開始当初の背景

海洋酸性化は2004年のUNESCO シンポジウム

“The Ocean in a High-CO₂ World”以降、地球環境と生態系に及ぼす潜在的影響が強い関心をよび、欧米を中心として研究が爆発的に進行し始めた。海洋酸性化は生物石灰化に強い影響を与えることから、サンゴや円石藻を用いた研究が数多く行われてきた (Fabry et al. 2008, ICES J Mar Sci 65, 414-32)。しかし他の生物群を用いた研究は僅かで、我々の二枚貝の初期発生、エビの成長・生残・成熟に関する長期

(30 週間)影響、カイアシ類の再生産と世代を越えた影響、ウニの初期発生に与える影響論文は、この分野での先駆的研究として世界に認められている。また、我々は温暖化対策としてのCO₂ 海洋隔離のリスク評価の一環として、数万ppmのCO₂が魚類に与える急性致死影響とその機構を解明してきた。しかし、上述のように1000 ppm以下のCO₂ が海産魚類に与える影響については、現時点では全くわかっていない。

我々は海洋酸性化が無脊椎動物の初期発生と成長に深刻な影響を及ぼすことを明らかにしてきたが、今回の申請に先立って実施した文献調査 (調査論文総数113 編)の結果、予測される今世紀末の大気中CO₂ 濃度 (560-1000 ppm, IPCC 2007) が海産魚類に与える影響を調査した実験例は皆無であることが判明した (表1)。これは海洋酸性化の生態系影響を予測する上で、決定的な知見の欠陥であり、CO₂ が海産魚類に及ぼす影響を網羅的かつ緊急に解明する必要がある。

表 1 CO₂ が魚類に及ぼす影響についての文献調査結果 (1969-2008 年)

CO ₂	<10 ³ (1)	10 ³ -10 ⁴ (60)	10 ⁴ -10 ⁵ (44)	>10 ⁵ (8)
期間	<1 (52)	1-4(27)	4-10(3)	>10(18)

CO₂濃度 (ppm), 実験期間 (日)。括弧内の数値は論文数。

2. 研究の目的

本研究では、大気中CO₂濃度の上昇が引き起こす海洋酸性化が海産魚類の初期発生と成長に及ぼす影響を解明することを目的とする。より具体的には、今世紀末に想定されるCO₂濃度 (560-1000 ppm) が海産魚類の孵化率・生残率および成長率、耳石などの器官形成、および遊泳運動に及ぼす影響を明らかにする。さらに、CO₂影響機構の解明のため、初期発生段階における代謝速度、イオン調節能、酸塩基平衡調節、酸排出能などへの影響について検討する。

3. 研究の方法

平成 21 年度

モデル生物として、海産のジャワメダカ、クマノミおよびカクレクマノミを用いて、飼育条件の検討と産卵数と初期発生に及ぼす影響を検討した。ジャワメダカを用いた実験では、1.5L 容のペットボトルを加工してペア飼育容器を作成した。毎日換水を行い、31 週間飼育を行った。対照区の海水は外気 (CO₂ 380 ppm) で、実験区海水は 1000ppm (IPCC による予測モデルの中の一つ A1FI で 21 世紀末に予測される大気中 CO₂ 濃度) に CO₂ 濃度を上昇させた空気で曝気した。対照区・実験区ともに7ペアを実験に供した。クマノミ・カクレクマノミを用いた実験では、サンゴ礁で採集したペア個体から得られた受精卵を、29、31 および 32℃で外気および 1000 ppm の CO₂ 濃度の空気で曝気して、初期発生に CO₂ と温度上昇が及ぼす影響について検討した。

平成 22 年度

クマノミおよびカクレクマノミの初期発生に及ぼす生理的影響を室内実験および野外調査により検討した。

【胚実験】クマノミおよびカクレクマノミの受精卵を CO₂ 分圧 380 (現在) および 1,000 μatm、水温を 28 から 32 °C に調整した海水中で孵化直前まで飼育し、生残を確認した。受精後 46、96、144 時間後に胚発生および耳石の形態を観察した。

【仔魚実験】クマノミの孵化直後の仔魚を CO₂ 分圧 380 および 1,000 μatm、水温を 28、30 および 31 °C

に調整した海水中で飼育し、日齢 3、6、9、11 日に体長・体重の測定、および耳石の観察を行った。

【稚魚実験】クマノミおよびカクレクマノミの孵化後 3 ヶ月の稚魚を水温 27、29、31、33、35 および 37 °C で飼育し酸素消費量を測定した。

【野外調査】野外でのクマノミおよびカクレクマノミ胚の経験水温を記録するため、各 1 対の産卵ペア一付近に水温ロガーを 7 月～10 月まで設置した。

平成 23 年度

【CO₂ 慢性影響実験】

平成 21 年度のジャワメダカ長期曝露実験において、CO₂ 曝露開始後に斃死する個体が多く、十分な数の稚魚を得ることができなかったため、世代を超えた実験を行うことが困難であると判断された。従って、飼育条件を変更し再度長期曝露実験を開始した。この実験では飼育容器を含めた設備を改良し、雌雄 10 ペアずつを流水条件で 3 週間ペア飼育し、平成 21 年度と同様の検討を行った。

【塩類細胞形態観察】

淡水および海水に馴致したジャワメダカに 48 時間の CO₂ 曝露 (pCO₂ = 20000 μatm) を行い、0、6 および 48 時間後に鰓を採取し、鰓の塩類細胞の走査電子顕微鏡観察ならびに、Na⁺/K⁺-ATPase、Cl⁻-channel、Na⁺/H⁺-exchanger 3 および Na⁺/K⁺/2Cl⁻-cotransporter 1 に対する免疫染色を行い、共焦点レーザーสキャン顕微鏡を用いて観察した。

4. 研究成果

平成 21 年度

【ジャワメダカ】

7 ペアのうち継続的に産卵したのは対照区で 2 ペア、実験区で 1 ペアであった。両区間で、産卵数、受精卵数、受精率、孵化率、孵化するま

での日数及び孵化時の仔魚の全長に有意差はなかった。また親魚の斃死率・酸素消費量および酸排出量にも有意差は見られなかった。従って、海洋酸性化が本種の産卵と初期発生に及ぼす影響は、無脊椎動物と比べて弱いと考えられる。しかし、今回の飼育環境下では、馴致期間中に比べて実験水槽内で継続的に産卵したペア数が少なかったため、実験条件の改善が必要である。

【クマノミ・カクレクマノミ】

水温 29 °C、CO₂ 分圧 1000 μatm (大気圧下の気相においては 1000 ppm に等しい) に曝露されたクマノミ胚の心拍数は受精後 96 h には対照区 (CO₂ 380 μatm、水温 29 °C) に比べて高くなる傾向がみられ、その後は不整脈が観察された。高水温 (31 及び 32 °C) 下で飼育された胚は、CO₂ 分圧に関わらず、46 時間の時点で胚の形態に異常が見られる奇形個体が多く観察され、対照区より低い生存率を示した。一方、カクレクマノミ孵化稚魚においては、水温や高 CO₂ による形態、成長、生存率に対する影響は観察されなかった。クマノミの孵化仔魚においては、形態、成長、生存率に対する CO₂ 分圧の影響は観察されなかった。以上の結果より、クマノミ種間での温度耐性には差があり、特にクマノミ胚は水温及び CO₂ の上昇による影響を受けやすい事が明らかになった。本実験の結果は、100 年後に予測される海洋環境がクマノミの初期発生に影響を与える可能性を示唆している。

平成 22 年度

受精後 46h におけるクマノミ胚は、CO₂ 分圧に関わらず、奇形個体が 29 °C では 0 % であったのに対し、31 °C では 50 %、32 °C では 67 % 観察された。一方、カクレクマノミ胚について、水温による影響は見られなかった。クマノミ仔魚は、水温上昇と共に成長が早くなる傾向が見られ、CO₂ の影響は観察されなかった。クマノミおよびカクレクマノミ稚魚の酸素消費量は、それぞれ 31 °C と 29 °C で最大となり、限界水温は 36 °C であった。以上の結果より、クマノミ類は種間での温度耐性に差があり、クマノミ胚が正常に発

生する限界水温は 30℃ であると考えられる。沖縄本島沿岸では、既に水温が 30℃ を超える日が観察されることから、今後さらに温暖化が進行した場合、クマノミ個体群が大きく影響を受ける可能性が予測される

平成23年度

【CO₂ 慢性影響実験】ジャワメダカのペア飼育開始後 5 週の時点で、平成 21 年度の長期曝露実験では両区合わせて 28 個体中 24 個体 (86%) が生残したのに対し、本年度の長期曝露実験では 5 週間のうちに 40 個体中 39 個体 (98%) が生残した。また、産卵に関して平成 21 年度長期曝露実験と同様に両区においてペア間の差異が大きいものの、本年度の長期曝露実験ほぼ全てのペアが産卵を継続していることから、飼育条件の改善が見られ、本種を用いた世代を超えた長期 CO₂ 曝露実験が可能になったと考える。

すべての測定項目について CO₂ 曝露による明白な影響は見られなかった。曝露開始後3週の時点で産卵を継続しているペアは両区において 9 ペアで、産卵数は両区ともにペア間で大きく変動した。

【塩類細胞形態観察】塩類細胞の形態に CO₂ 曝露による顕著な変化はみられなかったが、海水馴致個体では CO₂ 曝露により Cl⁻-channel および Na⁺/K⁺/2Cl⁻- cotransporter 1 に対する免疫染色の染色強度が増加する傾向がみられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

- ① Kikkawa, T., Y. Minowa, Y. Nakamura, J. Kita and A. Ishimatsu (2010) Swimming inhibition by elevated CO₂ in the ephyrae of the scyphozoan jellyfish, *Aurelia aurita*. *Plankton & Benthos Res.* 5: 119-122.

- ② Dissanayake A. and A. Ishimatsu (2011) Synergistic effects of elevated CO₂ and temperature on the metabolic scope and activity in a shallow-water coastal decapod (*Metapenaeus joyneri*) (Crustacea: Penaeidae). *ICES J. Mar. Sci.*, 68: 1147-1154.

[学会発表] (計 13 件)

- ① 栗原晴子・川口 創・石松 惇・殷 瑞・浅井貴匡・福田適子 (2009) 海洋酸性化が水産生物にもたらす影響。日本水産学会春季大会、3月26-31日、東京海洋大学。
- ② 石松 惇 (2009) 海洋動物の酸素・二酸化炭素環境への適応に関する研究。日本水産学会春季大会、3月26-31日、東京海洋大学。水産学進歩賞授賞記念講演。
- ③ 福田適子・栗原晴子・石松 惇 (2009) 海洋酸性化と温暖化がクマノミ(*Amphiprion clarkii*)の初期発生に及ぼす影響。日本サンゴ礁学会、11月27～29日、本部町中央公民館。
- ④ A. Ishimatsu (2010) Effects of projected ocean environmental changes on marine organisms – Ocean acidification and warming-. National Seminar of Basic Science on “Eco-Friendly Technology and Policy on Industrial and Regional Planning for Mitigation of Climate Change”. February 20, Brawijaya University, Indonesia
- ⑤ A. Ishimatsu (2009) Recent advance in ocean acidification research: its biological impact on marine organisms. The 7th International Workshop on the Oceanography and Fisheries Science of the East China Sea, December 4-5, Shanghai Ocean University, China.
- ⑥ A. Ishimatsu and H. Kurihara (2010) Effects of CO₂-induced ocean environmental changes on marine life –Implications for aquaculture –. SEAFDEC Regional Forum “Regional Technical Consultation for Sustainable Aquaculture in Southeast Asia towards 2020”. March 17-19, Bangkok, Thailand

- ⑦ A. Ishimatsu, A. Fukuda and H. Kurihara (2010) Effects of CO₂-driven ocean acidification and warming on early development of fish. International Symposium “Climate Change Effects on Fish and Fisheries”. April 26-29, Sendai, Japan.
- ⑧ H. Kurihara, Y. Hiratsuka, T. Asai, A. Ishimatsu, L. Parker and P. Ross (2010) Geographically distinct populations are similarly impacted by the ocean acidification? (Oyster as a case study). International Symposium “Climate Change Effects on Fish and Fisheries”. April 26-29, Sendai, Japan.
- ⑨ 福田適子・石松 惇・栗原晴子(2010) CO₂濃度の上昇に伴う環境変動がクマノミ類に及ぼす生理的影響。日本サンゴ礁学会、12月2～5日、つくば市。
- ⑩ A. Ishimatsu (2011) Impacts on fishes, life histories, and evolutionary responses. IPCC WGI/WGII Workshop “Impacts of Ocean Acidification on Marine Biology and Ecosystems”. Jan. 16-19, Okinawa, Japan.
- ⑪ A. Ishimatsu (2011) Combined impacts of ocean climate change on invertebrates: a synopsis. Seventh EGU Alexander von Humboldt International Conference on Ocean Acidification: Consequences for Marine Ecosystem. June 20-24, Penang, Malaysia.
- ⑫ 上岡聖也・金田康見・石松 惇 (2011) 海洋酸性化が魚類に与える慢性影響。日本水産学会、9月28～10月2日、長崎大学。
- ⑬ A. Ishimatsu (2011) Effects of ocean acidification and warming on coastal animals. The International Workshop on North-Pacific Coastal Marine Ecology and Environmental Conservation for 2012 Yeosu EXPO. December 15-17, Jeju, Korea

〔図書〕 (計 3 件)

- ① Ishimatsu, A. and A. Dissanayake (2010) Life threatened in acidic coastal waters. In: Coastal Environmental and Ecosystem Issues of the East China Sea, eds. A. Ishimatsu and H.-J. Lie, Terrapub, Tokyo, pp. 283-303.
- ② Pörtner, H.-O., M. Gutowska, A. Ishimatsu, F. Melzner and B. Seibel (2011) Effect of ocean acidification on nektonic organisms: fish and cephalopods. In: Ocean Acidification, eds. Gattuso J.P. and L. Hansson, Oxford University Press, Oxford, pp. 154-175.
- ③ Ishimatsu, A. and H. Kurihara (2011) Effects of CO₂-induced ocean environmental changes on marine life: implications for aquaculture. In: Sustainable Aquaculture Development for Food Security in Southeast Asia Towards 2020, eds., B. O. Acosta, R. M. Coloso, E. G. T. de Jesus-Ayson and J. D. Toledo, SEAFDEC/AQD, Iloilo, pp. 35-44.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 出願年月日：
 国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 取得年月日：
 国内外の別：

〔その他〕
 ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石松 惇 (ISHIMATSU ATSUSHI)

長崎大学・大学院水産・環境科学総合研究
科・教授

研究者番号：00184565

(2) 研究分担者

栗原 晴子 (KURIHARA HARUKO)

琉球大学・亜熱帯島嶼科学超域研究金推進
機構・特任助教

研究者番号：40397568

(3) 連携研究者

()

研究者番号：