

令和元年6月21日現在

機関番号：82706

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04961

研究課題名(和文)有殻翼足類の高精度観測：海洋酸性化に対する応答

研究課題名(英文)High-precision observations of biological responses of Thecosomata for the ocean acidification

研究代表者

木元 克典(KIMOTO, katsunori)

国立研究開発法人海洋研究開発機構・Yokosuka・主任技術研究員

研究者番号：40359162

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：海洋酸性化により大きな影響を受けるとされる海洋の動物プランクトン、有殻翼足類(ミジンウキマイマイ)について、北太平洋において総合的観測を実施した。有殻翼足類リマシナ・ヘリシナは北太平洋に広く分布しており、分子生物学的には1種のみであり、広かつ均質なジーンプールを有していることがわかった。また水深100m以浅に90%以上の生体が生息しており、観測を実施した夏季に幼体が多く表層で見られた。リマシナ・ヘリシナの作るアラゴナイトの殻密度をマイクロフォーカスX線CTにて詳細に計測した結果、冬季の低pH時に著しく減少していた。海洋酸性化によりこれらの殻密度が低下する可能性があることを初めて明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

人類活動に伴う大気中の二酸化炭素の増大は、海洋の炭酸系、すなわち炭素を中心とした化学平衡に深刻な影響をもたらす。海洋酸性化を引き起こすと同時に海洋生態系にも影響を及ぼす。持続可能な社会を確立するために、海洋生態系サービスの維持と継続観測は必須である。本研究では、有用魚種の餌でもある本種の殻密度が海洋酸性化によって最大37パーセントも著しく低下することを観測で初めて示した。北太平洋では本種が有殻翼足類の最優先種であることに加え、遺伝的分化も北大西洋と比べて乏しいため、環境変化の影響をより受けやすいことを強くサポートする結果となった。一刻も早くより一層の国際的な海洋酸性化対策が必要であるといえる。

研究成果の概要(英文)：Thecosomatous pteropod is one of the gastropods which has free-floating habitat in the open ocean. Their aragonite shell is rapidly dissolved under the ocean acidification (OA) condition. In this study, we performed the integrated observation for thecosomatous pteropod *Limacina helicina* to understand their distribution, ecology, phylogeny, and biological impact to OA. According to our study, their habitat is surface (shallower than 100m water depth) and they are widely distributing in the western North Pacific. The POI gene of *L. helicina* presented two Haprotypes between North Pacific and North Atlantic, and their gene were clearly separated. Bulk shell density (BSD) of *L. helicina* measured by Micro focus X-ray CT (MXCT) reached at 0.5g/cm³ and 1.7g/cm³ during winter and summer, respectively. It was realized that their BSD changed through the year, and it decreased under low pH (low omega) conditions. It indicates that large biological impact will be occurred under the OA conditions.

研究分野：海洋生物学

キーワード：海洋酸性化 有殻翼足類 ミジンウキマイマイ マイクロフォーカスX線CT 殻密度 遺伝的多様性 空間分布 地球温暖化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

人類活動に伴う大気中の二酸化炭素の増大は、地球を温暖化させるととどまらず、海洋の炭酸系、すなわち炭素を中心とした化学平衡に影響し、海洋酸性化を引き起こしている。海洋酸性化はすでに全海洋規模で進行中であり、観測可能なレベルでpHの低下が認められることから(IPCC, AR5, 2013)、持続可能な地球生態系の保全および利活用に向け、人類が取り組むべき最重要課題のひとつである。とくに水産資源量の応答の予測のためにはその食料となる動物プランクトンの動態を精密に観測し、海洋酸性化環境における振る舞いを明らかにする必要がある。しかしながら、現在の海洋酸性化研究のほとんどは沿岸域に限定されており、外洋域の動物プランクトンの動態についてはほとんど知られていない。

動物プランクトンの中でも海洋酸性化に最も敏感に反応すると考えられるアラゴナイト殻をもつ有殻翼足類は、終生遊泳生活を営む浮遊性巻貝であり、有用魚種の餌として重要である。炭酸カルシウム(CaCO₃)の極めて薄い殻を形成するが、海洋酸性化によりpHが低下すると、海水中の炭酸系の変化に伴いアラゴナイトに対する飽和度が低下するため殻が溶解すると予想されている(Orr et al. 2005; Bednarsek et al. 2012)。殻の溶解による翼足類の重量損失は、その生体そのものへのダメージだけでなく、浮力制御機能の不完全さに伴う生活環の擾乱により、本種の生産性への影響および絶滅の可能性が指摘される。しかし現場における翼足類の応答について、とくに太平洋ではこれらについての研究例が存在しなかった。

2. 研究の目的

本研究では北太平洋における本種の分布と遺伝的多様性、現場pH観測とその場に生息した有殻翼足類の殻密度を計測することで海洋酸性化との関連性を明らかにする総合研究を実施した。有殻翼足類の分布、生態、遺伝的多様性、そして酸性化への応答を明らかにするべく、以下の研究計画を策定した。

3. 研究の方法

- (1) 北太平洋に生息する有殻翼足類の分布を明らかにするため、北太平洋の各観測点よりプランクトンネット観測を実施し、有殻翼足類の時空間的分布を明らかにする(佐々木)。
- (2) 形態解析と分子生物学的研究を行い、経年変化と空間分布を明らかにする(清水)。
- (3) 高精度 pH ハイブリッドセンサーとセジメントトラップを、年間の pH 変動の大きい混合層内とその直下にそれぞれ係留し、海洋の炭酸系とそこに生息する翼足類の殻を同時に捕集することで、アラゴナイト殻の溶解と pH 変化との対応をこれまでにない精度で定量的に明らかにする(木元)。
- (4) 炭酸塩殻を有するプランクトンの殻密度計測のための汎用的な計測プロトコルを作成し、これを公開する(木元)。

4. 研究成果

(1)【北太平洋における有殻翼足類の空間分布】(佐々木)

北太平洋における分布を明らかにするため、この3年間においてベーリング海、天皇海山列、定点観測点 K2 および KNOT、そしてオホーツク海(紋別市沖)の4点で観測を行った。北太平洋は夏季以外のアクセスが困難であるため、研究の全期間を通して主に夏季の採取である。有殻翼足類は、北太平洋からオホーツク海、ベーリング海の有光層以浅に生存し、ほぼリマシナ・ヘリシナ(以下、*L. helicina*と表記、図1)のみに限られていた。殻の最大径の分布より、複数世代が水柱中に存在しており、いずれの海域でも200um以上の幼体(juvenile)よりも、200um以下の幼生(veliger)のほうが優勢していた。北太平洋では、同緯度帯の中規模渦内でありながら、それぞれの海域で生育の度合いが異なる海域もみられた。

一方、ベーリング海内部ではリマシナ・ヘリシナの生産は北太平洋よりも極めて低かった。

鉛直方向の分布では、水深500mよりも浅い水深で各層採取した結果、ほぼすべての海域で水深300mより浅い海域でのみ、生体がみられた。また分布の中心は水深100m以浅であり、それ以上深になると急激に生体の存在量を減少させることがわかった。

(2)【遺伝子と形態、および遺伝的多様性】(清水)

期間中に観測を実施したすべての海域で、*L. helicina*の形態、遺伝子及び遺伝的多様性を検討、解析した。成長解析と開口部の形態解析(EFDs)により、北太平洋の*L. helicina*は*L. helicina forma acuta* Spoel 1967に形態的に帰属する結果となった。COI遺伝子のパーシャルヌクレオチドシーケンス解析によると、*L. helicina*は2つの変異(H1, H2)が認定でき、北太平洋各海域(オホーツク海、ベーリング海、津軽海峡)に生息する*L. helicina*はすべてH1に



図1. 北太平洋に生息する有殻翼足類、リマシナ・ヘリシナ。

属する同一の遺伝子を持ち、北大西洋種とは異なることがわかった。このことから大西洋種と太平洋種では遺伝的・形態的に明確に分断されていると指摘できる (Shimizu et al. 2018)。太平洋から北極海への一方の遺伝子流動(生物の移動を反映)が起こっていることによって太平洋側の遺伝的多様性が大西洋に比べて低くなっていることを示している(図2)。

(3)【海洋環境と殻密度】(木元)

セジメントトラップ係留系は 2017 年夏に設置され、2018 年夏まで 1 年間係留された。これに同架したハイブリッド pH センサ (HPHS) は極めて安定的に動作し、下部有光層の pH は 7.40 から 7.55 までの範囲の変動を捉えることに成功した。しかしながら水深 1000m に設置したセジメントトラップの沈降粒子の回収率が極めて悪く、有効な結果を得ることが出来なかった。以降に示す結果は、この前年度の 2016 年から 2017 年にかけて予察的に実施した、水深 200m に設置された HPHS による現場 pH の結果と、その直下の 500m に係留されたセジメントトラップに捕集された有殻翼足類の解析結果について記述する。

水深 200m の現場 pH は 7.40~7.55 の間を変動しており、寒冷渦が通過した初夏の時期を除き、夏季に高く冬季に低くなるという明確な変動パターンを示した。TAik と塩分より計算されるアラゴナイト飽和度 (Ω_{ara}) は約 0.4~0.5 であり、水深 200m ではすでにアラゴナイトに対して未飽和であった。*L. helicina* が生息する混合域(150m 以浅)のアラゴナイト飽和度 (Ω_{ara}) は冬季の 1.3 から夏季の 2.5 までの幅を持つ。通常 1.0 以上の Ω_{ara} では殻は溶解しないが、MXCT による殻密度分析によるとセジメントトラップ中の有殻翼足類の殻密度は大きく変化しており、夏季の殻密度は平均 1.7g/cm³ を保っていたが、冬季の低 pH の時期には徐々に殻密度が低下し、最小で 0.5g/cm³ に低下することが明らかとなった(図3)。また pH が低下する 7~8 月と 2~3 月の時期には有殻翼足類の殻はサンプル中に見られず、水柱中で溶解した可能性がある。これらのことから、低 pH (低 Ω_{ara}) の冬季に、混合層内で形成された有殻翼足類の殻は夏季と比べて脆弱なものとなり、死後、水柱中で完全に溶解していると考えられる。すなわち、将来の海洋酸性化により有殻翼足類の殻は水柱中で溶解してしまう可能性が指摘できる。

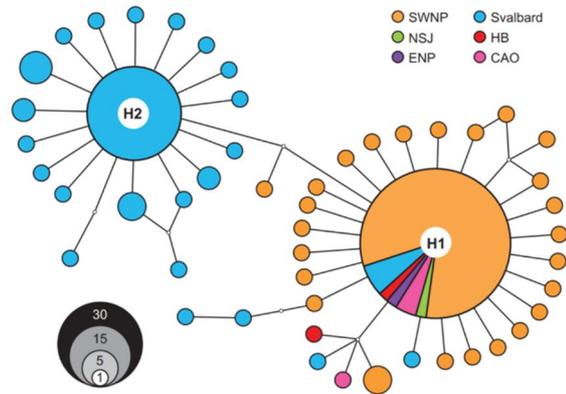


図2. COI 遺伝子解析による *L. helicina* の変異(H1, H2)。北大西洋と太平洋とで遺伝的文化が進んでいることを示す。

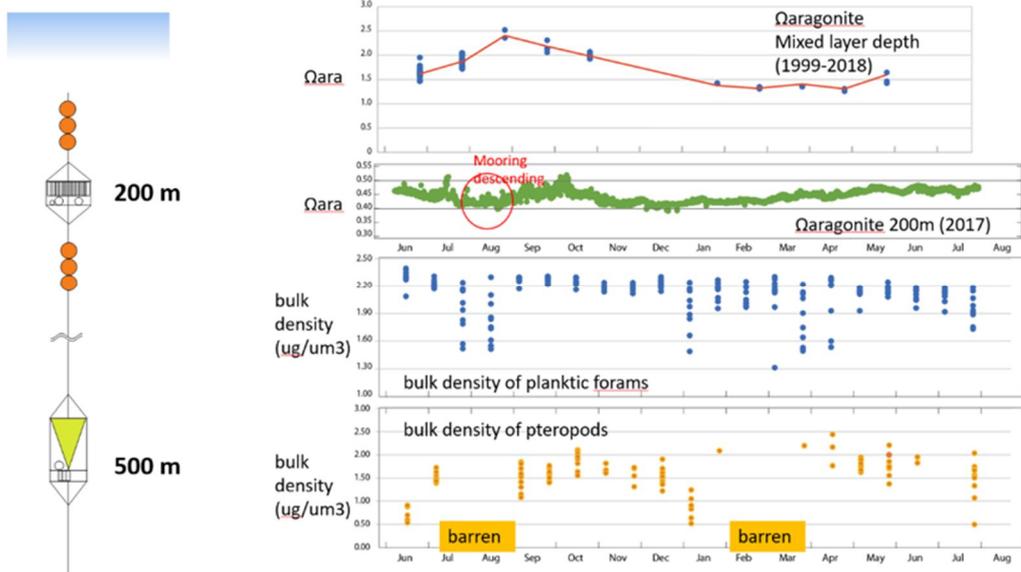


図3. 2016-2017年に係留されたセジメントトラップ係留系の中の浮遊性有孔虫および有殻翼足類の殻密度変化と、混合層、水深200mのアラゴナイト飽和度 (Ω_{ara}) の変遷。

(4)【超精密殻密度計測法と校正基準試料の開発】(木元)

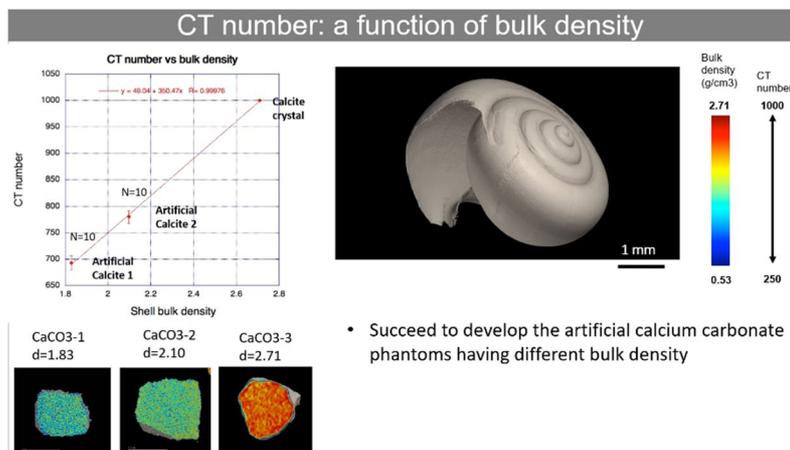
海洋酸性化の影響を受けた殻は、部分的な溶解によってその高密度を低下させる。本研究では有殻翼足類の殻密度をこれまでになく精密に計測するための方法を開発した。従来 MXCT を用いた殻密度計測では、CT 値を用いた相対的な評価に留まっていた。有殻翼足類と同様の大きさである数百 μm の均質かつ既知の密度を持つ炭酸カルシウムの校正基準試料は世界に存在しない。このため、本研究では校正基準試料の製作から開始した。これをより相対値である CT 値から、具体的な密度(物質質量)に変換できることが期待できる。

3 年間にわたる試行錯誤の末、300 μm 四方で均質(標準偏差 2%以下)かつ複数の炭酸カルシ

ウム密度を持つ粒子の製作に成功した。この較正基準試料を用いて CT 値との関係性を求めたところ、以下の一次回帰直線の式を得た。

$$\text{CT Number} = 350.47 \times d + 49.04 \quad (R = 0.99976)$$

ここで CT number は MXCT によって得られる CT 値、d は標本の密度である。これにより、MXCT によって得られる CT 値から精密な密度を計算することが可能となった。これら計測方法と較正基準試料の作成法について、JAMSTEC、コムスキャンテクノ(株)(有)ホワイトラビットの三者で特許出願を行った〔特願特願 2018-128758〕



• Succeed to develop the artificial calcium carbonate phantoms having different bulk density

以上の成果を以下にまとめる。

(1) 縁辺海を含む北太平洋の有殻翼足類は遺伝的に

1種であり、北大西洋との分化がすすんでいる。形態的にはリマシナ・ヘリシナ・アキュータ (*L. helicina* forma *acuta*) に分類される。

(2) 北太平洋の *L. helicina* の幼体は春から夏にかけて産出量が多かった。また *L. helicina* は水深 100m 以浅に主に分布し、海域によってその生産性、生育度は異なる。

(3) 北太平洋の水深 200m の pH の年間を通じた連続観測に初めて成功した。pH は夏季に高く、冬季に低下する。これに同調し、*L. helicina* の殻密度も変化し、夏季に高く平均 1.7g/cm³、冬季には 0.5g/cm³ まで低下することがわかった。また冬季にできた低密度の殻は死後、水柱中の低 pH により溶解してしまうことが明らかとなった。

(4) 以上を総合的に解釈すると、近い将来、海洋酸性化が現在よりもより表層において進行した場合、北太平洋に生息する有殻翼足類 *L. helicina* の殻密度は現在に見られる冬季の状態、すなわち低密度の殻をつくるようになる可能性が高い。これは北太平洋において生物ポンプの機能の一部である生物源炭酸塩の石灰化の低下が起こる可能性を強く示唆する。

図 4. 異なる高密度を持つ炭酸塩粒子からなる較正基準試料と CT 値の関係。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 6 件)

(1) Shimizu K, Kimura K, Isowa Y, Oshima K, Ishikawa M, Kagi H, Kito K, Hattori M, Chiba S, Endo K. (2019) Insights into the evolution of shells and love darts of land snails revealed from their matrix proteins. *Genome Biology and Evolution* 11:380-397. evy242, (査読有)

(2) 木元克典「海洋酸性化と生物影響」 *日本機械学会誌* 121, 1199, 18-21. 2018/10 (査読無)

(3) Shimizu K, Kimoto K, Noshita K, Wakita M, Fujiki T, Sasaki T. 2018. Phytogeography of the pelagic snail *Limacina helicina* (Gastropoda: Thecosomata) in the subarctic western North Pacific. *Journal of Molluscan Studies* 84(1):30-37. (査読有)

(4) Shimizu K, Luo Y-J, Satoh N, Endo K. (2017) Possible co-option of engrailed during brachiopod and mollusc shell development. *Biology Letters* 13, 20170254 (査読有)

(5) Nishizawa, Y., K. Takahashi, H. Sasaki, 2016, Interannual variability in euthecosomatous pteropods (*Limacina* spp.) in the Indian sector of the Southern Ocean during austral summer. *Antarctic Record*, 60:35-48. (査読有)

(6) Akiha, F., G. Hashida, R. Makabe, H. Hattori, H. Sasaki, 2017, Distribution in the abundance and biomass of shelled pteropods in surface waters of the Indian sector of the Antarctic Ocean in mid-summer. *Polar Science*, 12:12-18. (査読有)

〔学会発表〕(計 25 件)

(1) Shima, E., H. Sasaki, & K. Kimoto, 2019, Variability of shell density of thecosomatous pteropod *Limacina* sp. 第 34 回北方圏国際シンポジウム、紋別

(2) Katsunori Kimoto, Keisuke Shimizu, Erina Shima, Hiroshi Sasaki, Hiromi Kasai, Seiji Katakura. Shell morphology/density variations of thecosomatous pteropod *Limacina helicina* recovered from off Mombetsu, Sea of Okhotsk: A result from 2017 to 2018. 34th International Symposium on the Okhotsk Sea & Polar Oceans 2019. 2019/02/19.

- (3) Katsunori Kimoto, Jonaotaro Onodera, Koji Sugie, Naomi Harada. Technical development of Micro X-ray Computed Tomography (MXCT) and research activity on ocean acidification in the western Arctic Ocean. ArCS Workshop for Promoting Arctic Collaboration between IARC/UAF and Japan. 2019/03/06.
- (4) 木元克典、佐々木理、岩下智洋. 微化石試料の自動 X 線形態計測. MRC 微化石研究集会 2019 つくば大会 2019/03/01
- (5) 清水啓介, 木村一貴, 磯和幸延, 大島健志郎, 石川牧子, 鍵裕之, 紀藤圭治, 服部正平, 千葉聡, 遠藤一佳. 基質タンパク質から探るカタツムリの貝殻と恋矢の進化, 第 7 回バイオミネラルリゼーションワークショップ, 千葉. 2018 年 11 月.
- (6) Katsunori Kimoto, Tsuneo Ono, Yuji Okazaki Morphology and habitat depth of planktic foraminifer in intermediate waters of western North Pacific: Implications of relationship to carbonate saturation states PICES Symposium, Washinton DC 2018/06/06
- (7) Shimizu K, Kimoto K, Takeuchi T, Wakita M. Effects of high CO₂ seawater on the shell development in sea butterfly *Limacina helicina*. *Marin Evolution* 2018, Sweden. May 2018.
- (8) 木元克典 遠洋域をめざす浮遊性有孔虫: そのあくなきチャレンジ. MRC 微化石研究集会 2018/03/03
- (9) 島瑛里奈、木元克典、佐々木洋. 北極海における有殻翼足類の殻密度の計測. MRC 微化石研究集会 2018/03/03
- (10) Shima, E., H. Sasaki, O. Sasaki & K. Kimoto, 2018, Shell density measurements of thecosomatous pteropods in the Arctic Ocean. 第 33 回北方圏国際シンポジウム、紋別
- (11) Kimoto Katsunori, Shimizu Keisuke, Shima Erina, Wakita Masahide, Sasaki Hiroshi, Sasaki Osamu High resolution morphometry of shelled pteropods by the X-ray microtomography: a new perspective of ocean acidification study. The 33rd International Symposium on the Okhotsk Sea and Polar Oceans, 2018/02/20
- (12) Shima Erina, Kimoto Katsunori, Sasaki Hiroshi, Shell density measurements of thecosomatous pteropods in the Arctic Ocean. The 33rd International Symposium on the Okhotsk Sea and Polar Oceans. 2018/02/19
- (13) 中野善之、藤木徹一、脇田昌英、木元克典 西部北太平洋時系列観測点 K2 における pH の高頻度連続観測 日本海洋学会 2017 年度秋季大会 2017/10/14
- (14) Shimizu K, Luo Y-J, Satoh N, Endo K. Possible co-option of engrailed during brachiopod and mollusc shell development. BIOMIN XIV, Tsukuba, Japan. October 2017.
- (15) 木元克典 浮遊性有孔虫の生態研究の易しさと難しさ. 日本プランクトン学会秋季大会 2017/09/03
- (16) 木元克典 JAMSTEC のマイクロ X 線 CT 装置の紹介と微化石のスキャンノウハウ 日本古生物学会年会 2017 夜間小集会 2017/06/10
- (17) 清水啓介. 軟体動物と腕足動物における貝殻の進化, 第 10 回 EvoDevo 青年の会, 静岡. (2017 年 6 月)
- (18) Kimoto, K. Kubota, Y., Sasaki, O., Iwashita, T., Nakamura, Y. High precision X-ray CT morphometry of microfossils for scientific validations. JpGU 2017/05/25
- (19) Yoshiyuki Nakano, Tetsuichi Fujiki, Katsunori Kimoto, Tetsuya Miwa. Diurnal and seasonal variations of pH for a year in the western subarctic North Pacific observed by using a hybrid pH sensor EGU General Assembly 2017. 2017/04/26
- (20) Shima, E., H. Sasaki, O. Sasaki & K. Kimoto, 2017, Observations on the internal structure of pteropod shells using a MXCT. 第 32 回北方圏国際シンポジウム、紋別
- (21) 清水啓介. 貝殻、奥深いんだ、カラ. 企画展「生きた化石-太古から変わらぬ生き物たち」オープニング記念講演. 蒲都市生命の海科学館. (2016 年 12 月)
- (22) Naomi Harada, Katsunori Kimoto, Jonaotaro Onodera, Eiji Watanabe, Koji Sugie, Masahide Wakita, Tetsuichi Fujiki. Potential environmental changes in the western Arctic and the western North Pacific: their impacts on lower trophic level organisms PICES Annual Meeting, 2016/11/07
- (23) Katsunori Kimoto, Marine calcareous plankton as the recorder of past and present ocean acidification: How do they respond? 3rd JAMBIO International Symposium 2016/09/21
- (24) 清水啓介. 貝殻形成メカニズムから探る貝殻の起源. 日本進化学会シンポジウム S4 「進化における発生の役割」, 日本進化学会第 18 回大会, 東京工業大学. (2016 年 8 月)
- (25) Shimizu K, Kimoto K. The effects of ocean acidification in gastropod shell development. 4th International Symposium on the Ocean in a High-CO₂ world, Tasmania, Australia. (May 2016)

〔図書〕(計 1 件)

木元克典 海洋酸性化と深層循環 講談社ブルーバックス「深海 極限の世界-生命と地球の謎に迫る」p273 (202-215) . 2019/5/15

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称：密度測定方法および較正基準試料並びにその作製方法

発明者：木元克典、菊池一夫、岩下智洋、佐々木理

権利者：海洋研究開発機構、株式会社コムスキャンテクノ、有限会社ホワイトラビット

種類：特許

番号：特願 2018-128758

出願年：2018

国内外の別：国内

〔その他〕

3D モデル展示用ソフトウェア「Oden」の制作 (本科研費と有限会社ホワイトラビットによる協業) 以下の URL より無料ダウンロード可能。

<https://white-rabbit.jp/product/oden/>

6 . 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：佐々木 洋

ローマ字氏名：SASAKI, Hiroshi

所属研究機関名：石巻専修大学

部局名：大学院理工学研究科

職名：教授

研究者番号 (8 桁): 10183378

(2) 研究協力者

研究分担者氏名：清水 啓介 (平成 29 年度まで)

ローマ字氏名：SHIMIZU, Keisuke

所属研究機関名：国立研究開発法人海洋研究開発機構 (平成 30 年 3 月 31 日時点)

部局名：海洋生命理工学研究開発センター

職名：ポストドクトラル研究員

研究者番号 (8 桁): 00757776

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。