

Environment Research and Technology Development Fund

環境研究総合推進費 終了研究成果報告書

2-2007 海洋酸性化と貧酸素化の複合影響の総合評価
(JPMEERF20202007)

令和2年度～令和4年度

Biological Effect of Ocean Acidification and Hypoxia

(https://www.env.go.jp/policy/kenkyu/suishin/english/gaiyou/pdf/2022_pamphlet_eng.pdf)

〈研究代表機関〉

国立研究開発法人水産研究・教育機構

〈研究分担機関〉

公益財団法人 海洋生物環境研究所
国立研究開発法人 産業技術総合研究所
北海道大学

令和5年5月

目次

I. 成果の概要	・・・・・・・・・・	1
1. はじめに（研究背景等）		
2. 研究開発目的		
3. 研究目標		
4. 研究開発内容		
5. 研究成果		
5-1. 成果の概要		
5-2. 環境政策等への貢献		
5-3. 研究目標の達成状況		
6. 研究成果の発表状況		
6-1. 査読付き論文		
6-2. 知的財産権		
6-3. その他発表件数		
7. 国際共同研究等の状況		
8. 研究者略歴		
II. 成果の詳細		
II-1 海洋生物への酸性化と貧酸素化の複合影響評価実験 （公益財団法人海洋生物環境研究所）	・・・・・・・・・・	18
要旨		
1. 研究開発目的		
2. 研究目標		
3. 研究開発内容		
4. 結果及び考察		
5. 研究目標の達成状況		
6. 引用文献		
II-2 生理学的・形態学的計測に基づく酸性化・貧酸素化複合影響の発現機序解明 （国立研究開発法人産業技術総合研究所）	・・・・・・・・・・	33
要旨		
1. 研究開発目的		
2. 研究目標		
3. 研究開発内容		
4. 結果及び考察		
5. 研究目標の達成状況		
6. 引用文献		
II-3 沿岸域における酸性化・貧酸素化の現状把握 （国立研究開発法人水産研究・教育機構）	・・・・・・・・・・	47
要旨		

- 1. 研究開発目的
- 2. 研究目標
- 3. 研究開発内容
- 4. 結果及び考察
- 5. 研究目標の達成状況
- 6. 引用文献

II-4 沿岸域における酸性化・貧酸素複合影響の将来予測
(北海道大学) 60

要旨

- 1. 研究開発目的
- 2. 研究目標
- 3. 研究開発内容
- 4. 結果及び考察
- 5. 研究目標の達成状況
- 6. 引用文献

III. 研究成果の発表状況の詳細 72

IV. 英文Abstract 77

I. 成果の概要

課題名 2-2007 海洋酸性化と貧酸素化の複合影響の総合評価

課題代表者名 小笠 恒夫 (国立研究開発法人水産研究・教育機構水産資源研究所
海洋環境部主幹研究員)

重点課題 主：【重点課題 8】気候変動への適応に関わる研究・技術開発

副：【重点課題 16】大気・水・土壌等の環境管理・改善のための対策技術の高度化及び
評価・解明に関する研究

行政要請研究テーマ (行政ニーズ) (5-2) 底層溶存酸素量が生物種の個体群の維持に与える影
響とその評価手法の開発

研究実施期間 令和2年度～令和4年度

研究経費

105,584千円 (合計額)

(各年度の内訳：令和2年度：39,894千円、令和3年度：32,845千円、令和4年度：32,845千円)

研究体制

(サブテーマ1) 海洋生物への酸性化と貧酸素化の複合影響評価実験 (公益財団法人海洋生物環境
研究所)

(サブテーマ2) 生理学的・形態学的計測に基づく酸性化・貧酸素化複合影響の発現機序解明 (国
立研究開発法人産業技術総合研究所)

(サブテーマ3) 沿岸域における酸性化・貧酸素化の現状把握 (国立研究開発法人水産研究・教育
機構)

(サブテーマ4) 沿岸域における酸性化・貧酸素複合影響の将来予測 (北海道大学)

研究協力機関

研究協力機関はない。

本研究のキーワード 気候変動、海洋酸性化、海洋貧酸素化、複合影響、沿岸環境、将来予測、適応
策

1. はじめに (研究背景等)

海洋の酸性化と貧酸素化は、人類活動によるCO₂放出とそれによる気候変動が二次的に引き起こす重
篤な海洋環境問題である。2019年9月に公表されたIPCC海洋・雪氷圏特別報告書においても、酸性化と
貧酸素化が将来の沿岸生態系における生物多様性や水産資源量を減少させることが警告されており、
特に酸性化については平成30年度に策定された「気候変動の影響への適応計画」の中で、沿岸域にお
けるpHの日周変動の把握と生物への酸性化影響機構の解明を進め、将来における影響予測とそれに基

づいた対策技術の開発を行うことが明記されている。幸いにして、日本の近海域では気候変動に由来する貧酸素化の顕著な影響は未だ確認されていないが、沿岸域では陸域環境負荷に起因する局地的な貧酸素水塊の発生が従来から問題となっており、この結果として平成28年に底層溶存酸素量が環境基準に加えられるに至っている。IPCC海洋・雪氷圏特別報告書では、このような陸域負荷由来の貧酸素化現象に気候変動が加わる事で、沿岸域における貧酸素水塊の発生頻度や規模が増大する可能性が指摘されており、国内においても近未来の沿岸域における貧酸素化と酸性化の影響の発現は現実的な懸念となっている。

これまで、日本沿岸に生息する生物の酸性化に対する影響評価試験は数多く行われてきたが、貧酸素化に対しては、無酸素に近い極低酸素濃度に対する耐性試験が行われているのみであり、将来の気候変動で想定されているような中度の貧酸素化に対する海洋生物の影響評価試験は殆ど行われていない。更に、近年海外で行われた先駆的な研究により、pHと溶存酸素濃度(DO)を同時に変化させた場合には、DO一定の場合より遙かに小さなpHの変動量で生物への影響が発現すること、つまり貧酸素化はそれ自体が生物影響を引き起こすだけでなく、酸性化と貧酸素化の複合影響も引き起こす事が判明している。従来の研究で得られている酸性化影響発現閾値の多くはDO一定の条件下で得られたものであるため、DOとpHを同時に変化させた飼育実験を行い、海洋酸性化と貧酸素化の複合影響を考慮した、pHとDOそれぞれの影響発現閾値を求め直す必要がある。また上記の実験で酸性化・貧酸素化の複合影響が発現する閾値を特定するだけでなく、日本沿岸域のpH及びDOに関する将来予測を実施し、日本沿岸域が将来のいつ頃にその閾値に達するかの予測を行う必要がある。

酸性化・貧酸素化複合影響に対する適応策として、これらの影響に耐性を持った個体群の選別等の方策も考えられるが、水産利用種以外の海洋生物に関する耐性個体群の選抜技術の開発は殆ど行われていないため、生態系全体の耐性を上げるような適応策の開発は非常に難しい。一方で、沿岸域のpHとDOは温暖化の影響だけでなく、陸域からの栄養塩負荷量の変化や淡水供給量の変化によっても大きく変動する事が知られている。この事を利用して、陸域からの栄養塩負荷量や淡水供給量を適切にコントロールする事により、沿岸域の酸性化や貧酸素化の進行自体を遅らせるような適応策を開発できれば、沿岸生態系全体を酸性化・貧酸素化複合影響から保全できる可能性がある。

2. 研究開発目的

海水のpHと溶存酸素濃度を同時に制御可能な飼育装置を用いて、日本沿岸の複数の海洋生物に対する酸性化と貧酸素化の複合影響の評価試験を実施し、複合影響を考慮したpH及び溶存酸素濃度の影響発現閾値を算定する。この結果を、高解像度生態系モデルにより推定された沿岸域海洋環境の将来予測結果と合わせることで、国内沿岸域において酸性化と貧酸素化の複合影響が発現する時期の予測を行う。さらに、数値モデル上で陸域からの栄養塩負荷量や淡水供給量を変化させることにより、酸性化・貧酸素化複合影響発現時期をどの程度遅延させることができるかを合わせて評価する。

3. 研究目標

全体目標	<p>日本沿岸域における酸性化と貧酸素化の複合影響に関する総合的な評価を実施し、沿岸各自治体が適応策を検討するための基本情報として公開する。</p> <p>具体的には、①複数の沿岸生物に対する酸性化・貧酸素複合影響評価実験を実施し、それぞれの生物について酸性化・貧酸素化複合影響の発現閾値を特定する。また②飼育実験後の固体の遺伝子発現解析および骨格観察・元素分析を実施し、その結果から各生物の酸性化・貧酸素複合影響発現機序の推定を実施する。また③日本沿岸域におけるpHと溶存酸素濃度の周年モニタリングを実施し、現在の沿岸域におけるpHと溶存酸素濃度が、得られた閾値に対してどの程度離れた、あるいは近い状況にあるかの評価を実施する。また、④日本沿岸域</p>
------	--

	<p>のpH・溶存酸素変動を再現可能な高解像度沿岸生態系モデルを開発し、将来の日本沿岸域におけるpHと溶存酸素濃度が、何年程度後に得られた閾値に到達するかの予測を実施したうえで、陸域栄養塩負荷量を管理することでこの影響発現閾値到達時期を何年程度遅延させられるかの予測を行い、沿岸各自治体が適応策を検討するための基本情報として公開する。</p>
サブテーマ1	海洋生物への酸性化と貧酸素化の複合影響評価実験
サブテーマリーダー/所属機関	林正裕/公益財団法人海洋生物環境研究所
目標	6種の沿岸生物に対して、卵の正常発生率・孵化率、幼生の生残率・変態成功率、成体の成長速度、成体の生残率に関する酸性化・貧酸素化複合影響の発現閾値を特定し、適応策検討のための基礎的情報として公開する。
サブテーマ2	生理学的・形態学的計測に基づく酸性化・貧酸素化複合影響の発現機序解明
サブテーマリーダー/所属機関	鈴木淳/国立研究開発法人産業技術総合研究所
目標	6種の海産生物について、複合影響評価実験実施後の固体の遺伝子発現解析を実施し、さらに炭酸塩外骨格を持つ3種についてはおよび骨格観察・元素分析を実施する。その結果から各生物の酸性化・貧酸素化複合影響発現機序を推定し、適応策検討のための基礎的情報として公開する。
サブテーマ3	沿岸域における酸性化・貧酸素化の現状把握
サブテーマリーダー/所属機関	小笠恒夫/国立研究開発法人水産研究・教育機構
目標	柏崎、宮古の2地点におけるpHと溶存酸素の周年連続観測を実施し、各海域におけるpHと溶存酸素の周年変動・周日変動の実態をpHについては±0.02、溶存酸素については±5μmol/Lの精度で把握する。この結果を基に、サブテーマ1で得られた各生物の複合影響発現閾値に対して現在の海洋環境がどの程度離れた、あるいは近い状況にあるかの評価を実施する
サブテーマ4	沿岸域における酸性化・貧酸素複合影響の将来予測
サブテーマリーダー/所属機関	藤井賢彦/北海道大学
目標	柏崎、宮古の2地点におけるpH・溶存酸素変動を再現可能な高解像度沿岸生態系モデルを開発し、各海域における将来のpHと溶存酸素濃度の変動を、複数の陸源栄養塩負荷量変動シナリオの元で予測し、それぞれの栄養塩シナリオにおいて、2海域のpHと溶存酸素濃度が海洋生物の複合影響発現閾値に到達してしまう年代の予測を実施する。この結果を用いて、沿岸各自治体が陸源栄養塩負荷量を適切にコントロールする事で、沿岸生態系の複合影響発現を何年程度遅延、あるいは完全に回避できるかという定量的な情報を提供し、沿岸各自治体の適応計画の策定に資する。

4. 研究開発内容

日本沿岸域における酸性化・貧酸素化複合影響の進行状況と生物への影響を、現在と将来の双方について総合的に評価するために、本課題では以下の4サブテーマを設定して研究を推進した(図0-1)。

サブテーマ1：海洋生物への酸性化と貧酸素化の複合影響評価実験（海洋生物環境研究所）

海洋生物環境研究所が日本で唯一現有する、海水のpHとD0の双方を制御可能な飼育システムを、止水飼育で25水槽（5x5濃度）、流水飼育で4水槽（2x2濃度）がそれぞれ同時に運用できるように拡充し、日本沿岸に生息するシオダマリミジンコ、キタクシノハクモヒトデ、ウバガイ、バイ、シロギス、アマノガワテンジクダイの6種の生物の酸性化・貧酸素複合影響飼育試験を、それぞれ複数の生活史段階について実施した。この結果から、各生物の各生活史段階について、複合影響が発現する閾値となるD0値とpH値（もしくは、pHから計算されるアラゴナイト飽和度(Ω_{ara})値）の組み合わせを算定した。この結果を将来における酸性化・貧酸素複合影響を考慮した溶存酸素濃度環境基準値の策定に有用なデータとして公開するとともに、サブテーマ3,4において現在及び将来の沿岸域における酸性化・貧酸素化進行状況を評価する際の基準値として活用した。

本研究課題全体では、沿岸域への陸域栄養塩負荷量を軽減することで、CO₂排出量削減とは別に酸性化・貧酸素化の進行を抑制する施策をひとつの温暖化適応策と見なし、その技術的有効性を検討することを最終目標としているが、これとは別に、より海洋生物に対して直接的に取り得る適応策の可能性についても検討を行うため、本サブテーマにおいて上記の実験に加え、酸性化環境下で継代飼育したアマノガワテンジクダイに対しても酸性化・貧酸素複合影響試験を行い、通常環境下で飼育したアマノガワテンジクダイとの複合耐性の違いを調べた。この結果から、魚類の継代育種による酸性化・貧酸素耐性個体の作出の可能性を探るための基礎的知見を収集した。

サブテーマ2：海洋生物への酸性化と貧酸素化の複合影響評価実験（海洋生物環境研究所）

サブテーマ2では、サブテーマ1で飼育された6種の生物について、遺伝子発現解析に必要なRNA保存・抽出手法の検討、リファレンス情報の取得、アノテーション情報の整備等を行った上で、サブテーマ1の飼育実験個体の遺伝子発現解析を実施した。特にRNA抽出に大量の個体が必要とされた生物種に対しては、複合影響発現閾値を求めるための小個体数飼育実験と同じ実験条件で、大量個体の追加飼育をサブテーマ1に依頼し、RNA抽出に利用した。さらに炭酸塩外骨格を持つキタクシノハクモヒトデ、ウバガイ、バイに対しては、飼育個体の骨格の形態観察と元素分析も合わせて実施した。

通常条件、貧酸素条件、酸性化条件、複合条件のそれぞれで飼育した個体中の遺伝子発現パターンの違いや骨格の形態・元素濃度の変化を統合的に解析し、各生物種が各生活史段階において受けている酸性化影響、貧酸素影響及び複合影響の発現機序を推定するとともに、分類群間・生活史段階間でのストレス応答の差異を遺伝子発現レベルで比較した。合わせて、貧酸素影響下で各生物種に共通に現れるストレス遺伝子を「貧酸素ストレスマーカー」として抽出した。

サブテーマ3：沿岸域における酸性化・貧酸素化の現状把握

岩手県宮古市及び新潟県柏崎市の地先海域（水深3～5m）と浅海域（水深15～30m）において、水温、塩分、D0とpHの周年連続観測を実施し、各海域におけるD0とpHの周年変動・周日及び経日変動の実態を、pHについては±0.02以下、D0については±5 μ mol/kgの精度で把握した。得られた結果から現在の各沿岸域におけるD0、pH、及びpHから計算される Ω_{ara} の年間最低値を算出し、これらの値とサブテーマ1で得られた各項目の複合影響発現閾値とを比較した。各項目の年間最低値が複合影響発現閾値を下回っていない場合は年間最低値と複合影響発現閾値との差を複合影響発現猶予値として算出し、各項目の年間最低値が複合影響発現閾値を下回っていた場合は、1年のうち観測値が複合影響発現閾値を下回っていた日数を閾値超過日数として算出して、現在の各海域における貧酸素化と酸性化の進行状況を定量的に評価した。またD0・pHとその他の環境パラメータの変動を統合した解析により、各項目の周年変動と短期の周日・経日変動の主要な変動要因の推定を行なった。

研究を推進する過程で、上記の2海域に加えて、より栄養塩負荷量の大きい東京湾についても数値モデルを構築し、貧酸素・酸性化複合影響の将来予測を行うことが課題全体として必要と判断されたため、2021年度に研究計画を変更し、サブテーマ2において東京湾における追加的な観測と、既存のD0・pH観測データの収集を行なった。このデータを用いて、東京湾でも同様に各項目の複合影響発現猶予値あるいは閾値超過日数を算出するとともに、D0・pHの主要な変動要因の推定を行なった。

サブテーマ4：沿岸域における酸性化・貧酸素複合影響の将来予測

柏崎、宮古の2地点におけるpH・溶存酸素変動を再現可能な高解像度沿岸生態系モデルを開発し、サブテーマ3による観測結果を参照データとしてモデルのパラメータ調整を行なった。そのうえで、将来のCO₂排出量についてはRCP8.5とRCP2.6の2つのシナリオ、陸域からの栄養塩負荷量については現在の観測値のまま固定、現在の観測値から半減、現在の観測値から倍増の3つのシナリオを準備し、この組み合わせで得られる6つのシナリオに対する2100年までの沿岸域D0、pH、 Ω_{ara} の変動予測を、完成した各海域のモデルを用いて実施した。研究を推進する過程で、上記の2海域に加えて、より栄養塩負荷量の大きい東京湾についても数値モデルを構築し、貧酸素・酸性化複合影響の将来予測を行うことが課題全体として必要と判断されたため、2021年度に研究計画を変更し、上記の2海域に追加して、東京湾における高解像度沿岸生態系モデルの開発と、そのモデルを用いたCO₂排出量シナリオ・栄養塩負荷量シナリオ別のD0、pH、 Ω_{ara} の将来予測を、サブテーマ4において実施した。

宮古と柏崎については、D0、pH、 Ω_{ara} がサブテーマ1で得られた複合影響発現閾値に将来到達する時期が、シナリオ毎にどの程度異なるかを比較し、各海域における栄養塩負荷量調整施策が将来の酸性化・貧酸素化複合影響の発現を遅延・回避させるうえでの効果の大きさを評価した。既に現時点においてD0、pH、 Ω_{ara} の年間最低値が複合影響発現閾値を下回っている東京湾については、将来の各年におけるD0、pH、 Ω_{ara} の閾値超過日数がシナリオ毎にどのように変化するかを比較して、栄養塩負荷量調整施策が将来の酸性化・貧酸素化複合影響の発現を遅延・回避させるうえでの効果の大きさを評価した。

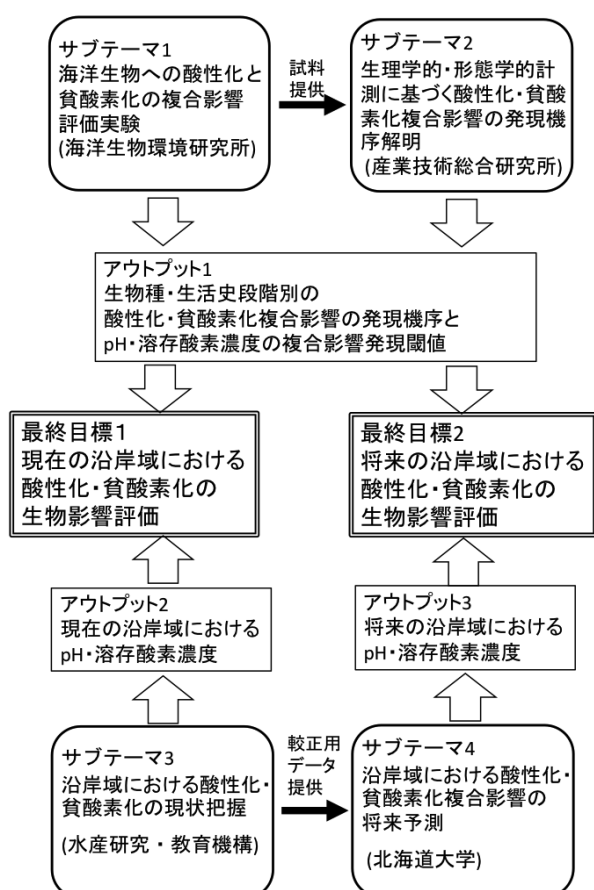


図0-1 各サブテーマの研究内容と相互の関連の模式図

5. 研究成果

5-1. 成果の概要

各サブテーマの成果の詳細は本報告書の後段で記載されているので、本稿では各サブテーマで得られた成果を統合することで得られた課題全体としての最終的な知見について示す。

なお現在、酸性化及び貧酸素に関する科学的議論の場では、海水のpHは環境省が公共用水域水質調査等で使用している淡水用の単位（JISスケール）ではなく、海水専門の単位（海水スケール。JISスケールよりも約1.3程度高い値になる）を使用する事が一般的である。同様にDOについても、科学的議論の場では環境省が公共用水域水質調査等で使用しているmg/Lではなく、 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ を単位として使用する事が一般的になりつつある。本課題のキックオフ会議においてこうした表示単位の混在についてアドバイザー委員からの指摘を受け、協議を行った結果、本課題ではpHは海水スケール、DOは $\mu\text{mol}/\text{kg}$ に表記を統一することとした。本報告書でも、pHとDOについては原則として上記の単位を使用し、既存の公共用水域水質調査との比較の場合にのみmg/Lに換算した量を並記する。

1] 沿岸生物の酸性化・貧酸素化複合影響発現閾値の算定

サブテーマ1の実験に基づき、6種の生物に対するDOの24時間の暴露時間における5%致死濃度（24h-LD₅）が算出された（表3-1：本章に再掲）。幸にして、ウバガイとバイの卵・幼生、キタクシノハクモヒトデとシオダマリミジンコの成体では、本研究の実施した実験範囲内で致死的な貧酸素影響は生じないことが確認された。一方シロギスの卵・幼生とシオダマリミジンコの幼生では、ある閾値以下のDOで致死的な貧酸素影響が発現することが判った。この閾値は今後の気候条件下における適切な溶存酸素濃度基準値を検討していく際に、根拠データの一つとして活用できると考えている。

表3-1 サブテーマ1で求められた24-h LC₅₀に基づいて算出された、各pH条件下24時間の暴露時間における5%致死DO濃度（24-h LC₅；単位は $\mu\text{mol}/\text{kg}$ ）。ウバガイ、バイ、キタクシノハクモヒトデはサブテーマ1の実験条件の範囲内では貧酸素影響を受けないと判定されたため、24-h LC₅は算出していない。

生物種	生活史段階	pH				
		8.0	7.8	7.7	7.6	7.5
シロギス	卵	128	132	121	117	137
	仔魚	125	111	119	120	131
シオダマリ ミジンコ	幼生	68	76	60	77	78

環境省における公共用水域の底層溶存酸素濃度基準値の設定に際して、シロギス未成魚の貧酸素耐性試験結果（2.6mg/L，環境省 平成25年度下層DO及び透明度新規環境基準化検討業務報告書）も参考情報として使用されているが、卵・仔魚等の再生産段階については直接的な実験が行われていなかったため、未成魚の実験結果に1mg/Lを足した値（3.6mg/L）を再生産段階のシロギスの貧酸素耐性評価値としている。またこれらの貧酸素耐性評価値を踏まえ、最終的な「水生生物の保全に係る水質環境基準」の生物1基準値は4.0mg/Lと設定された。今回の実験の結果、現在のpH条件（400 μatm ）における実際のシロギス仔魚の24-h LC₅は125 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 、シロギス卵の24-h LC₅は128 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ である事が明らかになった。この値をmg/Lに換算すると、それぞれ4.1mg/Lと4.2mg/Lになる。これらの値は底層溶存酸素濃度基準値設定時の想定値（3.6mg/L）よりも有意に大きく、現在の「水生生物の保全に係る水質環境基準」の生物1基準値を満たしている海域においても、シロギスの再生産には何らかの影響が現れている可能性があることを示唆している。この結果は、今後底層溶存酸素濃度基準値の見直しが行われる場合には

重要な知見となると考え、中間評価会議において環境省へ報告を行った。

また将来の沿岸環境について考えた場合、IPCC第5次報告書では、将来の大気中CO₂濃度はRCP2.6シナリオでは2100年以前に490ppmでピークを迎え、その後減少するが、RCP8.5シナリオでは大気中CO₂濃度は増加を続け、2100年時点では1000ppmに達すると予想されている。大気中CO₂濃度が400ppmである現在でも内湾域のpCO₂は700~1000 μ atm程度まで上昇し得ることを考慮すると、RCP8.5シナリオにおける2100年時点の内湾域のpCO₂は1300~1600 μ atmに達している可能性がある。このCO₂濃度は今回のサブテーマ1の実験条件ではpH7.5に相当しており、このpHにおける24-h LC₅はシロギス卵・幼生、シオダマリミジンコ幼生ともに現在（pH8.0）より有意に高い。つまり今回の実験結果は、将来の大気中CO₂濃度がRCP2.6シナリオに沿って変化した場合、シロギスやシオダマリミジンコの貧酸素耐性は今世紀末でも現在とほぼ同じレベルを維持できるが、大気中CO₂濃度がRCP8.5シナリオに沿って変化した場合には、今世紀末時点ではシロギス・シオダマリミジンコとも貧酸素耐性が現在より低下し、より高いDOレベルで貧酸素影響を受けるようになるであろう事を示唆している。これは、将来気候下では現行の底層溶存酸素濃度基準値を見直す必要があることを示す重要な知見であると共に、今後の人類活動によるCO₂放出量をRCP2.6のレベルに抑制すべき理由をさらに強化する知見である。

致死以外の評価指標についても、複数の複合影響の存在が確認された。例えばバイ成体の成長速度は酸性化単体、貧酸素化単体ではコントロール条件と有意な差を示さなかったが、複合条件では有意な低下を示し、幼生期の生残だけでなく成体の成長にも酸性化・貧酸素化複合影響が存在することを示した（図1-13参照）。サブテーマ2による観察では酸性化区で飼育したバイ成体に殻の損傷（図2-1・図2-2）が観察されており、貧酸素による呼吸量の増大に加えて酸性化による殻形成のエネルギー消費量が増したことで、複合影響として成長速度が低下した可能性がある。一方ウバガイ成体の成長速度は貧酸素区及び複合影響区において逆に増加するという意外な結果が得られた（図1-12参照）が、これはウバガイが濾過食者であるために、貧酸素条件下で呼吸頻度が増加することにより、結果的に植物プランクトンの濾過量が増加してしたと解釈された。また酸性化区のウバガイの成長速度はコントロール区と大きな変化がなかったが、サブテーマ2による遺伝子発現解析では酸性化区のウバガイで発現変動遺伝子数が有意に増えており、何らかのストレスを受けていたことが推定されている。これらのウバガイにおける観察結果は、例えば成長速度といった単一の指標だけでは生物が受けているストレスの状況を適切に評価できない場合があることを例示している。今後生物に対する酸性化・貧酸素化の影響を評価していく際には、遺伝子発現等も含めた複数の指標により総合的に影響を判断していく必要がある。

こうした生理的な指標群に加えて、本研究ではキタクシノハクモヒトデについて、酸性化・貧酸素化による行動パターンの変化の観察を行い、貧酸素条件下で行動の鈍化を検出している（表1-5）。野外環境下では行動の鈍化は捕食回避率に大きく影響する可能性があるため、今後酸性化・貧酸素化の影響評価を行う際には生理的な指標だけでなく、行動の変化にも留意していく必要がある。

2] 中程度の酸性化条件における「緩和的な複合影響」の出現

現在までに世界で行われた酸性化・貧酸素化複合影響飼育試験では、貧酸素影響発現閾値は酸性化の進行に応じて直線的に増加する、いわゆる加算的な複合影響を示す例が多かった¹⁾が、本研究ではシロギス卵・幼生とシオダマリミジンコ幼生において、中程度のpHで一時的に貧酸素閾値が低下する、いわゆる緩和的な複合影響が明瞭に観察された（表3-1）。これはかなり意外な結果であったため、急遽シロギスの飼育実験を繰り返し現象の再現性を確認するとともに、サブテーマ2でもシロギスの遺伝子発現解析を集中的に行った。この結果、シロギスの貧酸素閾値の緩和には十分な再現性があることが確認され、またサブテーマ2においても、酸性化区・貧酸素化区で発現量の増加が観察された遺伝子の多くが複合影響区では遺伝子発現量の増加が緩和されていることが確認され（図2-10:本章に再掲）、さらに解糖系に関与する遺伝子群や代表的ストレス応答遺伝子の発現量増加幅も複合条件下では緩和されていることから、シロギスにおいて緩和的な複合影響が生じていることが確実になった。

エンリッチメント解析の結果からは、貧酸素区で解糖系に関与する遺伝子群の発現量増加が多く検出され、酸素欠乏によって電子伝達系が働かなくなり、解糖系を活発化することでATP生成の補完を行

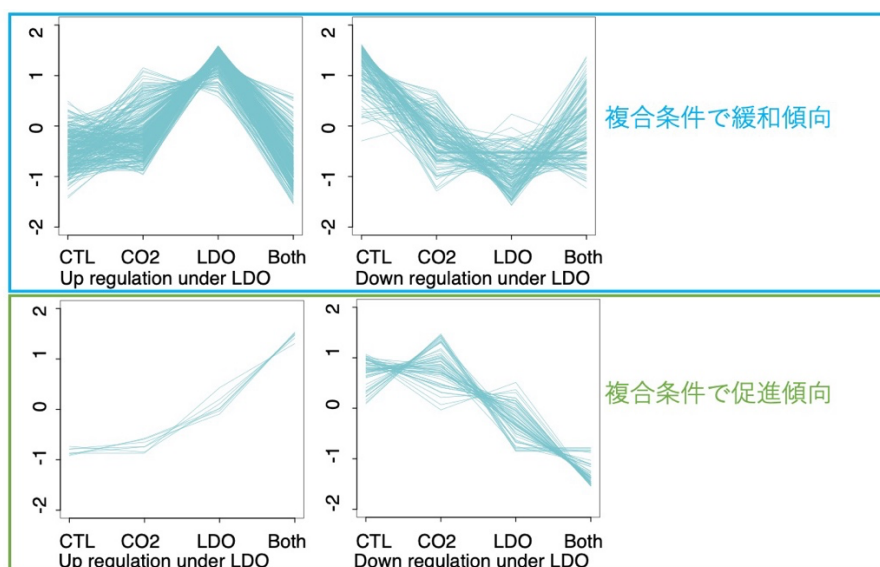


図2-10 シロギス卵における、一般化線形モデルで絞り込まれた貧酸素区で遺伝子発現が増加・減少した際に複合影響区で遺伝子発現が緩和・促進された遺伝子群の発現パターン。線1本が1遺伝子に対応する。縦軸は正規化されたTPM値、横軸は、CTLは対照区、CO2は酸性化区、LDOは貧酸素区、Bothは高pCO₂・低O₂の複合影響区。

なっていることが推察された（図2-5参照）。解糖系によるATP生成効率は電子伝達系に比べて格段に低いため、ATP欠乏が生じやすくなり、生理的なストレスの要因となっていると考えられる。一方海水中のpHの減少が血液のpHの低下を引き起こし、これによりヘモグロビンの酸素放出量があがる現象が知られている（ボア効果）。この効果によって生物体内における貧酸素の影響が緩和されることで、緩和的な複合影響が生じている可能性がある。ただしさらにpHが低下した場合には、生物にとって有害なpH低下効果が多数生じることで、ボア効果による緩和作用を相殺してしまい、再度貧酸素影響閾値が上昇すると考えられる。

このような緩和的な複合影響の存在を、その生理的機構の説明付きで確認できた例は世界的にも少なく、学術的に重要な成果である。これらの知見は現在2本の科学論文にまとめられ、投稿されている。

3] 貧酸素ストレス指標遺伝子群の特定

サブテーマ2における網羅的遺伝子解析の結果、貧酸素条件下において特異的に発現量が増加する3種の遺伝子（ヒートショックプロテイン、低酸素誘導因子、インスリン様成長因子結合タンパク質1）

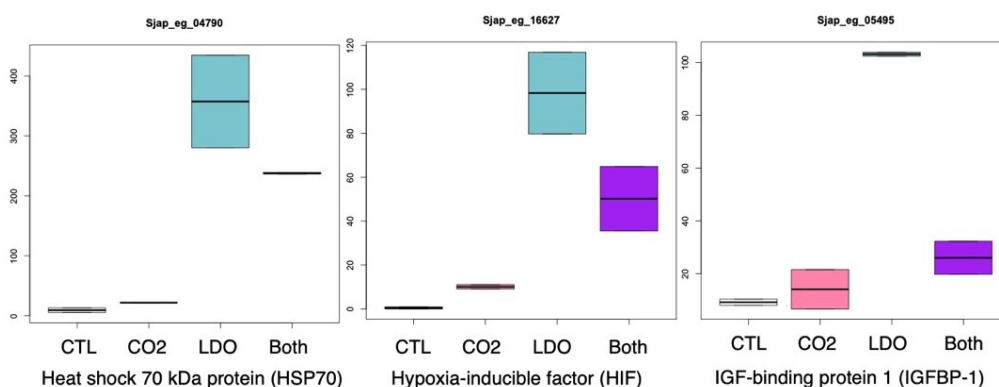


図2-9 シロギス卵におけるHeat shock 70 kDa protein、Hypoxia-inducible factor、Insulin-like growth factor-binding protein 1の発現パターン。縦軸は遺伝子発現量（TPM）、横軸は、CTLは対照区、CO₂は酸性化区、LDOは貧酸素区、Bothは高pCO₂・低O₂の複合影響区。

が特定された（図2-9:本章に再掲）。この発見により、今後は網羅的遺伝子解析によらず、この3種の遺伝子の発現量をピンポイントで定量することでも、生物が受けている貧酸素ストレスを簡易的に評価できる可能性が開けた。またキタクシノハクモヒトデではストレス応答遺伝子であるHSC70の遺伝子配列の抽出に成功しており、この指標遺伝子もストレス指標として利用できる可能性がある。

4] 現在の沿岸域における酸性化・貧酸素化進行状況の定量評価

サブテーマ3における各沿岸域のD0、pH、 Ω_{ara} 観測結果と、サブテーマ1で算出された各項目の複合影響発現閾値とを比較することにより、宮古、柏崎及び東京湾における各項目の年間最低値が複合影響発現閾値を未だ上回っているか否かを判別し、上回っている場合は年間最低値と複合影響発現閾値の間の差（影響発現猶予値）、下回っている場合は年間で日最低値が複合影響発現閾値を下回る日数（閾値超過日数）をそれぞれ算出した（表3-2：本章に再掲）。この結果、pHはすべての海域で年間最低値が複合影響発現閾値を上回ったが、 Ω_{ara} は宮古地先と沖合で1日未満～10日、東京湾では87日間、日最低値が複合影響発現閾値をすでに現時点で下回っていることが判明した。また東京湾では、D0についても日最低値が複合影響発現閾値を下回っている日が1日だけ存在した。既に記したように、東京湾では現行の底層溶存酸素濃度基準値そのものがシロギスに対しては低すぎることでサブテーマ1の実験により示唆されていたが、実海域の観測結果からも、底層溶存酸素濃度基準値を満たしながらシロギスの24h-LD₅₀を下回っている日が僅かながらも東京湾で存在することが確かめられたことになる。

これらの結果は、すでに現在の沿岸域においても沿岸生物に酸性化や貧酸素化の影響が生じている可能性を示唆しており、該当海域において生物側のモニタリングを強化する必要がある。

表3-2 宮古、柏崎、東京湾におけるD0、pH、 Ω_{ara} の年間最低値と、そこから計算された複合影響発現猶予値もしくは閾値超過日数

	宮古地先	宮古沖	柏崎地先	柏崎沖	東京湾 [#]
D0					
年間最低値(μmol/kg)	224	237	216	204	88
影響発現猶予値(μmol/kg)	92	105	95	72	----
閾値超過日数(日)					1
pH					
年間最低値	7.92	7.96	7.81	7.94	7.60
影響発現猶予値	0.32	0.36	0.21	0.34	0.00
Ω_{ara}					
年間最低値	1.59	1.31	1.67	2.19	0.87
影響発現猶予値	----	----	0.07	0.69	----
閾値超過日数(日)	0.25	10			87

5] 栄養塩負荷量の削減が沿岸域の貧酸素化・酸性化を抑制する効果の定量的評価

以上の結果を踏まえ、本研究課題の最終目標である標記の効果の定量的評価のために、サブテーマ3と4の双方において複数の解析と数値実験を実施した。

サブテーマ3では、各沿岸域共通でD0とpHの変動に正相関が見られることを利用して、栄養塩負荷量削減等の施作により海域の酸素飽和度を10%改善させることができた場合に、付随して期待されるpHと Ω_{ara} の増加量を海域ごとに定量化した（表3-3：本章に再掲）。この値は、各沿岸自治体が現に実施している貧酸素対策が、酸性化抑制策としてはどの程度の効果を持っているのかを定量的に評価する際に有益な情報と考えている。

表3-3 各海域の酸素飽和度を10%改善させることで期待されるpHと Ω_{ara} の上昇量

	宮古地先	宮古沖	柏崎地先	柏崎沖	東京湾
pH	0.04	0.06	0.11	0.10	0.05
Ω_{ara}	0.18	0.24	0.55	0.43	0.24

また同じくサブテーマ3の解析結果から、宮古・柏崎・東京湾ともに降雨による塩分低下時にD0、pH、 Ω_{ara} の短期的な低下が引き起こされており、D0や Ω_{ara} が影響発現閾値に迫る、あるいは下回る値を取るのもほぼ全てがこの塩分低下時であることが判明した（図3-7）。将来予測でも、将来の沿岸域において特に深刻なD0、pH、 Ω_{ara} の低下が引き起こされるのは塩分低下時であったことから、塩分低下時にD0、pH、 Ω_{ara} を低下させる要因を特定し、その要因を解消できれば沿岸域における酸性化・貧酸素化リスクを大幅に低下できると考え、上記三海域以外で公開されているD0・pH連続観測データも加えて要因解明を進めた。この結果、塩分の低下量と同時に引き起こされるD0、pH、 Ω_{ara} の低下量との間の比例係数が、海域に流入する主要河川の栄養塩濃度と正相関していることが明らかになった（図3-9:本章に再掲）。図3-9の回帰直線はほぼ原点を通過しているため、海域への栄養塩負荷量を半減させれば、同じ降雨量に対応するD0、pH、 Ω_{ara} の低下量もまた半減させられることを示している。これもまた、栄養塩負荷施策が貧酸素だけでなく、現在の沿岸域における短期的な酸性化の発生リスクに対しても抑制効果を持つことを定量的に示す結果である。

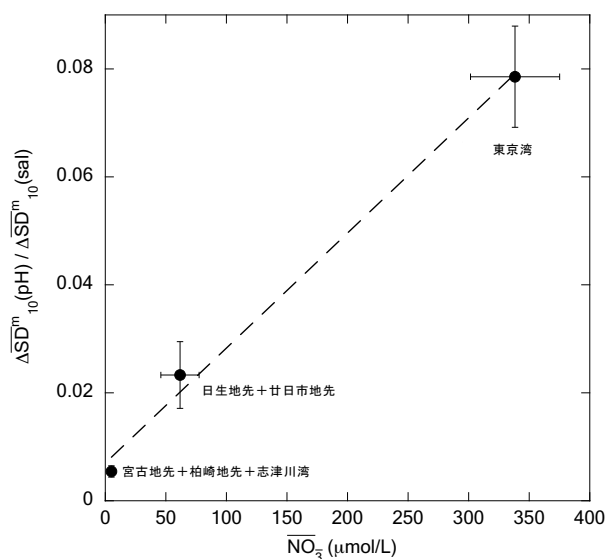


図3-9 東京湾、瀬戸内海、三陸・北陸沿岸域の各海域において $\overline{SD}_{10}(\text{sal}) > 1$ となる月に対して算出された、 $\overline{SD}_{10}(\text{sal})$ の増加に対する $\overline{SD}_{10}(\text{pH})$ の増加率と、各海域に流入する主要河川の年平均硝酸塩濃度との相関プロット。

サブテーマ4が実施する数値モデルによる将来予測では、数値モデルの時間分解能の限界から短期の変動成分を直接計算に組み込めないため、モデルによる予測結果に現在の観測で得られた短期の変動成分を固定値として加算しているが、この部分に上記の解析結果を反映させ、各海域へ流入する河川の栄養塩濃度を現在の観測値で将来も一定とした場合（コントロールシナリオ）ではモデルによる予測結果に現在観測されている短期変動成分をそのまま加算する一方、将来の栄養塩負荷量を半減させた栄養塩半減シナリオでは現在観測されている短期変動成分の振幅を半分にして加算、将来の栄養塩負荷量を倍増させた栄養塩倍増シナリオでは現在観測されている短期変動成分の振幅を倍加して加算すること

で、陸域栄養塩負荷量の変化が短期変動に与える影響まで考慮したシナリオ別将来予測が可能になった。この結果、東京湾における2100年までのD0、pH、 Ω_{ara} の経年変動をRCP8.5とRCP2.6の2つのCO₂排出シナリオと上記の3つの栄養塩シナリオの組み合わせ、都合6通りのシナリオ群で予測計算した場合、コントロール x RCP8.5シナリオでは海洋酸性化・貧酸素化の進行と共にD0がシロギス卵の24-h LC₅を下回る日数が増加するが、栄養塩半減 x RCP8.5シナリオでは将来におけるD0の24-h LC₅超過日数が大幅に軽減されることが示された（図4-7:本章に再掲）。さらに栄養塩半減 x RCP2.6シナリオでは、2050年までにはD0がシロギス卵・仔魚の24-h LC₅を下回る日数をゼロにし得ることが示された。これは、栄養塩負荷量の大きな内湾域においては、CO₂排出量の減少施策に合わせて、内湾における栄養塩負荷量を抑制する施策をとることで、将来の酸性化・貧酸素化複合影響の発現リスクを大幅に低減させる効果があることを定量的に示した世界初の成果であり、沿岸自治体に対して「将来の酸性化対策としての栄養塩負荷量抑制」という施策オプションを与える、その論拠となる結果である。

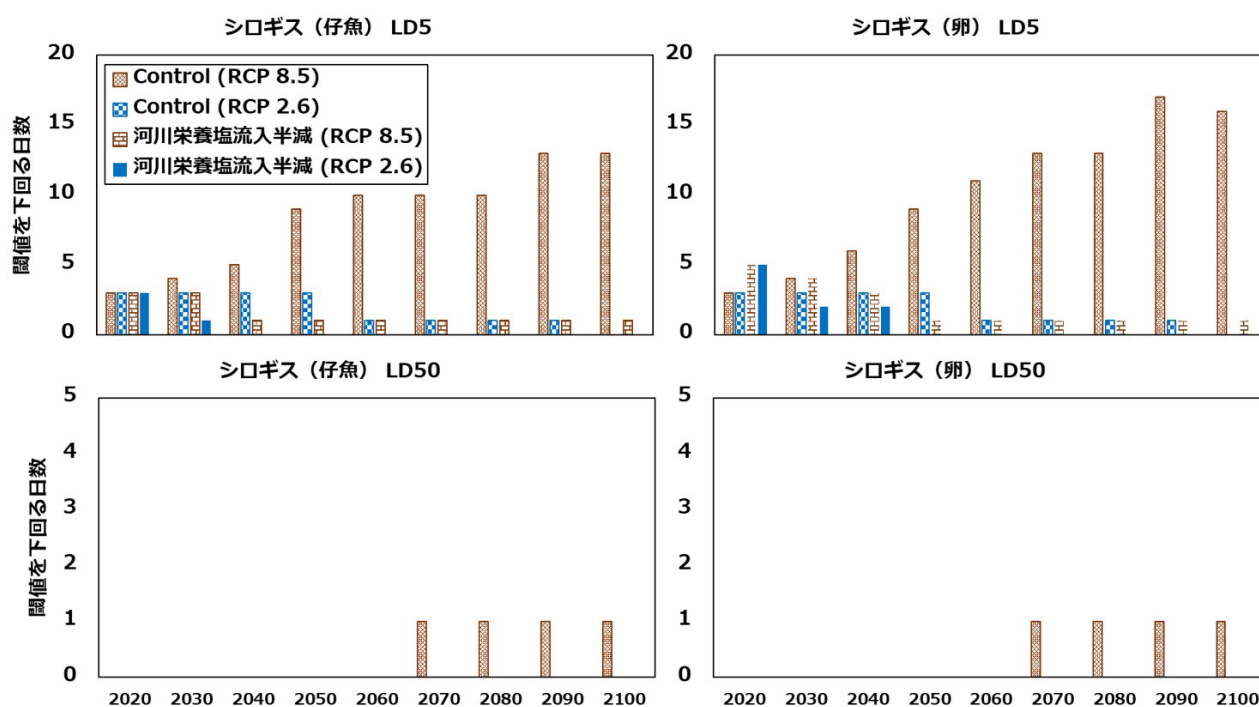


図4-7. 複数のCO₂排出シナリオ及び栄養塩負荷量シナリオ別に算出された、将来の東京湾底層におけるD0がシロギスの仔魚（左）及び卵（右）の24-h LC₅（上）及び24-h LC₅₀（下）を下回る日数の将来予測結果

一方で、宮古と柏崎でも2100年までには沿岸表層の Ω_{ara} が長期にわたってマガキの酸性化影響発現閾値を下回るようになるという予測結果も得られた（図4-2、図4-3）が、元から栄養塩負荷量の少ない宮古・柏崎では栄養塩負荷量削減による酸性化・貧酸素化の抑制効果は小さく、むしろ宮古では河川からの栄養塩負荷量を増加させることで、沿岸表層における生物生産が活発化してCO₂が消費され、沿岸表層の Ω_{ara} がマガキの酸性化影響発現閾値に到達するタイミングを数年程度遅らせることができることも示された。このため、内湾域においては栄養塩負荷量削減施策が酸性化・貧酸素化対策として有効であるものの、日本の沿岸域全体における将来の酸性化・貧酸素化リスクを解消するためには、RCP2.6シナリオ相当のCO₂排出量削減が最も重要である。

6] 酸性化環境下で継代飼育したアマノガワテンジクダイの酸性化・貧酸素化複合影響耐性

ここまで記述してきた一連の研究に追加して、魚類の継代育種による酸性化・貧酸素耐性個体の作出の可能性を探るため、酸性化環境下で長期にわたり継代飼育されてきたアマノガワテンジクダイの卵・仔魚に対する酸性化・貧酸素化複合影響試験も実施した。通常環境下で飼育された個体から生まれたア

マノガワテンジクダイ仔魚は、D0濃度=200 μ mol/kg以上の環境下では全てのpHで斃死を生じなかったが、pH=7.7環境下で3世代飼育された個体から生まれたアマノガワテンジクダイ仔魚は、D0濃度=200 μ mol/kg以上の環境下でもpH7.5になるとへい死を生じるようになり（図1-15参照）、酸性環境下における継代飼育によって、継代的に経験してきた以上に厳しいpH環境に対して逆に脆弱になっている可能性が示された。これは継代育種による酸性化・貧酸素耐性個体の作出という観点からは真逆の結果であるが、魚類の継代的な酸性化環境への曝露が酸性化・貧酸素耐性に与える長期的な影響を考慮する上で、学問的に重要な知見を得られたと考えている。ただし、まだ被験個体数が少ないため、今後つい実験を行なって再現性を確かめる必要がある。

7] 栄養塩負荷量の削減が沿岸域の貧酸素化・酸性化を抑制する効果に関する国民との対話

本課題の研究期間中に12件の国民との対話を行い、沿岸域における酸性化・貧酸素化影響とその適応策に関する本課題の研究結果を提示するとともに、それに対する国民目線からの評価を伺った。特にサブテーマ3とサブテーマ4では、沿岸漁業関係者や沿岸自治体職員を対象とした複数回の対話を行い、陸域からの栄養塩負荷量を削減することで沿岸域の貧酸素化と酸性化を抑制できることを伝えるとともに、実際に栄養塩負荷量を削減するうえでの問題点について議論をさせて頂いた。殆どの漁業関係者と自治体関係者が、対話を行う以前は「酸性化は世界的なCO₂削減を行う以外に対処法がない」という認識を持っており、栄養塩負荷量の削減が酸性化対策になり得るといふ知見は驚きをもって迎えられた。ただし東京湾や大阪湾といった極端に栄養塩負荷量の大きな海域以外では、貝類漁業の関係者は将来の酸性化について大きな懸念を持っている一方、魚類を対象とする漁業関係者の多くは、近年の栄養塩負荷量の削減によって沿岸域の生産力も低下したという認識を持っており、海の生産力と貧酸素化・酸性化リスクの低減とのバランスをとる必要があるという意見を持つ方が多かった。具体的に両者のバランスを取り得る方法について、漁業関係者も交えて多くの議論を行った。その結果、1年のうち各沿岸の主要漁業種の餌料供給量維持にとって重要な時期には河川栄養塩濃度を増やし、酸性化や貧酸素化のリスクが特に大きくなる季節には河川栄養塩濃度を低下させるといった、能動的な栄養塩管理手法を導入することが現実的な社会実装の一つとして考案された。また河口域の藻場・干潟の面積を増やす事で、降雨時に河川から流入してくる栄養塩濃度の短期的な変動を緩和させる手法も有効な手段の一つとして受け取られた。今後もこうした議論を各沿岸域で重ねることで、本課題で得られた科学的事実に基づく提言を、それぞれの海域の実情に応じた、漁業関係者も沿岸住民も受け入れやすい栄養塩管理手法に落とし込んでいくことが可能になると考えている。

[引用文献]

- 1) Steckbauer, A., Klein, S.G., Duarte, C.M. 2020. Additive impacts of deoxygenation and acidification threaten marine biota. *Global Change Biology*. 26: 5602-5612.

5-2. 環境政策等への貢献

<行政等が既に活用した成果>

- 1) 北海道環境局気候変動対策課が道内市町村の気候変動適応計画の作成支援及び事業者のビジネス支援のために取りまとめている、道内の気候変動に関する研究情報アーカイブ「地域の気候変動適応に関する研究情報」に、本課題の研究成果2件（本報告書中の論文（査読あり）：サブテーマ4（1）及びその他誌上発表：サブテーマ4（4））が採択され、収録されている。
- 2) 兵庫県知事が会長となり、瀬戸内海沿岸各県と漁業団体・環境衛生団体が会員となって構成されている瀬戸内海環境保全協会が主催する公開講座において、本課題の研究成果が研修内容のひとつとして採用された（本報告書中の国民との対話：サブテーマ3（3））

<行政等が活用することが見込まれる成果>

- 1) 複合影響飼育試験の結果、現在の酸性化環境 (pH = 8.0) におけるシロギス卵・仔魚の貧酸素影響発現閾値 (24-h LC₅) はそれぞれ 4.1mg/L と 4.2mg/L である事が判った。これらの値は底層溶存酸素濃度基準値の策定時に予想されていたシロギス再生産段階の貧酸素耐性評価値 (3.6mg/L) よりも有意に高く、今後底層溶存酸素濃度基準値の見直しが行われる場合には重要な知見となる。
- 2) シロギス卵・仔魚及びシオダマリミジンコ幼生の 24-h LC₅ DO 値は pH によって変化し、PCR2.6 シナリオで今世紀内に予測される pCO₂ 範囲では現在の 24-h LC₅ 値から大幅に変化しないが、PCR8.5 シナリオで今世紀末に内湾で到達すると予想される pH 範囲 (7.6~7.5) では、24-h LC₅ 値が現在よりも上昇してしまうことが判った。この知見は、将来気候下では現行の底層溶存酸素濃度基準値を見直す必要があることを示す重要な知見であると共に、将来の CO₂ 排出量を PCR2.6 シナリオの範囲内に抑えるべきである理由を更に追加するものである。
- 3) 柏崎、宮古、東京湾の各海域における現在の酸性化・貧酸素化の進行状況を評価した結果、東京湾においては、既に DO の年間最低値がシロギス卵の 24-h LC₅ を下回っていること、また年間のうち 87 日間で、pH 日間最低値がマガキ幼生の酸性化影響発現閾値を下回っていることが確認された。これは現在の東京湾が、既に生物への貧酸素影響と酸性化影響が生じ得る環境になっていることを示しており、沿岸生物への影響発現の有無の調査が早急に必要であることを示すものである。
- 4) 栄養塩負荷削減等の施作により海域の酸素飽和度を 10%改善させることができた場合に、付随して期待される pH と Ω_{ara} の増加量を海域ごとに定量化した。この値は、各沿岸自治体が現に実施している貧酸素対策が、酸性化抑制策としてはどの程度の効果を持っているのかを定量的に評価する際に有益な情報となる。
- 5) 東京湾における底層 DO の将来予測実験の結果、世界の CO₂ 排出が RCP8.5 シナリオに従って増加してしまった場合でも、将来の沿岸自治体からの栄養塩排出量を現在の半分に抑えることができれば、将来の東京湾における底層 DO の複合影響発現閾値超過日数を著しく軽減することができること、さらに世界の CO₂ 排出が RCP2.6 シナリオまで抑制でき、なおかつ、将来の沿岸自治体からの栄養塩排出量を現在の半分に抑えることができた場合は、2050 年までに東京湾の底層 DO が複合影響発現閾値を超過する日数をゼロにすることができることが示された。これは、東京湾のような栄養塩負荷の大きな内湾域において、栄養塩負荷の削減が有効な酸性化対策となり得ることを示す結果である。
- 6) 貧酸素条件下において特異的に発現量が増加する 3 種の遺伝子 (ヒートショックプロテイン、低酸素誘導因子、インスリン様成長因子結合タンパク質 1) の特定に成功した。この情報は、今後自治体が沿岸域生物の貧酸素ストレスを評価するために有用な評価指標を提供するものである。

5-3. 研究目標の達成状況

全体目標	目標の達成状況
日本沿岸域における酸性化と貧酸素化の複合影響に関する総合的な評価を実施し、沿岸各自治体が	<u>目標どおりの成果をあげた。</u> 個々の目標に対して、以下のような成果を挙げ

<p>適応策を検討するための基本情報として公開する。</p> <p>具体的には、以下の4つの調査解析を実施する。</p> <p>① 複数の沿岸生物に対する酸性化・貧酸素複合影響評価実験を実施し、それぞれの生物について酸性化・貧酸素化複合影響の発現閾値を特定する。</p> <p>② 飼育実験後の固体の遺伝子発現解析および骨格観察・元素分析を実施し、その結果から各生物の酸性化・貧酸素複合影響発現機序の推定を実施する。</p> <p>③ 日本沿岸域におけるpHと溶存酸素濃度の周年モニタリングを実施し、現在の沿岸域におけるpHと溶存酸素濃度が、得られた閾値に対してどの程度離れた、あるいは近い状況にあるかの評価を実施する。</p> <p>④ 日本沿岸域のpH・溶存酸素変動を再現可能な高解像度沿岸生態系モデルを開発し、将来の日本沿岸域におけるpHと溶存酸素濃度が、何年程度後に得られた閾値に到達するかの予測を実施したうえで、陸域栄養塩負荷量を管理することでこの影響発現閾値到達時期を何年程度遅延させられるかの予測を行い、沿岸各自治体が適応策を検討するための基本情報として公開する。</p>	<p>た。</p> <p>① 飼育実験に基づき複数の生物と生活史段階に対する酸性化・貧酸素化複合影響の存在を検出し、それぞれの影響発現閾値を算定した。</p> <p>② 飼育個体の遺伝子発現解析と殻の形態観察・元素分析により、電子伝達系の機能低下、炭酸カルシウム殻の形成阻害、ボーア効果等の具体的な酸性化・貧酸素化複合影響の発現機序の推定を推定した。</p> <p>③ 沿岸域モニタリングにおいては、東京湾等において既に生物への貧酸素影響と酸性化影響が生じ得る環境になっていることを観測的に明らかにした。また陸域からの栄養塩負荷量を低減させた場合に沿岸域で予想されるDO、pH、アラゴナイト飽和度の上昇量を評価する手法を開発した。</p> <p>④ ③で開発された栄養塩負荷量の低減効果評価手法を数値モデルに組み込むことで、将来の東京湾においてpHが生物への複合影響発現閾値を下回る日数を、将来の栄養塩負荷量を現在の半分に削減させることで劇的に低下させることができることを定量的に示した。</p> <p>これらの知見を統合することで、沿岸自治体からの栄養塩負荷量を削減する施策が将来の酸性化・貧酸素複合影響を低減する適応策として有効であることを示す一連の理論的根拠を構築し、各沿岸の自治体関係者や漁業関係者に情報発信を行うとともに、漁業関係者も沿岸住民も受け入れやすい具体的な社会実装方法についての検討を進めた。</p>
---	--

サブテーマ 1 目標	目標の達成状況
<p>6種の沿岸生物に対して、卵の正常発生率・孵化率、幼生の生残率・変態成功率、成体の成長速度、成体の生残率に関する酸性化・貧酸素化複合影響の発現閾値を特定し、適応策検討のための基礎的情報として公開する。</p>	<p><u>目標どおりの成果をあげた。</u></p> <p>6種の生物に対する酸性化・貧酸素化複合影響飼育実験を実施した。卵・幼生の生残率に対するDOの貧酸素影響発現閾値がpH条件により変化する「複合影響」の発生が確認された。21世紀末に予想されるpH条件下ではDOの貧酸素影響発現閾値が現在よりも上昇し、酸性化によって生物が貧酸素に対して更に脆弱になる可能性が示された。また成長率や行動においても、pHのみ・溶存酸素のみを変化させた場合と双方を同時に変化させた場合で異なる影響が現れることを確認した。</p>

サブテーマ 2 目標	目標の達成状況
<p>6種の海産生物について、複合影響評価実験実施後の個体の遺伝子発現解析を実施し、さらに炭酸塩外骨格を持つ3種については骨格観察・元素分析を実施する。その結果から各生物の酸性化・貧酸素化複合影響発現機序を推定し、適応策検討のための基礎的情報として公開する。</p>	<p><u>目標どおりの成果をあげた。</u></p> <p>サブテーマ1で飼育が実施された6種の海産生物の遺伝子発現解析を実施し、また3種の骨格観察と元素分析を実施した。この結果、貧酸素条件下では酸素欠乏による電子伝達系の機能低下、酸性条件下では炭酸カルシウム殻の形成阻害が発生することが生物影響の生理的機序として推定された。中程度のpH条件下で発生する緩和的複合影響の機序としてはボーア効果の寄与が推定された。また、貧酸素条件下において特異的に発現量が増加する、3種のストレス指標遺伝子を特定した。</p>
サブテーマ 3 目標	目標の達成状況
<p>柏崎、宮古の2地点におけるpHと溶存酸素の周年連続観測を実施し、各海域におけるpHと溶存酸素の周年変動・周日変動の実態をpHについては±0.02、溶存酸素については±5μmol/Lの精度で把握する。この結果を基に、サブテーマ1で得られた各生物の複合影響発現閾値に対して現在の海洋環境がどの程度離れた、あるいは近い状況にあるかの評価を実施する</p>	<p><u>目標以上の成果をあげた。</u></p> <p>柏崎、宮古のpHとD0の周年・周日変動を目標精度で把握し、更に東京湾でも現場観測と既存データの収集を行ない、3海域の酸性化・貧酸素化現状評価を行なった。この結果、宮古と東京湾で酸性化影響発現閾値を下回るpH、さらに東京湾では貧酸素化影響発現閾値を下回るD0が現時点でも出現していることを確認した。閾値を下回るpHやD0は、降雨時の短期的なpHとD0の低下イベント時に発生していることも突き止め、更にこのイベント時のpH・D0低下幅を抑える方策も考案した。</p>
サブテーマ 4 目標	目標の達成状況
<p>柏崎、宮古の2地点におけるpH・溶存酸素変動を再現可能な高解像度沿岸生態系モデルを開発し、各海域における将来のpHと溶存酸素濃度の変動を、複数の陸源栄養塩負荷量変動シナリオの元で予測し、それぞれの栄養塩シナリオにおいて、2海域のpHと溶存酸素濃度が海洋生物の複合影響発現閾値に到達してしまう年代の予測を実施する。この結果を用いて、沿岸各自治体が陸源栄養塩負荷量を適切にコントロールする事で、沿岸生態系の複合影響発現を何年程度遅延、あるいは完全に回避できるかという定量的な情報を提供し、沿岸各自治体の適応計画の策定に資する。</p>	<p><u>目標以上の成果をあげた。</u></p> <p>柏崎・宮古に東京湾も加えた3海域で、pH・溶存酸素変動を再現可能な高解像度沿岸生態系モデルを開発し、複数のCO₂排出シナリオと栄養塩シナリオ毎に各海域におけるD0、pH及びアラゴナイト飽和度の将来予測を実施した。この結果、高栄養塩負荷海域である東京湾では、栄養塩負荷量を現在から半減させることで、将来のCO₂排出量をRCP8.5からRCP2.6に引き下げたのとほぼ同程度の酸性化・貧酸素化複合影響発現リスク抑制効果を期待できることを定量的に示した。柏崎と宮古では、逆に栄養塩負荷量を増加させることで酸性化・貧酸素化複合影響の発現タイミングを数年程度遅らせることが可能であることが示された。</p>

6. 研究成果の発表状況

6-1. 査読付き論文

<件数>

7件

<主な査読付き論文>

- 1) M. Yorifuji, M. Hayashi and T. Ono: Science of the Total Environment, in review (2023), Interactive Effects of Ocean Deoxygenation and Acidification on a Coastal Fish *Sillago japonica* in Early Life Stages (IF:10.7)
- 2) A. Iguchi, M. Hayashi, M. Yorifuji, M. Nishijima, K. Gibu, T. Kunishima, Bell T, A. Suzuki, T. Ono: Science of the Total Environment, in review (2023) Whole transcriptome analysis of demersal fish eggs reveals complex responses to ocean deoxygenation and acidification (IF: 10.7)
- 3) T. Ono: Journal of Oceanography, 77, 659-684 (2021) Long-term trends of oxygen concentration in the waters in bank and shelves of the Southern Japan Sea. (IF:2.0)
- 4) T. Ono, D. Muraoka, M. Hayashi, M. Yorifuji, A. Dazai, S. Omoto, T. Tanaka, T. Okamura, G. Onitsuka, K. Sudo, M. Fujii, R. Hamanoue and M. Wakita: Biogeoscience, in review (2023), Short-term variation of pH in seawaters around Japan coastal areas: Its characteristics and forcings. (IF:5.1)
- 5) M. Fujii, S. Takao, T. Yamaka, T. Akamatsu, Y. Fujita, M. Wakita, A. Yamamoto and T. Ono: Frontiers in Marine Science, 8, 590020 (2021) Continuous monitoring and future projection of ocean warming, acidification, and deoxygenation on the subarctic coast of Hokkaido, Japan. (IF:5.2)
- 6) M. Fujii, R. Hamanoue, L. P. C. Bernardo, T. Ono, A. Dazai, S. Oomoto, M. Wakita and T. Tanaka: Biogeoscience, in review (2023) Observed and projected impacts of coastal warming, acidification, and deoxygenation on Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) farming: A case study in the Hinase Area, Okayama Prefecture and Shizugawa Bay, Miyagi Prefecture, Japan. (IF: 5.1)
- 7) L. P. C. Bernardo, M. Fujii and T. Ono: Frontiers in Marine Science, in review (2023) Development of a high-resolution marine ecosystem model for predicting the combined impacts of ocean acidification and hypoxia. (IF: 5.2)

6-2. 知的財産権

特に記載すべき事項はない

6-3. その他発表件数

その他誌上発表（査読なし）	7件
口頭発表（学会等）	30件
「国民との科学・技術対話」の実施	12件
マスコミ等への公表・報道等	3件
本研究費の研究成果による受賞	2件

その他の成果発表

0件

7. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

8. 研究者略歴

研究代表者

小埜 恒夫

北海道大学水産学部卒業、博士（水産学）、現在水産研究・教育機構水産資源研究所主幹研究員

研究分担者

1) 林 正裕

長崎大学大学院生産科学研究科卒業、博士（水産学）、現在海洋生物環境研究所主査研究員

2) 依藤 実樹子

東京大学大学院理学系研究科卒業、博士（理学）、現在海洋生物環境研究所契約研究員

3) 鈴木 淳

東北大学理学部地質学古生物学教室卒業、理学博士、現在産業技術総合研究所研究グループ長

4) 井口 亮

James Cook University博士課程修了、Ph.D、現在産業技術総合研究所主任研究員

5) 村岡 大祐

北海道大学水産学部卒業、博士（水産学）、現在水産研究・教育機構水産技術研究所グループ長

6) 藤井 賢彦

九州大学理学部卒業、博士（地球環境科学）、現在北海道大学大学院地球環境科学研究院准教授

7) Lawrence Patrick Bernardo

アテネオ・デ・マニラ大学工学部卒業、博士（土木）、現在北海道大学大学院地球環境科学研究院博士研究員

II. 成果の詳細

II-1 海洋生物への酸性化と貧酸素化の複合影響評価実験

公益財団法人海洋生物環境研究所

実証試験場 応用生態グループ

実証試験場 応用生態グループ

林 正裕

依藤 実樹子

[要旨]

日本沿岸域における海洋酸性化と貧酸素化の複合影響に関する総合的な評価を実施するために、生物門や成長段階の異なる複数の沿岸生物に対する酸性化・貧酸素化複合影響評価実験を実施し、それぞれの生物について酸性化・貧酸素化複合影響の発現閾値を特定することを目的とした。また、実験に用いた生物の一部は、サブテーマ2で実施する遺伝子発現解析及び骨格観察・元素分析用の試料として供与した。

実験生物として、シロギス（脊索動物）、アマノガワテンジクダイ（脊索動物）、ウバガイ（軟体動物）、バイ（軟体動物）、キタクシノハクモヒトデ（棘皮動物）及びシオダマリミジンコ（節足動物）の6種を選定した。複合影響評価実験を実施するため、酸性化を模した環境としてCO₂分圧（pCO₂）を5段階（400、750、1000、1250及び1500µatm）、貧酸素化を模した環境として溶存酸素（DO）濃度を5段階（230、185、140、95及び50µmol/kg）の合計25区の実験条件を同時に運用可能な、止水式の酸性化・貧酸素化複合影響実験系を日本で初めて構築した。生物の体サイズ、準備できる個体数、作業の複雑さなどに応じて、9～25の実験条件に実験生物をばく露した。さらに、流水式の酸性化・貧酸素化複合影響実験系を構築し、試験管などでは実験できない体サイズの個体（成体など）や種を用いた実験や長期間の実験が実施可能になった。

止水式の複合影響評価実験の結果、シロギス卵・仔魚、アマノガワテンジクダイ仔魚及びシオダマリミジンコ幼生では、貧酸素の影響が強く示され、DO濃度=150µmol/kg以下の低DO環境下で生残率やふ化率の低下が生じる傾向が見られた。キタクシノハクモヒトデ成体では、実験によりへい死する個体は認められなかったが、DO濃度=50µmol/kg以下の貧酸素条件下で運動性の鈍化が見られた。ウバガイ及びバイの卵と幼生は、致死影響を生じなかった。致死影響が生じたシロギス卵・仔魚とシオダマリミジンコ幼生の実験結果からDOの半数致死濃度（シロギス卵・仔魚は24時間、オダマリミジンコ幼生は48時間）を算出（ロジットモデル）した結果、シロギス卵は平均96.7µmol/kg、シロギス仔魚は平均92.5µmol/kg及びシオダマリミジンコ幼生は平均54.9µmol/kgであった。シロギス卵・仔魚については、生息地の一部（東京湾など）で既に半数致死濃度を下回るDO濃度が観測されており、貧酸素化の対策を早急に検討する必要ある。

流水式の複合影響評価実験ではpCO₂を2段階（自然海水の値及び850µatm）、DO濃度を2段階（自然海水の値及び115µmol/kg）の合計4実験区を設け、ウバガイ及びバイの稚貝に対する3ヶ月間の成長実験を行った。また、同じ実験系を使用し、シオダマリミジンコ成体に対する1週間の複合影響評価実験を行った。それらの結果、ウバガイ稚貝では貧酸素環境が摂餌を促進し、体重及び殻サイズが増加する傾向が見られた。バイでは、開始時4ヶ月齢の稚貝は複合影響区（pCO₂=850µatm、DO濃度=115µmol/kg）のみ成長が抑制されたが、開始時16ヶ月齢の稚貝は貧酸素環境下と複合影響環境下で成長が抑制されたほか、酸性化環境下でも殻の生成が抑制された。シオダマリミジンコ成体では、酸性化環境下のみ生残率の低下が見られた。

より直接的な適応策である「魚類における酸性化・貧酸素化複合影響耐性個体の選抜育種」に繋がる基礎研究として、アマノガワテンジクダイの酸性化・貧酸素化複合影響耐性を評価する実験系を構築し、基礎的情報の収集を試みた。

1. 研究開発目的

日本沿岸域における海洋酸性化と貧酸素化の複合影響に関する総合的な評価を実施するために、複数の沿岸生物に対する酸性化・貧酸素化複合影響評価実験を実施し、それぞれの生物について酸性化・貧酸素化複合影響の発現閾値を特定する。また、サブテーマ2で実施する遺伝子発現解析及び骨格観察・元素分析用の試料を供与する。

2. 研究目標

6種の沿岸生物に対して、卵の正常発生率・ふ化率、幼生の生残率・変態成功率、成体の成長速度及び成体の生残率に関する酸性化・貧酸素化複合影響の発現閾値を特定し、適応策検討のための基礎的情報として公開する。

3. 研究開発内容

・実験生物

実験に用いる沿岸生物は、脊索動物（魚類）、軟体動物、棘皮動物及び節足動物（甲殻類）の生物門から選定した。酸性化単独の生物影響調査では、熱帯性魚類の行動影響に関する研究例が多く、石灰化生物についても多くの研究例があるものの、水産有用種を扱った例が少なかった。そこで、実験を実施した海洋生物環境研究所（海生研）の生物飼育実績を勘案しながら、水産有用種を含む、沿岸域に生息する種で異なる栄養段階にある、シロギス、アマノガワテンジクダイ、ウバガイ、バイ、キタクシノハクモヒトデ及びシオダマリミジンコを選定した（図1-1）。

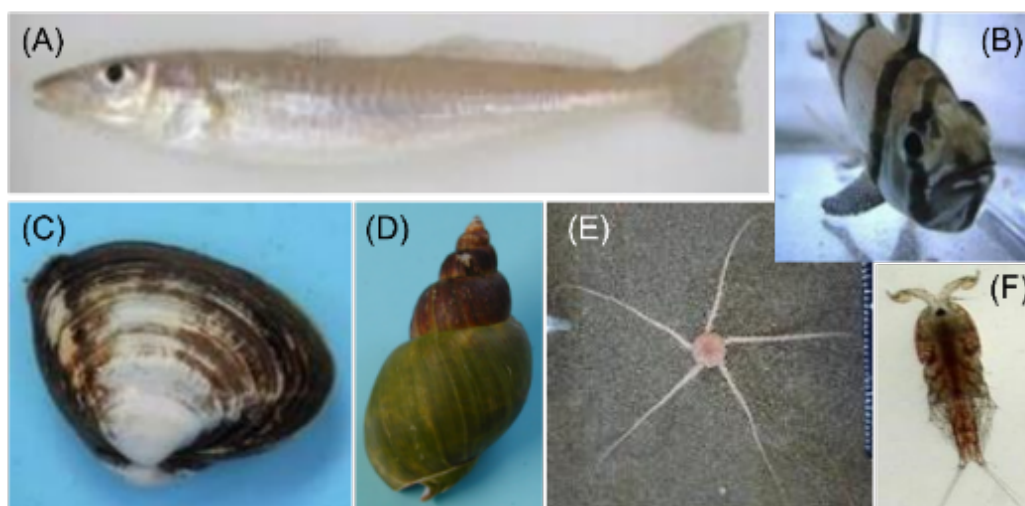


図1-1 実験に用いた生物（いずれも成体）。(A)シロギス、(B)アマノガワテンジクダイ、(C)ウバガイ、(D)バイ、(E)キタクシノハクモヒトデ及び(F)シオダマリミジンコ。

・止水式複合影響評価実験

複合影響評価実験を実施するため、実験条件を検討し、酸性化についてはpHよりも高精度の計測が可能な $p\text{CO}_2$ を指標として条件を制御した。海水に一定濃度の CO_2 ガスと O_2 ガスを通気することで $p\text{CO}_2$ を5段階（400、750、1000、1250及び1500 μatm ）、 DO 濃度を5段階（230、185、140、95及び50 $\mu\text{mol/kg}$ ）にそれぞれ制御できる止水式の酸性化・貧酸素化複合影響実験系を日本で初めて構築し、25区の実験条件を同時に設定可能とした。内容積3Lのばっ気筒中で海水に0.4L/分の標準ガスを2時間通気して水中のガス分圧を平衡させて、代表的な9種の実験海水を準備し、さらにこれら9種を適宜調合することで残る16種の実験海水を調製した（図1-2、表1-1及び表1-2）。なお、 $p\text{CO}_2$ の各段階は、pHに換算すると概ね8.0、7.8、7.7、7.6及び7.5（いずれも海水スケール）に相当する。また DO の各濃度は DO 飽和度に換算すると概ね100、80、60、40及び20%に相当する。

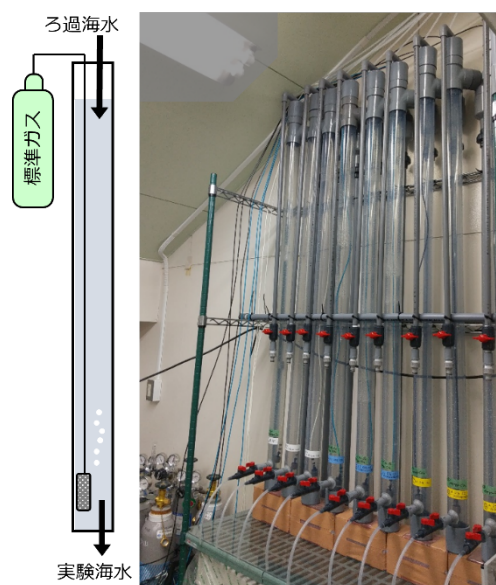


図1-2 止水式複合影響評価実験海水の作製に用いたばっ気筒。模式図（左）と写真(右)。

表1-1 止水式複合影響評価実験海水の作製に用いた標準ガスの組成。*ベースガスとして含有。

実験条件	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
pH	8.0	8.0	8.0	7.7	7.7	7.7	7.5	7.5	7.5
DO (μmol/kg)	230	140	50	230	140	50	230	140	50
標準ガス組成									
CO ₂ (ppm)	400	400	400	1000	1000	1000	1500	1500	1500
O ₂ (%)	-	9.7	-	-	9.7	-	-	9.7	-
Air*	+	-	-	+	-	-	+	-	-
N ₂ *	-	+	+	-	+	+	-	+	+

表1-2 止水式複合影響評価実験海水の作製に用いた海水の混合比。海水の番号は表1-1に対応。

実験条件	pH				
	8.0	7.8	7.7	7.6	7.5
DO (μmol/kg) 230	I	I: II = 40: 60	II	II: III = 45: 55	III
185	I: IV = 50: 50	I: II: IV: V = 20: 30: 20: 30	II: V = 50: 50	II: III: V: VI = 22.5: 27.5: 22.5: 27.5	III: VI = 50: 50
140	IV	IV: V = 40: 60	V	V: VI = 45: 55	VI
95	IV: VII = 50: 50	IV: V: VII: VIII = 20: 30: 20: 30	V: VIII = 50: 50	V: VI: VIII: IX = 22.5: 27.5: 22.5: 27.5	VI: IX = 50: 50
50	VII	VII: VIII = 40: 60	VIII	VIII: IX = 45: 55	IX

この止水式実験系を用いてシロギス卵・仔魚、アマノガワテンジクダイ卵・仔魚、ウバガイ卵・幼生、バイ卵・幼生、キタクシノハクモヒトデ成体及びシオダマリミジンコ幼生の実験を実施した。各種の詳細な実験条件は表1-3の通りである。実験水温は海生研における各種のこれまでの実績を基に決定し、実験容器の容積は各種の体サイズや呼吸量より選定した。小型生物についてはpCO₂5段階、DO濃度5段階の25区全てで実験を実施し、観察作業が複雑で条件間でばく露時間に大幅な差が生じると判断した種と、大型生物については適宜条件数を減らして実験を実施した。なお、全ての止水式実験は無給餌で行った。卵については飼育実験終了時のふ化率、幼生については飼育実験終了時の生残率を計測し、各pCO₂条件下におけるDOの24時間ばく露半数致死濃度（24-h LC₅₀、シオダマ

リミジンコ幼生は48-h LC₅₀)を算出(ロジットモデル;フリーソフトウェア^{R1)}上でプログラムパッケージdrc²⁾を使用)した。キタクシノハクモヒトデ成体については、対照区の環境下で24時間のじゅん化を行った後、48時間のばく露実験を実施した。さらに、運動性(行動)の変化を調べるため、じゅん化とばく露の終了時に、人為的に裏返した際に元に戻る起き上がり行動(図1-3)の有無と所要時間を調べた。実験海水の作製時に、ばく気筒に注入したのと同じ海水を採水し、その塩分とアルカリ度を測定するとともに、実験の開始時と終了時に実験容器内の海水のpH(海水スケール)・DO・水温を測定し、pCO₂はこれらの水質情報より算出(海水炭酸系コンピュータプログラム「CO2SYS version2.1」³⁾を使用。計算で選択したパラメータは、Set of ConstantsがK1, K2 from Mehrbach et al. 1973、KHSO₄がDickson 1990、pH ScaleがSeawater scale、[B]T ValueがUppstrom 1974)である。

表1-3 止水式複合影響評価実験に用いた生物種と実験条件。海水量と個体数は、各実験条件あたりの量を示す。

生物種	生活史段階	水温	期間	濃度区画	海水量	個体数	試行数
シロギス	卵	25°C	24時間	25	100 mL	10 ^c	5
	仔魚	25°C	24時間	25	100 mL	10 ^c	4
アマノガワテンジクダイ	卵	26°C	24時間	9 ^a	100 mL	1	1 ^e
	仔魚	26°C	24時間	9 ^a	100 mL	1	1 ^e
ウバガイ	卵	17°C	24時間	9 ^a	50 mL	600-800 ^c	3
	幼生	17°C	48時間	9 ^a	50 mL	40 ^c	3
バイ	卵	23°C	96時間	9 ^a	50 mL	10-40 ^d	3
	幼生	23°C	48時間	9 ^a	50 mL	10 ^c	5
キタクシノハクモヒトデ	成体	6°C	24時間	9 ^a	1000 mL	1	3
シオダマリミジンコ	幼生	25°C	48時間	25	100 mL	10 ^c	3
	成体	25°C	2週間	2 ^b	100 mL	10 ^c	3

a: pCO₂・DO濃度の段階を間引いた9条件(表1-1のI、II、III、IV、V、VI、VII、VIII及びIX)

b: 対照区と最も厳しい条件の2段階(表1-1のI及びIX)

c: 体サイズが小さいため概数で実施

d: 1卵囊ずつ実施、卵囊内卵数のばらつきあり

e: 抱卵の都度実施、一腹卵数により試行毎の個体数が変動

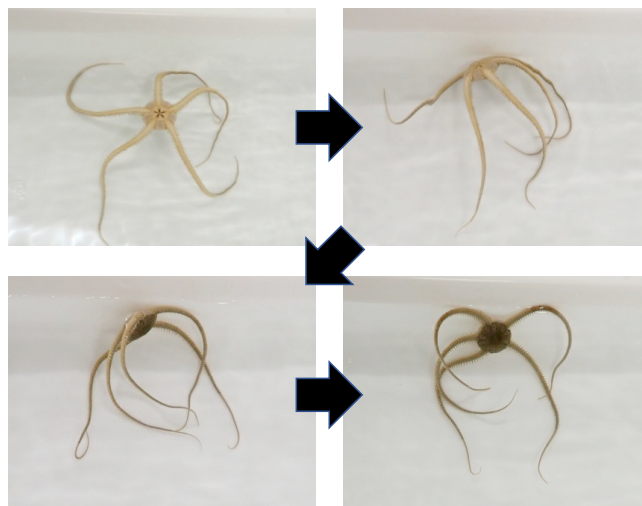


図1-3 キタクシノハクモヒトデの起き上がり行動。

サブテーマ2への分析用試料の供与については、当初は上記実験に用いた個体を実験後に試料採取する計画であったが、RNA抽出条件を検討した結果、実験の個体数では組織量が不十分な種があった。そこで、上記実験から実験条件を適宜減少させるとともに、多数の個体を各実験条件にばく露する実験を別途実施し、これをサブテーマ2の分析試料として供与した。

・流水式複合影響評価実験

試験管などでは実験できない体サイズの個体（成体など）や種を用いた実験や長期間の実験を実施するため、試験水を掛け流しで実験できる流水式酸性化・貧酸素化複合影響実験系を構築した（図1-4）。海水にCO₂ガスを通気して作製した高pCO₂海水と、N₂ガスを通気して作製した低DO海水を自然海水と混合することで、pCO₂を2段階（自然海水の値及び850µatm）、DO濃度を2段階（自然海水の値及び115µmol/kg）に設定した合計4実験区を同時に運用できるようにした。自然海水中のpCO₂及びDOは常に変動することから、実験期間中は水槽中の水質をモニタリングし、高pCO₂海水、低DO海水、及び自然海水の混合比を1日1-2回程度調整し、設定値ないしその近傍を維持するようにした（水質のモニタリング結果及び維持状況については表1-7及び1-8を参照）。ウバガイ稚貝（6ヶ月齢）及びバイ稚貝（4ヶ月齢及び16ヶ月齢、いずれも開始時）の実験を水温20℃で、シオダマリミジンコ成体の実験を水温25℃で実施した。なお、シオダマリミジンコ成体は、止水式複合影響評価実験では致死影響を生じなかったことから、流水式の実験を実施することとした（下記参照）。また、当初の計画では、シロギス及びアマノガワテンジクダイの成体についても実験予定であったが、生育状況などの理由で実験個体数を十分に確保できなかったため、実験できなかった。

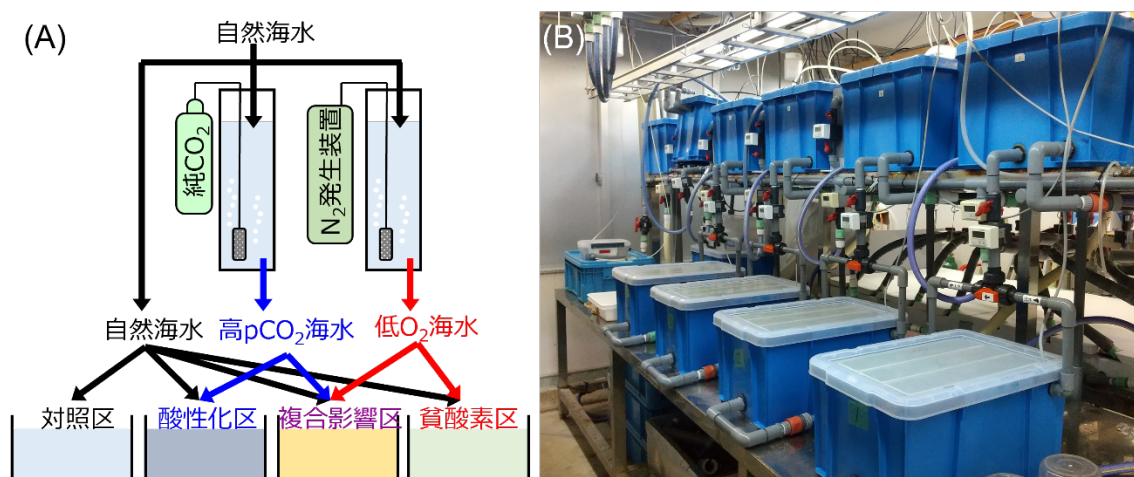


図1-4 流水式複合影響評価実験系。(A)実験海水作製の模式図、(B)実験水槽全体像。

ウバガイ及びバイは3ヶ月の成長実験を実施した。実験水槽（図1-4、下段青色コンテナ；容量35L）に、ウバガイ、バイを収容する区画を設け（図1-5）、それぞれ10個体を収容し、実験水を1L/分で掛け流した。実験期間中は、ウバガイには植物プランクトン、バイには冷凍アミ及び自製モイストペレットを毎朝夕、何れも飽食量を与えた。実験の開始時、1、2及び3ヶ月後に各個体の体重（水中重量）及び殻のサイズ（ウバガイは殻高、殻長及び殻幅、バイは殻長及び殻幅）を測定した。



図1-5 ウバガイ・バイの流水式複合影響評価実験水槽内部の様子。奥の砂の入った小水槽内でウバガイを飼育し、手前でバイを飼育した。

シオダマリミジンコ成体は、1週間のばく露実験を3回繰り返した。交尾前の雌雄ペア5組（雄5個体、雌5個体）を、目合い150 μ mのメッシュで通水口を付けた300mL容量のプラスチック容器に収容し、上記実験水槽に沈めて実験海水にばく露した（図1-6）。実験期間中は1日1回、水槽中に餌の植物プランクトンを添加し、1週間の経過後に容器内の個体数を計数した。実験期間中は週1回、対照区水槽内の海水を採水し、その塩分及びアルカリ度を測定するとともに、全水槽の海水のpH（NBSスケール）、D₀、水温及びpCO₂を測定した。

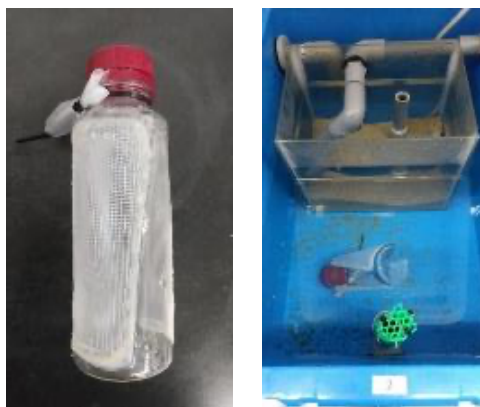


図1-6 シオダマリミジンコ成体の実験容器（左）と水槽内の様子（右）。

・適応策の検討

より直接的な適応策である「魚類における酸性化・貧酸素化複合影響耐性個体の選抜育種」に繋がるための基礎研究を実施した。海生研では酸性化環境下（pCO₂=850 μ atm、pH=7.8）で長期にわたりアマノガワテンジクダイを継代飼育（実験開始時点で4世代目を生産中）していることから、対照環境下及び酸性化環境下でそれぞれ継代飼育した個体から得た卵及び仔魚を用いて、止水式複合影響評価実験を実施した。そして、ばく露24時間後の生残率を調べるとともに、遺伝子発現解析のための試料を経時的に採取・調製した。

4. 結果及び考察

・止水式複合影響評価実験

止水式の酸性化・貧酸素化複合影響耐性評価実験の結果、シロギス卵・仔魚、アマノガワテンジクダイ仔魚及びシオダマリミジンコ幼生には、貧酸素の影響が強く示され、D₀濃度=150 μ mol/kg以下の低D₀環境下で生残率やふ化率に低下傾向が見られた。キタクシノハクモヒトデ成体においては、

実験によりへい死する個体は認められなかったが、DO濃度=50 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 以下の貧酸素条件下で、運動性の鈍化が見られた。ウバガイ及びバイの卵と幼生は、致死影響を生じなかった。

シロギス卵・仔魚の実験では、貧酸素の影響が強く示され、DO濃度=150 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 以下でへい死が増加した。50 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 付近ではほとんどの個体がへい死し、卵ではふ化に成功する個体も見られたが、仔魚では4回の試行全てで生残率は0%であった（図1-7）。これらのふ化率や生残率の結果から、各pH条件下の24時間半数致死DO濃度（24-h LC_{50} ）を算出した結果を図1-8に示した。24-h LC_{50} の最低値は卵ではpH7.6条件下、仔魚ではpH7.8条件下であり、最高値は卵及び仔魚ではともにpH7.5条件下であった。24-h LC_{50} の最低値が示されたのが、pHの対照区であるpH8.0条件下ではなく、pH7.6

（卵）/7.8（仔魚）条件下であったことから（表1-4）、ある程度の酸性化環境下では、貧酸素による影響が緩和され、貧酸素耐性が向上するのではないかと推察された。シロギスの生息地でもある東京湾では、シロギスの繁殖期である夏期に、水深15mでpH7.8、DO濃度=110 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ を下回ることが報告⁴⁾されており、本種の卵や仔魚は自然下で既に半数致死濃度以下の環境を経験している可能性が考えられた。

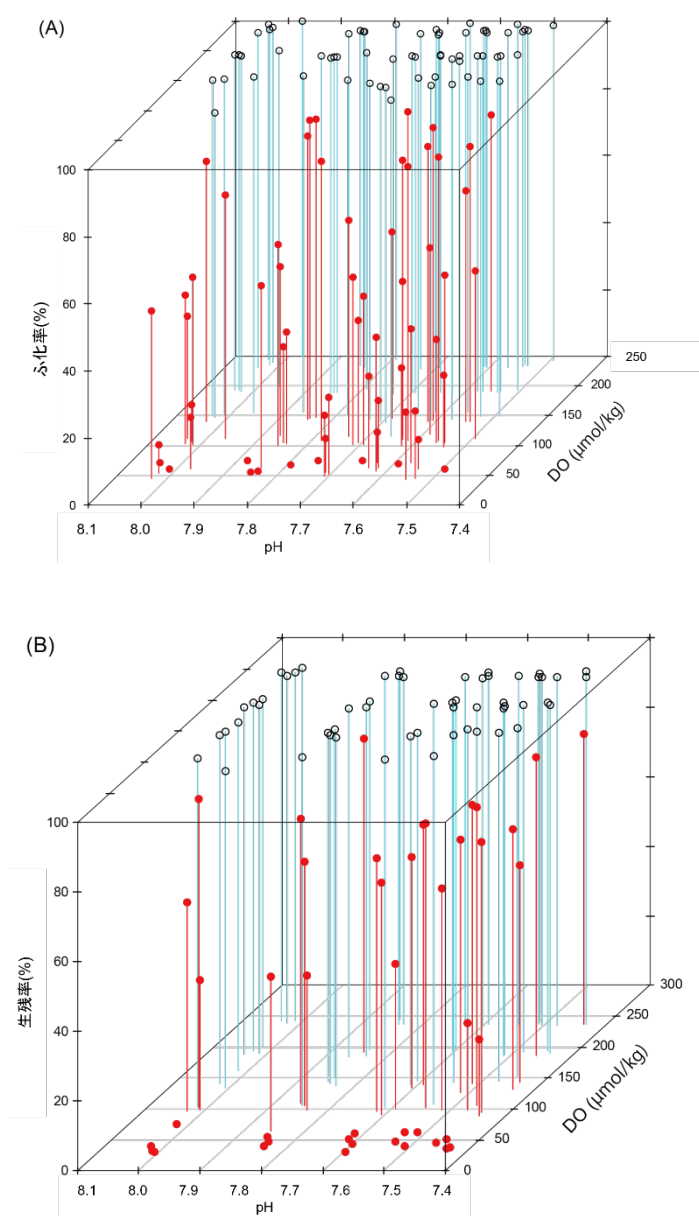


図1-7 シロギス卵のふ化率 (A) と仔魚の生残率 (B)。pHとDOは、実験開始時と終了時に測定した値の平均値を示す。水色は90%以上が孵化／生残した実験区、赤色は同90%未満の実験区を示す。25条件3試行の75実験区を記載。

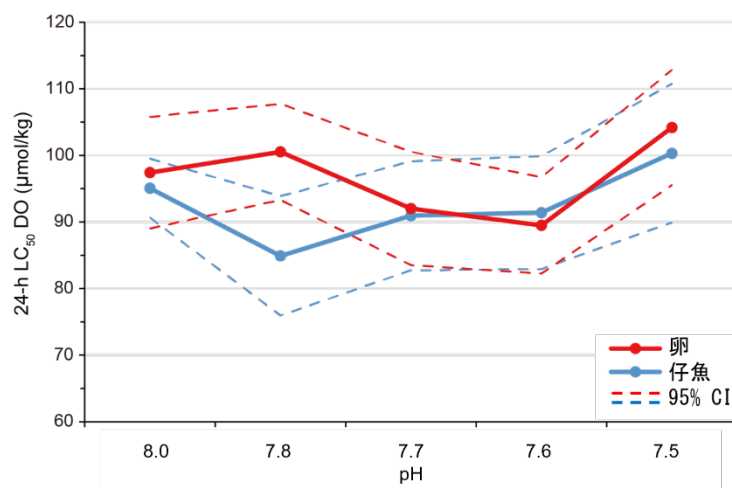


図1-8 シロギス卵（赤線）と仔魚（青線）の各pH条件下における24時間半数致死DO濃度（24-h LC₅₀）。点線は95%信頼区間を示す。

表1-4 シロギス卵と仔魚に推定された各pH条件下における生存曲線の回帰分析。図1-8に示す24-h LC₅₀の算出過程で推定された生存曲線の傾きが、対照区（pH8.1）と同じと仮定した場合の切片の差を調べた（*：p<0.05）。

卵	推定値	SE	t value	P
pH 8.0の切片	50.35	2.66	18.95	0.00
pH 7.8との比較	1.83	2.84	0.64	0.52
pH 7.7との比較	-5.01	2.84	-1.76	0.09
pH 7.6との比較	-8.79	2.84	-3.09	0.00*
pH 7.5との比較	6.93	2.84	2.44	0.02*
pH 8.0の傾き	1.02	0.03	29.26	0.00

仔魚	推定値	SE	t value	P
pH 8.0の切片	61.14	3.23	18.90	0.00
pH 7.8との比較	-8.52	3.46	-2.46	0.02*
pH 7.7との比較	-2.62	3.46	-0.76	0.45
pH 7.6との比較	-2.76	3.46	-0.80	0.43
pH 7.5との比較	8.49	3.46	2.46	0.02*
pH 8.0の傾き	0.69	0.04	16.21	0.00

シロギスと同じ魚類であるアマノガワテンジクダイの仔魚においても、貧酸素の影響が顕著であることが示されたが、DO濃度=50μmol/kg下の生残率は50%だった（図1-9）。この違いは、体サイズや個体密度の違い、種特异性などによるものと考えられる。一腹に由来する個体でしか実験できなかったことから、24-h LC₅₀の算出は行わなかった。また、アマノガワテンジクダイの卵についても実験を実施したが、対照区を含むほとんどの実験区でへい死が見られ、実験環境へのばく露による影響とは考えにくいことから、実験不成立とした。早期に口内保育を中止して実験に用いたことや、卵塊から卵を切り出す操作により卵が傷ついたことによるへい死と考えられる。今後、アマノガワテンジクダイの卵を用いた実験を行うためには、卵採取の時期や方法を再検討する必要がある。

24時間のばく露実験ではへい死が生じたため、遺伝子発現解析用に3時間のばく露実験を別途実施し遺伝子発現解析用試料をサブテーマ2に提供した。

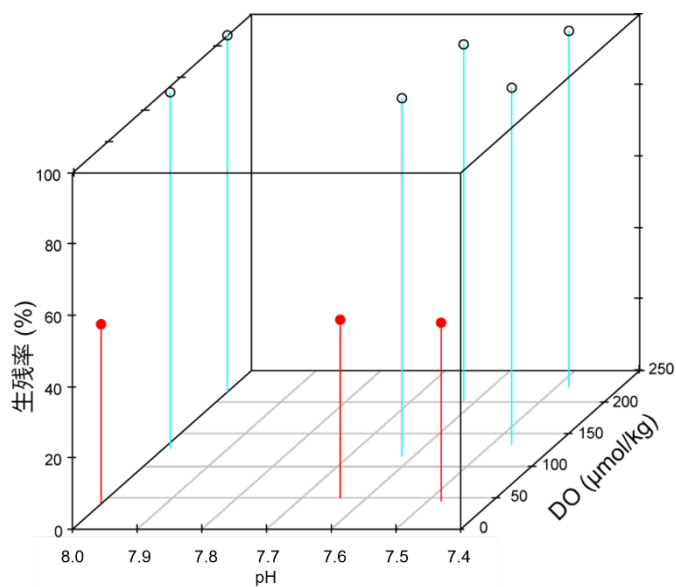


図1-9 アマノガワテンジクダイ仔魚の平均生存率（各N=2、合計18個体）。pHとDOは、実験開始時と終了時に測定した値の平均値を示す。水色は90%以上が孵化／生残した実験区、赤色は同90%未満の実験区を示す。

シオダマリミジンコ幼生においてもシロギスと同様の傾向が見出されたが、DO濃度=50 $\mu\text{mol/kg}$ 下で全個体がへい死する実験区がなかった点は、シロギス卵・仔魚とは異なっていた（図1-10）。48-h LC_{50} を算出したところ、平均54.9 $\mu\text{mol/kg}$ で、最低値はpH7.7で算出された（図1-11）。シオダマリミジンコ幼生もシロギス卵・仔魚と同様に、pH7.7程度の酸性化環境下では、貧酸素による影響が緩和され、貧酸素耐性が向上する可能性が示された。シオダマリミジンコは沿岸部のタイドプールに生息することが知られており、海水温や塩分濃度が日常的に大きく変動する環境にさらされていると考えられる。 LC_{50}DO の値がシロギスよりも低いことは、シオダマリミジンコ生来の環境耐性の高さを示すものと考えられた。なお、シオダマリミジンコ成体について、同様の実験を実施したが、致死影響を生じなかったことから、流水式の実験を実施することとした（下記参照）。

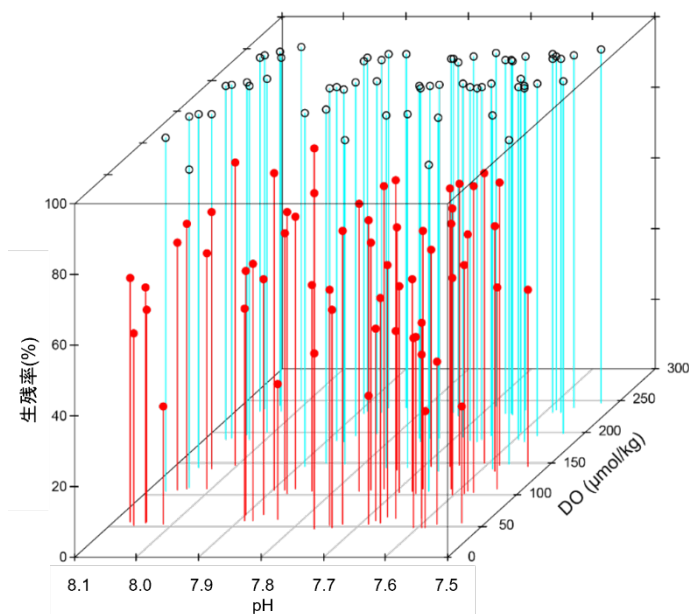


図1-10 シオダマリミジンコ幼生の生存率。pHとDOは、実験開始時と終了時に測定した値の平均値を示す。水色は90%以上が孵化／生残した実験区、赤色は同90%未満の実験区を示す。25条件3試行の75実験区を記載。

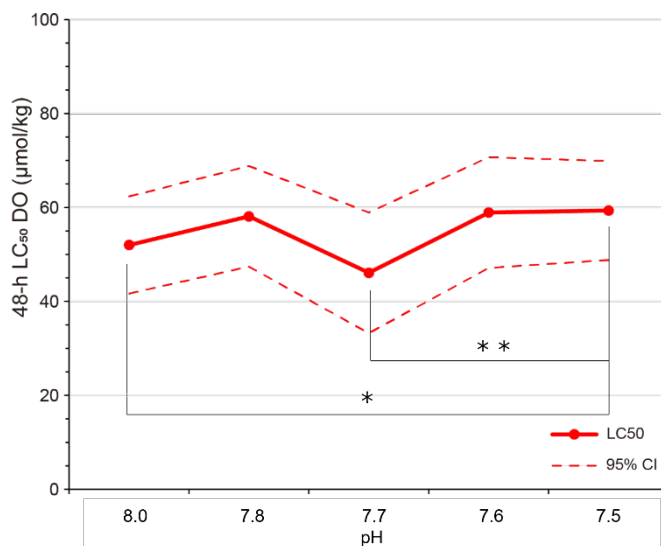


図1-11 シオダマリミジンコ幼生の各pH条件下における48時間半数致死DO濃度（48-h LC₅₀）。各pH間で比較したところ、pH7.5と7.7の間に有意差があり（ANOVA、 $p < 0.05$ ）、pH7.5と8.0（対照区）の間に有意な傾向（marginal significance、ANOVA、 $p = 0.06$ ）があった。

キタクシノハクモヒトデ成体では、実験によるへい死は見られなかったが、DO濃度=50 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 下で起き上がり行動を示さないか所要時間が長くなる場合（運動性の鈍化）があった（表1-5）。この運動性の鈍化は、pH7.8の条件で最も顕著で、3個体中2個体が起き上がらなかった。次いでpH8.0でも鈍化が見られたが、pH7.6では他のDO=230 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ や140 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 下との違いは顕著ではなかった。シロギス卵・仔魚やシオダマリミジンコ幼生において、pH7.6-7.7付近で貧酸素影響が緩和される傾向が見られたが、キタクシノハクモヒトデ成体においては、pH7.5付近でこの緩和傾向が見られているものと推測された。

表1-5 キタクシノハクモヒトデのばく露実験前後の起き上がり所要時間の差（秒）の平均値と標準偏差（各条件3個体）。*2個体がばく露後に起き上がりを示さなかったため1個体の値を示す。

実験条件		pH		
		8.0	7.7	7.5
DO ($\mu\text{mol}/\text{kg}$)	230	0.87 \pm 1.20	-0.05 \pm 1.39	1.66 \pm 2.16
	140	1.59 \pm 2.56	0.26 \pm 0.64	1.09 \pm 1.88
	50	6.81 \pm 6.85	6.72*	1.33 \pm 2.13

上記4種とは対照的に、軟体動物のウバガイ及びバイの卵・幼生の正常ふ化率及び生残率には、酸性化、貧酸素化のいずれの影響も見出されなかった。海洋酸性化の既往研究において、炭酸カルシウムの殻（外骨格）を持つ種への影響評価がなされてきたことから、何らかの影響が出るものと予想していたが、少なくともこれら2種の生活史初期のふ化及び生残については影響がない可能性が示された。

以上の止水式複合影響評価実験では、斃死ないし行動の鈍化の影響は貧酸素下において見られることから、海洋酸性化よりも貧酸素化が生物の生残等に強く影響すると考えられた。表1-6に、実験に用いた6種のうち5種について推定された半数致死DO濃度をまとめた。致死影響が生じたシロギス卵・仔魚及びシオダマリミジンコ幼生の半数致死DO濃度は、シロギス卵で平均96.7 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 、シロギス仔魚で平均92.5 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 及びシオダマリミジンコ幼生で平均54.9 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ であった。中には、シロ

ギスのように既に生息地において半数致死濃度を下回るD0の観測値が報告されている場合もあり、サブテーマ3・4で得られるような各地の水質のモニタリング値や将来予測値と併せて、これらの半数致死濃度の推定値を利用する価値があると言える。また、サブテーマ1では、各生物種の生理学的側面の詳細は調べることができなかつたため、ふ化や生残の可否だけでは推し量れない実験の影響が各生物種にあった可能性は捨てきれない。サブテーマ2の結果とも照らし合わせて、詳細な考察を進めたいと考えている。

表1-6 止水式複合影響評価実験により推定された各pH条件下における半数致死D0濃度 ($\mu\text{mol/kg}$)。シロギス卵・仔魚は24時間、シオダマリミジンコ幼生は48時間の推定値を示し、本事業で設定した実験条件下で斃死が見られなかったものについては、 $50\mu\text{mol/kg}$ 以下に致死濃度が存在するとした。

生物種	生活史段階	pH				
		8.0	7.8	7.7	7.6	7.5
シロギス	卵	97.4	100.5	92.0	89.5	104.2
	仔魚	95.1	84.9	91.0	91.4	100.3
ウバガイ	卵	<50	<50	<50	<50	<50
	幼生	<50	<50	<50	<50	<50
バイ	卵	<50	<50	<50	<50	<50
	幼生	<50	<50	<50	<50	<50
キタクシノハクモヒトデ	成体	<50	<50	<50	<50	<50
シオダマリミジンコ	幼生	52.0	58.1	46.1	58.9	59.3
	成体	<50	<50	<50	<50	<50

・流水式複合影響評価実験

ウバガイ及びバイの稚貝の成長実験及びシオダマリミジンコ成体の複合影響評価実験における水質モニタリング結果を表1-7及び表1-8に示した。実験期間中、水質は概ね設定値を維持できた。

ウバガイ稚貝の成長実験において、体重及び殻サイズの幾何平均値より成長率を算出したところ、複合実験区で最も成長率が高く、次いで貧酸素区、対照区、酸性化区の順になった（図1-12）。貧酸素環境下にある複合影響区と貧酸素区においては、貧酸素を補うために呼吸頻度が増加することが考えられ、ろ過食性の二枚貝であるウバガイは呼吸頻度の増加とともに餌の植物プランクトンを体内に取り込む機会が増加した可能性が考えられた。従って、高い成長率は摂食量の増加により生じたと推測された。一方、酸性化区で成長率が最も低かった要因は、酸性化環境により、炭酸カルシウムの殻の生成が抑制された可能性が考えられた。

表1-7 ウバガイ及びバイの稚貝の成長実験における水質（pH、 pCO_2 、D0濃度及び水温）モニタリング結果（平均値±標準偏差、N=13）。

実験区	pH	pCO_2 (μatm)	DO ($\mu\text{mol/kg}$)	水温 ($^{\circ}\text{C}$)
対照	8.00 ± 0.03	478.9 ± 29.7	222.7 ± 4.1	20.1 ± 0.4
酸性化	7.75 ± 0.02	909.4 ± 52.2	223.5 ± 5.3	20.3 ± 0.4
貧酸素	8.01 ± 0.04	452.9 ± 27.3	112.4 ± 13.2	20.3 ± 0.3
複合	7.76 ± 0.02	885.7 ± 45.9	112.7 ± 11.2	20.0 ± 0.3

表1-8 シオダマリミジンコ成体の複合影響評価実験における水質（pH、pCO₂、DO濃度及び水温）モニタリング結果（平均値±標準偏差、N=6）。

実験区	pH	pCO ₂ (ppm)	DO (μmol/kg)	水温 (°C)
対照	7.90 ± 0.04	655.5 ± 55.5	223.2 ± 3.7	25.5 ± 0.6
酸性化	7.80 ± 0.02	863.7 ± 35.8	227.8 ± 1.6	25.6 ± 0.6
貧酸素	7.94 ± 0.05	605.3 ± 47.1	128.6 ± 1.8	25.2 ± 0.6
複合	7.80 ± 0.02	857.5 ± 31.5	128.2 ± 1.7	24.9 ± 0.5

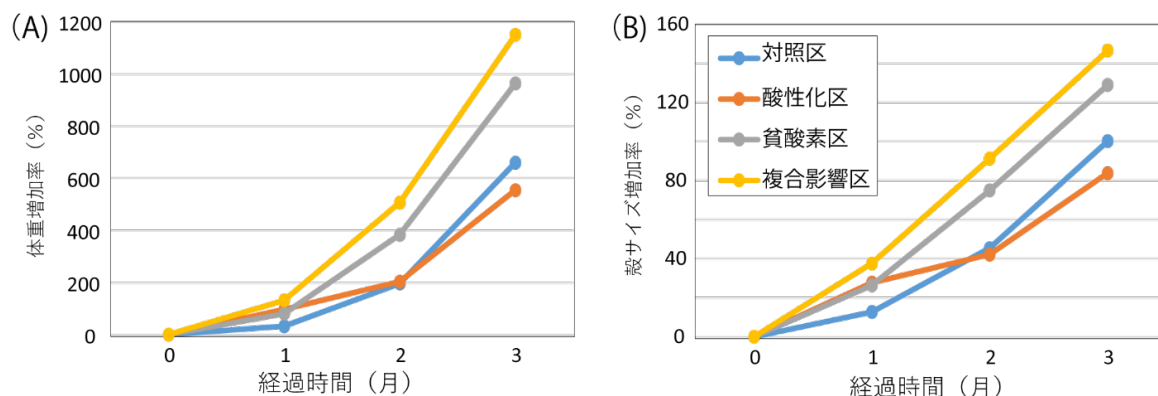


図1-12 ウバガイ（開始時6ヶ月齢）の成長率の推移。(A)体重、(B)殻サイズ（殻高、殻長、殻幅の幾何平均値）に基づく成長率。

バイの成長率はウバガイとは異なり、開始時4ヶ月齢の個体では、対照区、酸性化区及び貧酸素区の成長率には大きな差は見られず、複合影響区のみ成長が抑制される傾向が見られた（図1-13）。開始時16ヶ月齢の個体では、対照区の成長率が最も高く、他3つの実験区の成長が抑制される傾向が見られ、特に殻サイズにおいて、酸性化区と複合影響区の個体の成長が抑制されることが示された（図1-14）。バイはろ過摂食者ではないため、貧酸素による呼吸頻度の増加がウバガイのような摂餌の増加に繋がることはなく、摂餌の抑制をもたらしたと推察された。さらに、酸性化環境により殻の成長が抑制されたと考えられた。1年の月齢の違いによっても成長に違いがあることが示されたが、生活史初期には軟体部の成長が中心であったものが、成長に伴って殻の成長の比重が高まることによって生じたものと考えられた。

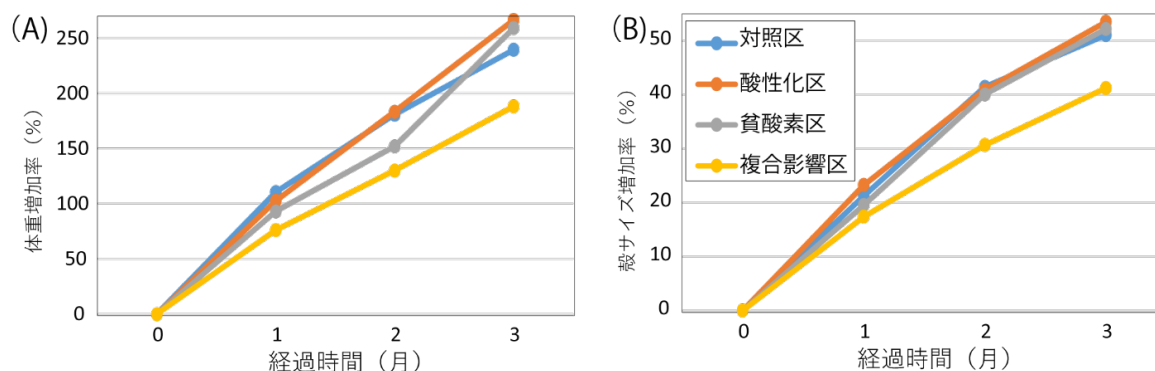


図1-13 バイ（開始時4ヶ月齢）の成長率の推移。(A)体重、(B)殻サイズ（殻長、殻幅の幾何平均値）に基づく成長率。

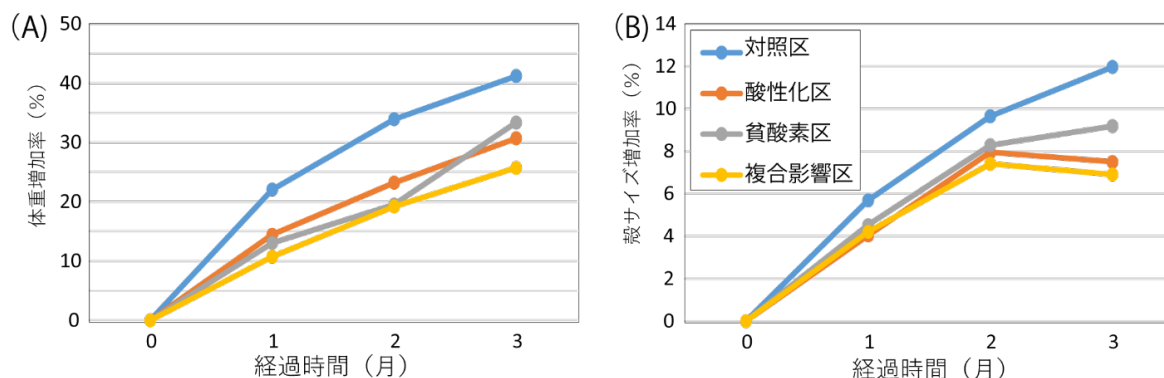


図1-14 バイ（開始時16ヶ月齢）の成長率の推移。(A)体重、(B)殻サイズ（殻長、殻幅の幾何平均値）に基づく成長率。

シオダマリミジンコ成体の流水式複合影響評価実験の結果、試行ごとのばらつきがあるものの、貧酸素区で最も生残率が低く、他の3実験区に大きな違いは見られなかった（表1-9）。止水式実験において、シオダマリミジンコ幼生に見られたものと同様に、成体においても貧酸素による影響が大きいと考えられるが、複合影響区では貧酸素の影響が緩和されたと推察された。

表1-9 シオダマリミジンコ成体の生残率 (%)。3試行の平均値と標準偏差。

	試行			平均±SD
	1	2	3	
対照区	20%	50%	20%	30.0 ± 17.3 %
酸性化区	30%	40%	30%	33.3 ± 5.8%
貧酸素区	10%	10%	0%	6.7 ± 5.8%
複合影響区	10%	40%	40%	30.0 ± 17.3%

・適応策検討にかかる実験

適応策の検討のため、酸性化環境下で長期にわたり継代飼育されてきたアマノガワテンジクダイの卵・仔魚に対し、止水式複合影響評価実験と同様の酸性化・貧酸素化環境にばく露した（表1-3）。親魚は継代飼育の3世代目にあたり、約3.5年間、 $pCO_2=850\mu atm$ ($pH=7.7$) の環境下で飼育されたもので、これらの個体の産出した卵・仔魚を実験に用いた。止水式複合影響評価実験で得られたアマノガワテンジクダイ仔魚の結果と同様に、貧酸素の強い影響があり、 DO 濃度 $=50\mu mol/kg$ 以下で顕著になることが示された（図1-15）。さらに、酸性化による影響もあり、 pH が低下すると生残数が減る傾向が見出された。卵は対照区においてもへい死が見られ、口内保育を中止したことによるへい死の可能性が考えられたが、仔魚においては DO 濃度 $=200\mu mol/kg$ 以上でも $pH7.5$ になるとへい死が生じていることから、酸性化の影響があると言える。対照環境下で飼育されてきたアマノガワテンジクダイ仔魚には、 pH による生残率の違いは見られなかったが（図1-9）、この実験結果は、継代的に経験してきた酸性化環境よりも厳しい環境になると、シロギスなどで見られた酸性化環境下で貧酸素耐性が向上するような反応がなくなることを示し、継代飼育により呼吸や恒常性維持に関わる生理学的な機序が変化するものと考えられた。残念ながら本実験期間中には、遺伝子発現解析用の試料を得ることができなかったが、今後の分子機序解明に期待したい。

上記の流水式実験系においてアマノガワテンジクダイの飼育を実施できた場合は、親世代の繁殖実験（産卵の有無、卵数及び産卵頻度の調査）と、子世代の複合影響耐性評価実験を実施することを計画していたが、上述の通り開始できなかった。

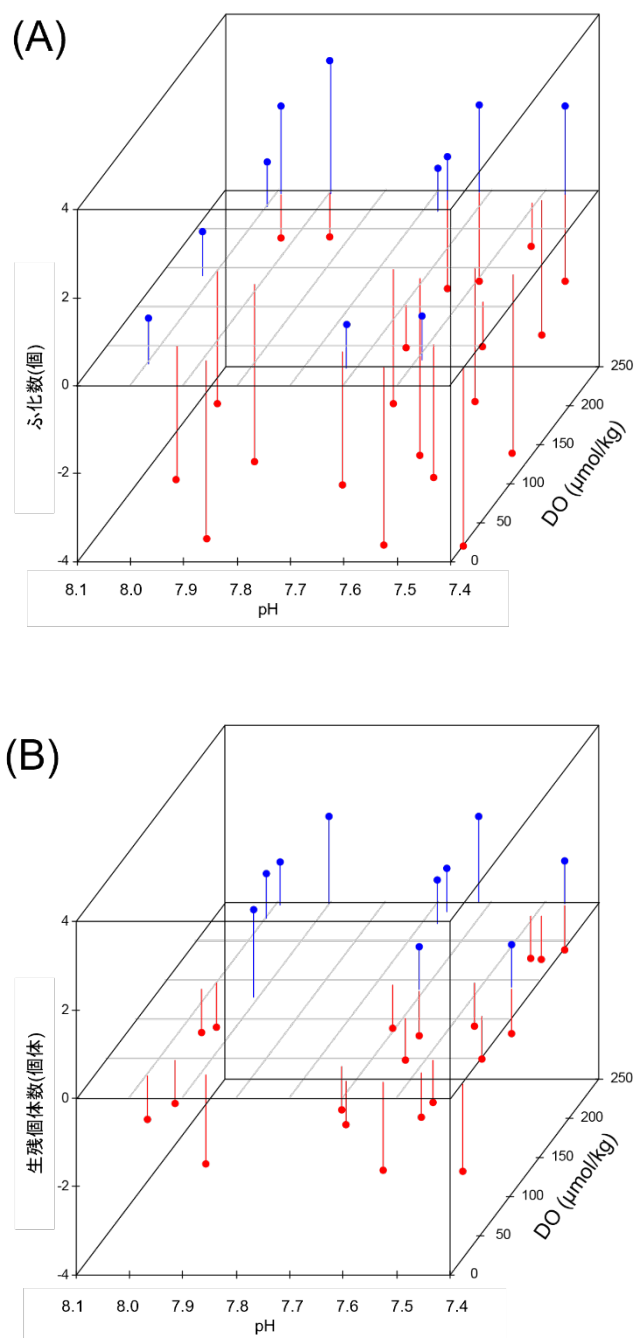


図1-15 酸性化環境下で継代飼育されたアマノガワテンジクダイ卵のふ化数 (A) と仔魚の生残数 (B)。各試行により個体数が異なり、割合による比較ができないことから、ふ化及び生残に成功した数を青色・上方向に示し、ふ化及び生残できなかった数を赤色・下方向に示す。pHとDOは、実験開始時と終了時に測定した値の平均値を示す。

5. 研究目標の達成状況

6種の生物に対して酸性化・貧酸素化暴露試験を行い、各生物の24時間暴露後半数致死DO (24h-LD₅₀) をpH条件毎に算出した。シロギスの卵・仔魚とシオダマリミジンコの幼生では、中程度のpHで一時的に24h-LD₅₀が減少する、緩和的な複合影響が明瞭に観察された(P28)。しかし21世紀末の沿岸域で発生すると予測されているレベル (pH=7.5) までpHが低下すると、24h-LD₅₀は再び上昇し、現在の沿岸域に見られるpH条件 (pH=8.0) における24h-LD₅₀よりも有意に高い値となった。この結果は、将来気候下では酸性化の影響により、生物の貧酸素耐性が現在より低下する可能性が高いことを示

唆している。

ウバガイ・バイでは幼生の死亡率に影響は見られなかったが、稚貝および成体の成長率には、pHのみ・DOのみを単独で変化させた場合と、両項目を同時に変化させた場合とで異なる影響が現れ、やはり複合影響と判断された (P29)。キタクシノハクモヒトデでは貧酸素条件下で行動の鈍化が検出された (P27)。各生物のpH条件別24h-LD₅₀値を、サブテーマ3・4の実測値や将来予測値との比較情報として提供した。また飼育実験後の生物試料を、遺伝子発現解析や炭酸カルシウム殻の形態観察などに用いるサンプルとしてサブテーマ2に提供した。

アマノガワテンジクダイに対しては、通常条件下で飼育した親魚から生まれた卵・仔魚と、酸性化環境下で長期にわたり継代飼育された親魚から生まれた卵・仔魚の双方に対して、酸性化・貧酸素化飼育試験を実施し、親魚による卵・仔魚の複合影響耐性の違いを調べた。双方の卵・仔魚に対して、低溶存酸素濃度条件における24時間暴露後生残率がpH条件により異なるという、複合影響の兆候が見られたが、親魚による複合影響発現閾値の差異を明確に算定するまでには至っておらず、今後の追実験が必要である。

6. 引用文献

- 1) R Core Team. 2020. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria (<https://www.R-project.org/>).
- 3) Ritz, C., Baty, F., Streibig, J.C., Gerhard, D. 2015. Dose-response analysis using R. *Plos One*. 10: e0146021.
- 3) Van Heuven, S., Pierrot, D., Rae, J.W.B., Lewis, E., Wallace, D.W.R. 2011. MATLAB program developed for CO2 system calculations, ORNL/CDIAC-105b Carbon Dioxide Information Analysis Center, Oak Ridge National Laboratory, U.S. Department of Energy, Oak Ridge, Tennessee.
- 4) Yamamoto-Kawai, M., Ito, S., Kurihara, H., Kanda, J. 2021. Ocean acidification state in the highly eutrophic Tokyo Bay, Japan: controls on seasonal and interannual variability. *Frontiers in Marine Science*. 8: 642041.

II-2 生理学的・形態学的計測に基づく酸性化・貧酸素化複合影響の発現機序解明

国立研究開発法人 産業技術総合研究所

地質情報研究部門 海洋環境地質研究グループ
 地質情報研究部門 海洋環境地質研究グループ
 地質情報研究部門 海洋環境地質研究グループ
 地質情報研究部門 海洋環境地質研究グループ

鈴木 淳
 井口 亮
 西島美由紀
 儀武滉大

[要旨]

海洋酸性化と貧酸素化の沿岸生物に対する複合影響の発現機序解明を実施するために、サブテーマ1で実施された複合影響評価実験を経た生物サンプルの形態観察・元素分析及び遺伝子解析を行った。ウバガイ・バイ・キタクシノハクモヒトデの成体サンプルを用いて形態観察を行った結果、バイに関しては酸性化区で殻の劣化が確認された。遺伝子解析に関しては、主に初期生活史段階における遺伝子発現解析を実施した。シロギス卵を用いた網羅的遺伝子発現解析を行った結果、酸性化区の酸性化海中では、通常時での遺伝子発現パターンと比較的類似している傾向が見られた。一方、貧酸素区、複合影響区では、比較的多くの遺伝子発現が変動傾向にあることが確認された。特に複合影響区では遺伝子発現の顕著な変化が認められた。エンリッチメント解析から、解糖系関連遺伝子に顕著な変化が生じていること、また、解糖系遺伝子群は全体的に貧酸素区で発現が上昇していることが確認された。これは酸素欠乏によって電子伝達系が働かなくなり、不足したATPの生成を、解糖系によって補完するように順応が生じているためと推察された。複合影響区では、遺伝子発現量は全体的に緩和している傾向が見られたが、発現変動遺伝子の数自体は対照区よりもはるかに多いことから、生理的には異常な状態であると考えられた。シロギス仔魚を用いた網羅的遺伝子発現解析においても、シロギス卵と同様の傾向は見られたものの、発現変動遺伝子数は比較的少なくなっており、発生段階でのストレス感受性の変化が生じている可能性が示唆された。シオダマリミジンコ成体においても、シロギス同様に貧酸素区、複合影響区で遺伝子発現が顕著に変化する傾向が確認されたが、バイ卵に関しては、酸性化・貧酸素化区への暴露によって遺伝子発現が変化する傾向は見られなかった。ウバガイ幼生に関しては、酸性化区への暴露によって発現変動遺伝子数が変化する傾向が見られた。今回の結果から、種間差は見られるものの、全体としては、沿岸域において今世紀末までに到達すると予想されるレベルの海洋酸性化よりも、飽和度20%の貧酸素化の方が、全体的に顕著な影響を与えることが明らかとなった。

1. 研究開発目的

日本沿岸域における海洋酸性化と貧酸素化の複合影響に関する総合的な評価を実施するために、サブテーマ1の複合影響評価実験実施後の各種生物の個体を譲り受け、遺伝子発現解析や骨格の観察及び元素分析を実施する。得られた結果から各生物・各生活史段階における酸性化・貧酸素複合影響がどのような生理的機序によって生じていたかを推定する。

2. 研究目標

6種の海産生物について、複合影響評価実験実施後の個体の遺伝子発現解析を実施し、さらに炭酸塩外骨格を持つ3種についてはおよび骨格観察・元素分析を実施する。その結果から各生物の酸性化・貧酸素化複合影響発現機序を推定し、適応策検討のための基礎的情報として公開する。

3. 研究開発内容

ウバガイ・バイ・キタクシノハクモヒトデの形態観察には、サブテーマ1で用いられた成体サンプルを用いた。ウバガイとバイに関しては、サブテーマ1の流水式実験で用いられたサンプル、キタクシノハクモヒトデは、同止水式実験で用いられたサンプルを使用した。元素分析に関しては、形態

観察で用いられたウバガイの、飼育期間中に成長したことが予想される右殻の縁辺部を切断・粉碎してICP-MSで分析した。シロギス卵・仔魚の遺伝子解析に関しては、サブテーマ1の孵化率ないし生残率を調べる実験とは別に、個体数を増やして実施した暴露実験を経た卵及び仔魚を用いた。シロギス卵に関しては、海水に混合ガスを曝気し、目的の $p\text{CO}_2$ (約450・1500 μatm)・DO (飽和度約20・100%)に達した海水を用いて、対照区・酸性化区・貧酸素区・複合影響区を設定し、各種の海水110 mlに、シロギス卵約200個を加えて容器内に封入し、25°C下で2時間の曝露を行った。各区で2レプリケート、全部で8サンプル確保できるように設定した。曝露後、卵をRNAlaterに移し、4°C約15時間後に-80°Cに保存した。RNA抽出はRNeasy PowerPlant kit (QIAGEN)を用いて行った。得られたRNA産物は、ゲノムDNAの混入を防ぐためにDNase処理を行った。RNA-seq用のライブラリーは、MGIEasy RNA Directional Library Prep Set (MGI Tech Co., Ltd.)を用いて作成された。RNA-seq解析では、DNBSEQ-G400RS (MGI Tech Co., Ltd.)を用いて、2×100 bpのペアエンド配列をfastqファイルとして取得した。得られたfastqファイルは、ソフトウェアCutadapt version 1.18¹⁾を用いて、Qスコア30以上でフィルタリングを行い、アダプターと25 bp以下の配列は除去した。また、ConDeTri²⁾を用いてPCR duplicateの除去を行った。そしてフィルタリングされた配列を用いて、Trinity-v2.8.4³⁾によるアセンブルを行った。アセンブルで得られたトランスクリプトーム配列はTransDecoder (TransDecoder.LongOrfs 5.5.0⁴⁾)でアミノ酸配列に翻訳し、タキフグのタンパク質配列⁵⁾にBLASTP (-evalue $1e^{-5}$)することで、魚類由来配列として絞り込んだ。絞り込まれたシロギスのトランスクリプトームに、Cutadaptでフィルタリングされた配列をソフトウェアkallisto version 0.46.1⁶⁾を用いてマッピングを行い、Transcripts Per Kilobase Million (TPM) 値を算出した。全遺伝子のTPM値を用いて、ソフトウェアR⁷⁾を用いて解析を行った。Rのgplots version 3.1.1パッケージを用いてヒートマップ図を作成した。サンプル間の非類似度を比較検討するため、vegan version 2.5.7パッケージを用いて、距離としてユークリッド距離を選択し、クラスタリングはWard法を用いた階層クラスタ解析を行った。また、Rのcluster version 2.1.0パッケージを用いて、K-medoids法による非階層クラスタ解析を行い、シルエット値を用いてクラスタ数の推定を行った。得られたクラスタ数の情報も合わせて、発現量を正規化した主成分分析によるサンプル間の類似度を可視化した。また、出力されたTPM値を用いて、RのedgeR version 3.30.0⁸⁾パッケージを用いてdifferentially expressed genes (DEG)の抽出を行った。DEGの抽出には、2処理区間でのglmLRT関数による尤度比検定を行い、p値 (FDR補正済)が0.05以下の遺伝子を抽出した。Swiss-Prot databaseのアクセッション番号を元に、各遺伝子のGene Ontology (GO) 番号の情報を取得した。そしてDEGの情報を用いて、エンリッチメント解析をGOseq version 1.38.0⁹⁾を用いて行った。帰無分布にはWallenius非心超幾何分布を用いた。そしてp値 (FDR補正済)が0.05以下のGO termを抽出した。また、応答変数の遺伝子発現量、説明変数に、酸性化区、貧酸素化区、複合影響区 of 交互作用項を組み込んだ一般化線形モデル (確率分布は正規分布を仮定) を構築し、係数の大きさと有意性 (表2-1) に基づいて、複合影響区における緩和・促進の有無を全遺伝子で調べた。

シロギス仔魚に関しては、目的の $p\text{CO}_2$ (約450・1000・1500 μatm)・DO飽和度 (約20・60・100%)に達した海水を用いて、卵と同様の対照区・酸性化区・貧酸素区・複合影響区に加え、中程度の複合影響区 (DO飽和度約60%・ $p\text{CO}_2$ 約1000 μatm) を設定した。各海水110 mlに、前日に産卵・孵化したシロギス仔魚約100個体を加えて容器内に封入し、1時間の曝露を行った。各区で3レプリケート、全部で15サンプルを得た。RNA抽出及びRNA-seqの詳細は、上記のシロギス卵と同じ内容で進めた。バイ・ウバガイ・シオダマリミジンコに関しては、シロギス卵と同様の、対照区・酸性化区・貧酸素区・複合影響区 of 暴露実験を実施し、RNAlater固定サンプルを調製した。バイは、15-35卵の入った卵囊1個を50 mlの実験海水に入れて96時間暴露したものを各区で2レプリケート、全部で8サンプルを得た。ウバガイ幼生に関しては、約100個体を50mlの実験海水中で48時間暴露したものを、各区で2レプリケート、全部で8サンプルを得た。シオダマリミジンコに関しては、成体を200個体程度、実験海水110 mlに入れて48時間暴露したものを、各区で1レプリケート、全部で4サンプルを得た。RNALater固定した試料をISOGEN (ニッポンジーン) およびRNeasy plant mini kit (QIAGEN)を

併用してRNAを抽出した。RNA-seq解析は上記と同様に実施した。バイに関しては、スクミリンゴガイ (*Pomacea canaliculata*)、ウバガイに関しては、ホンビノスガイ (*Mercenaria mercenaria*)のタンパク質配列を用いて各分類群由来と想定される配列を絞り込んでからマッピングを行った。

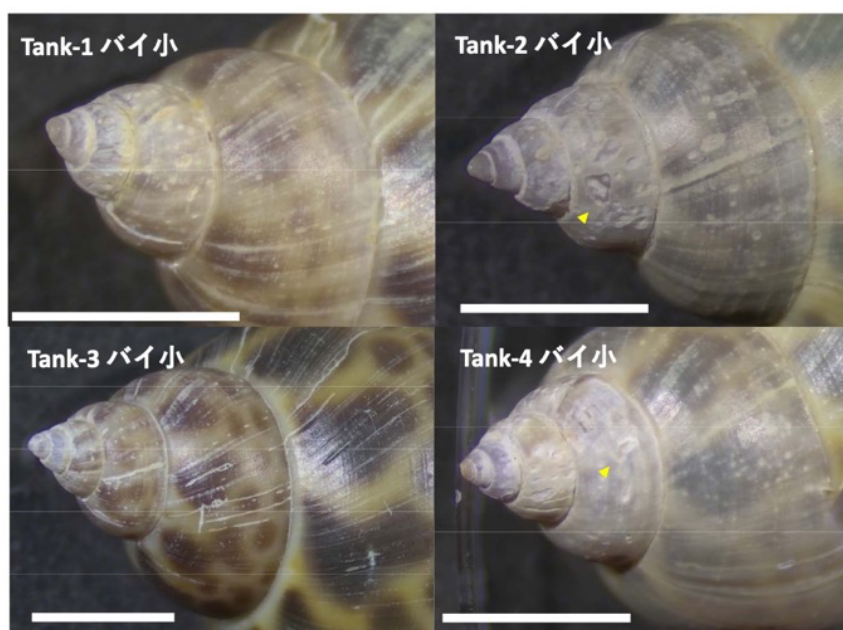
アマノガワテンジクダイとキタクシノハクモヒトデに関しては、成体サンプルからRNAを抽出し、上記と同様にRNA-seqを実施して得られた配列情報を用いて、遺伝子データベースを作成した。その中から、アマノガワテンジクダイに関しては、ストレス応答遺伝子として知られるヒートショックプロテイン (HSP)、低酸素誘導因子 (HIF)、インスリン様成長因子結合タンパク質 (Insulin-like growth factor-binding protein)などを探索した。アマノガワテンジクダイのHSPに関しては、その近縁配列及び後述するシロギスの類似した遺伝子配列も加えて、MEGA X¹⁰で近隣結合法により系統樹作成を行った。キタクシノハクモヒトデに関しては、HIFとHeat shock cognate protein 70 (HSC70¹¹)などを探索した。そしてアマノガワテンジクダイのHSPに関しては、デジタルPCRによる発現量の評価を実施した。

表2-1 複合ストレス影響評価における一般化線形モデルの係数に関する概略

係数	β_2	β_3	β_4	遺伝子数
低酸素海水で遺伝子発現が増加した時に複合条件で緩和される	有意に正の値	-	有意に負の値	270
低酸素海水で遺伝子発現が減少した時に複合条件で緩和される	有意に負の値	-	有意に正の値	138
低酸素海水で遺伝子発現が増加した時に複合条件で促進される	有意に正の値	-	有意に正の値	7
低酸素海水で遺伝子発現が減少した時に複合条件で促進される	有意に負の値	-	有意に負の値	54
酸性化海水で遺伝子発現が増加した時に複合条件で緩和される	-	有意に正の値	有意に負の値	121
酸性化海水で遺伝子発現が減少した時に複合条件で緩和される	-	有意に負の値	有意に正の値	121
酸性化海水で遺伝子発現が増加した時に複合条件で促進される	-	有意に正の値	有意に正の値	0
酸性化海水で遺伝子発現が減少した時に複合条件で促進される	-	有意に負の値	有意に負の値	36

4. 結果及び考察

ストレス暴露実験を行ったウバガイ・バイ・キタクシノハクモヒトデの形態観察では、ウバガイ及びキタクシノハクモヒトデに関しては、処理間で明瞭な形態変異は観察されなかった。バイに関しては、酸性化区 (Tank - 2) 及び複合影響区 (Tank - 4) では、対照区に比べ明らかな殻の劣化が認められた (図2-1・2)。このような殻の劣化は炭酸カルシウム形成阻害を受けて生じたものと推察された。ウバガイの元素分析に関しては、酸性化区でU/Caが高くなる傾向が観察された (図2-3)。



スケールは5mm

図2-1 バイの殻の形態画像。Tank-1は対照区、Tank-2は酸性化区、Tank-3は貧酸素区、Tank-4は高 pCO_2 ・低 O_2 の複合影響区。

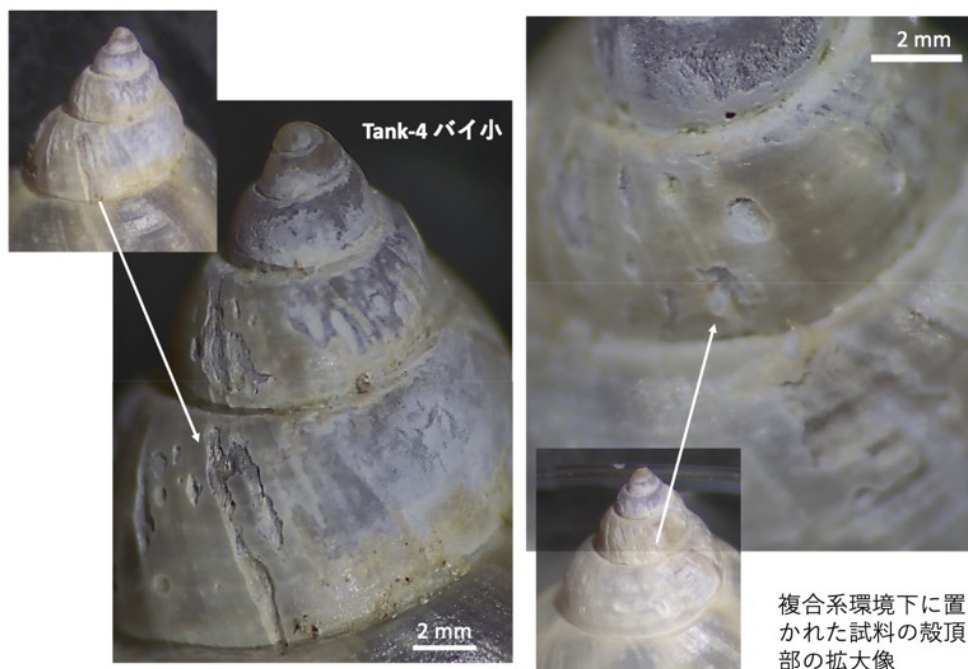


図2-2 Tank-4（高 $p\text{CO}_2$ ・低 O_2 の複合影響区）におけるバイの殻の形態の拡大図。

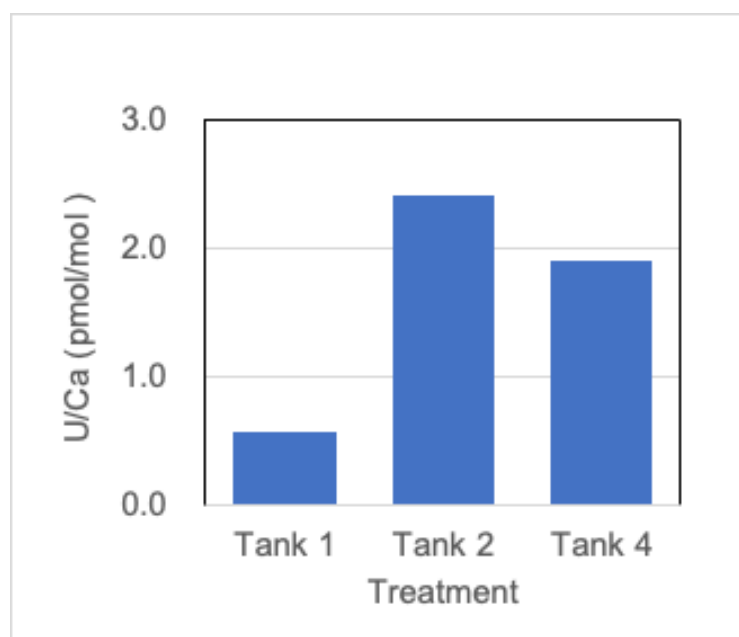


図2-3 ウバガイの殻のICP-MS分析の棒グラフ。

ストレス暴露実験を行ったシロギス卵からは、全体でトランスクリプトーム19,034配列の取得に成功した。そのうち、Swiss-Prot databaseにヒットしたものは18,222配列であった。発現量解析の結果、ヒートマップ図では、複合影響区で多くの遺伝子が低下傾向にあることが示された（図2-4）。有意な変動遺伝子数（ $p < 0.05$ ；FDR補正済）は、酸性化区では、18,222遺伝子中48遺伝子であった（表2-2）。貧酸素区では、18,222遺伝子中474遺伝子（表2-3）、複合影響区では、18,222遺伝子中769遺伝子（表2-4）であり、貧酸素区で顕著な影響が生じる傾向が見られた。全体の傾向としては、クラスター解析と主成分分析の結果、サンプル間で大きく2グループに分かれることが確認された（図2-5・2-6）。このグルーピングは非階層クラスター解析のシルエット値（2グループで最大値）からも確認された。これらの結果から、貧酸素区の方が酸性化区よりも影響が顕著であることが示唆された。

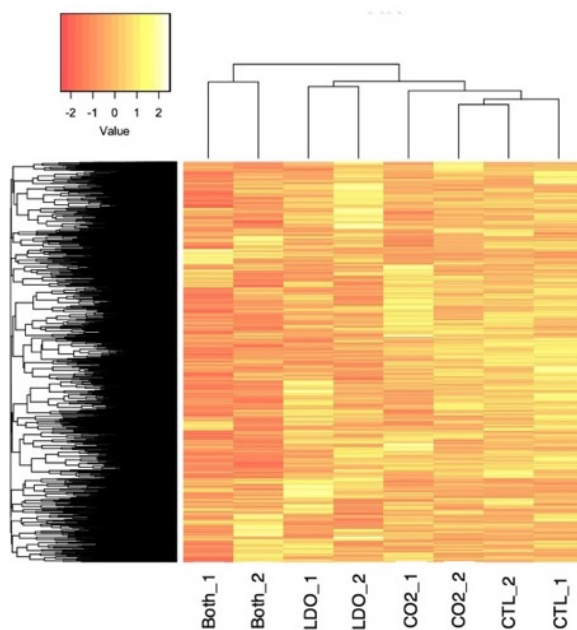


図2-4 シロギス卵における遺伝子発現量のヒートマップ図。CTLは対照区、CO₂は酸性化区、LDOは貧酸素区、Bothは高pCO₂・低O₂の複合影響区、末尾の数値はレプリケート番号。

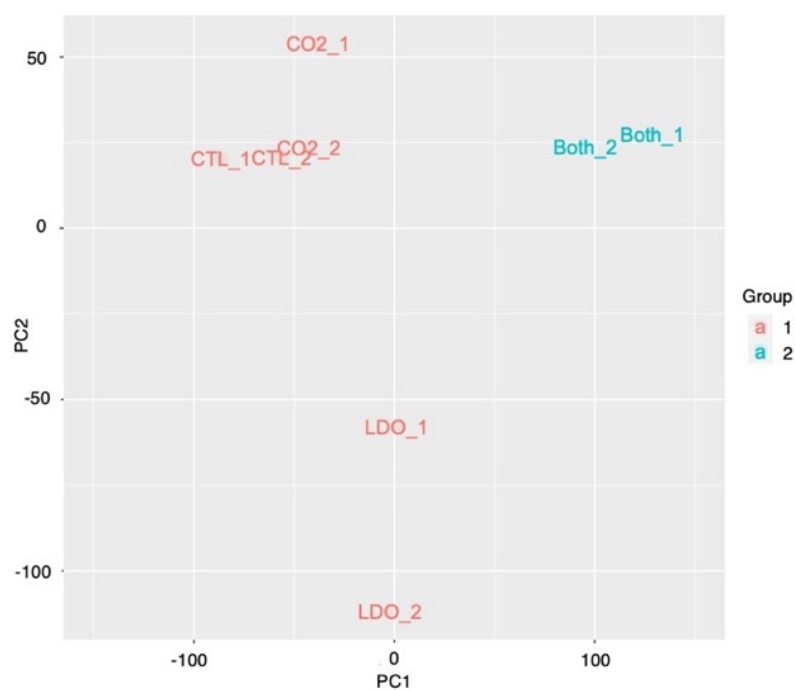


図2-5 シロギス卵における遺伝子発現量に基づく各サンプルのPCAプロット図。CTLは対照区、CO₂は酸性化区、LDOは貧酸素区、Bothは高pCO₂・低O₂の複合影響区、末尾の数値はレプリケート番号。

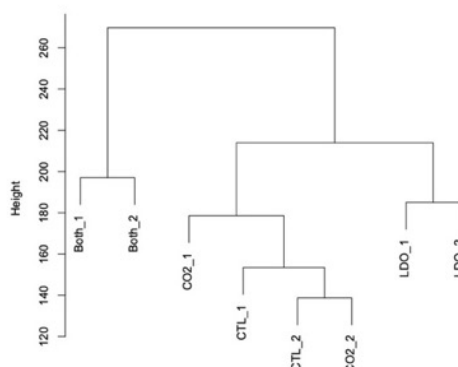


図2-6 シロギス卵における遺伝子発現量に基づく各サンプルのクラスター解析の結果。CTLは対照区、CO₂は酸性化区、LDOは貧酸素区、Bothは高pCO₂・低O₂の複合影響区、末尾の数値はレプリケート番号。

表2-2 シロギス卵における酸性化区で対照区に対して有意な変化が見られた上位10遺伝子（logFCが正の場合は発現量増加で負の場合は減少を示す）

target_id	Protein.names	logFC	FDR
Sjap_eg_08017	Transcription cofactor vestigial-like protein 4 (Vgl-4)	7.439749788	1.66E-10
Sjap_eg_11276	DENN domain-containing protein 5B (Rab6IP1-like protein)	-7.11916926	3.55E-06
Sjap_eg_06829	Putative oxidoreductase GLYR1 (EC 1.-.-.) (Glyoxylate reductase 1 homolog) (Nuclear protein NP60)	5.112006687	1.01E-05
Sjap_eg_15226	NAD-dependent malic enzyme, mitochondrial (NAD-ME) (EC 1.1.1.38) (Malic enzyme 2)	4.143496945	1.52E-05
Sjap_eg_02405	DnaJ homolog subfamily C member 9 (HDJC9) (DnaJ protein SB73)	-6.615519208	1.78E-05
Sjap_eg_01633	Protein DGCR6 (DiGeorge syndrome critical region 6 homolog)	-6.525007918	4.63E-05
Sjap_eg_02238	Transcriptional regulator Myc (c-Myc) (Fragment)	-2.905490161	9.59E-05
Sjap_eg_18442	WD repeat-containing protein 1 (Actin-interacting protein 1) (AIP1) (NORI-1)	6.44584562	1.25E-04
Sjap_eg_07589	Probable hydrolase PNKD (EC 3.-.-.)	-6.417528447	1.39E-04
Sjap_eg_16269	Type-4 ice-structuring protein LS-12 (ISP LS-12) (Antifreeze protein LS-12)	-0.254832827	1.39E-04

表2-3 シロギス卵における貧酸素区で対照区に対して有意な変化が見られた上位10遺伝子（logFCが正の場合は発現量増加で負の場合は減少を示す）

target_id	Protein.names	logFC	FDR
Sjap_eg_04790	Heat shock 70 kDa protein 1 (HSP70-1)	-5.0424396	2.29E-67
Sjap_eg_09854	Transcriptional and immune response regulator	-3.8978208	1.31E-38
Sjap_eg_13266	Heat shock protein 30 (HSP 30)	-2.4422394	7.06E-37
Sjap_eg_16627	Prolyl hydroxylase EGLN3 (EC 1.14.11.-) (Egl nine homolog 3) (EC 1.14.11.29) (HPH-1) (Hypoxia-indu	-3.6288921	1.62E-30
Sjap_eg_02270	L-lactate dehydrogenase A chain (LDH-A) (EC 1.1.1.27)	-3.0591428	5.70E-30
Sjap_eg_15808	DNA damage-inducible transcript 4 protein	-4.0818769	2.76E-29
Sjap_eg_05495	Insulin-like growth factor-binding protein 1 (IBP-1) (IGF-binding protein 1) (IGFBP-1)	-5.8443904	2.24E-28
Sjap_eg_15342	DnaJ homolog subfamily B member 1	-6.6758898	2.09E-17
Sjap_eg_11563	Fructose-bisphosphate aldolase A (EC 4.1.2.13) (Muscle-type aldolase) (allergen Sal s 3.0101)	-1.527073	1.28E-16
Sjap_eg_15925	Transmembrane protein 45B	-1.5602585	1.14E-15

表2-4 シロギス卵における複合影響区で対照区に対して有意な変化が見られた上位10遺伝子（logFCが正の場合は発現量増加で負の場合は減少を示す）

target_id	Protein.names	logFC	FDR
Sjap_eg_04790	Heat shock 70 kDa protein 1 (HSP70-1)	5.03612511	6.85E-54
Sjap_eg_15342	DnaJ homolog subfamily B member 1	3.889762864	7.40E-38
Sjap_eg_09854	Transcriptional and immune response regulator	1.112628498	2.24E-31
Sjap_eg_07217	Heat shock protein HSP 90-beta	4.072028619	2.00E-30
Sjap_eg_15808	DNA damage-inducible transcript 4 protein	3.622278178	8.29E-30
Sjap_eg_02270	L-lactate dehydrogenase A chain (LDH-A) (EC 1.1.1.27)	5.822632144	1.29E-28
Sjap_eg_13266	Heat shock protein 30 (HSP 30)	3.051738945	3.75E-26
Sjap_eg_16627	Prolyl hydroxylase EGLN3 (EC 1.14.11.-) (Egl nine homolog 3) (EC 1.14.1	2.43352499	2.70E-24
Sjap_eg_12717	Triosephosphate isomerase B (TIM-B) (EC 5.3.1.1) (Methylglyoxal synth	1.345999494	6.39E-23
Sjap_eg_12829	Glutathione-specific gamma-glutamylcyclotransferase 1 (Gamma-GCG 1	0.952196576	3.89E-18

エンリッチメント解析においても、酸性化区よりも、貧酸素区・複合影響区において、有意な term が比較的多く検出された。特に貧酸素区では解糖系 (GO:0006096) に関する遺伝子群の発現変化が確認された (図2-7・表2-5)。解糖系遺伝子群が貧酸素区で発現量が増加していたのは、酸素欠乏によって電子伝達系が働かなくなり、解糖系などでのATP生成が補完しているためと推察された (図2-8)。

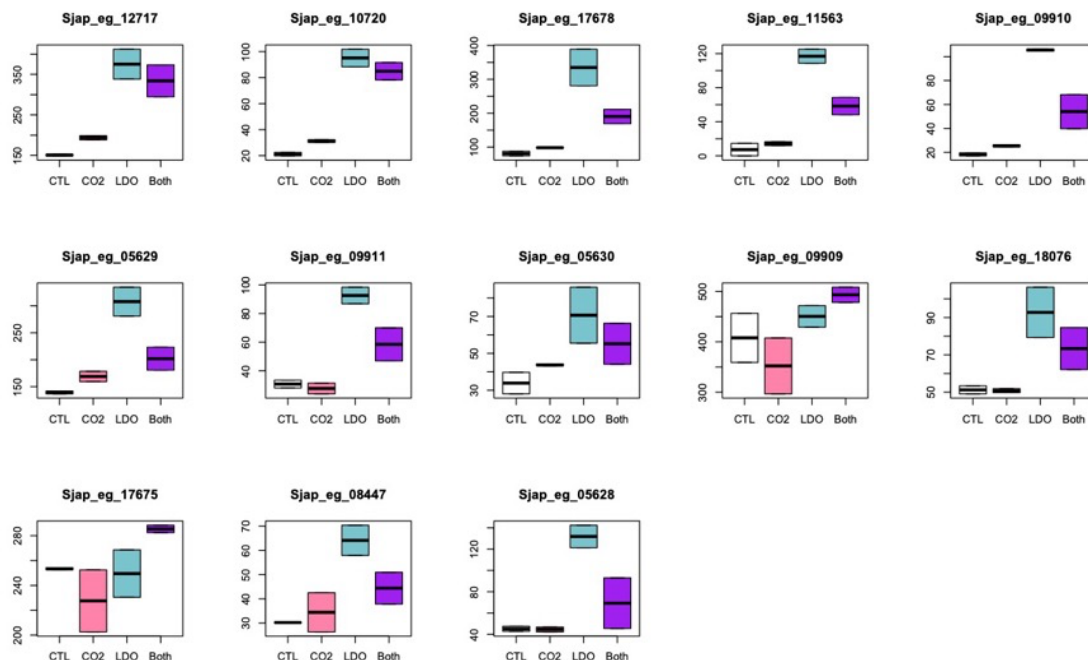


図2-7 シロギス卵における解糖系関連遺伝子の発現パターン。縦軸は遺伝子発現量 (TPM)、横軸は、CTLは対照区、CO₂は酸性化区、LDOは貧酸素区、Bothは高pCO₂・低O₂の複合影響区。

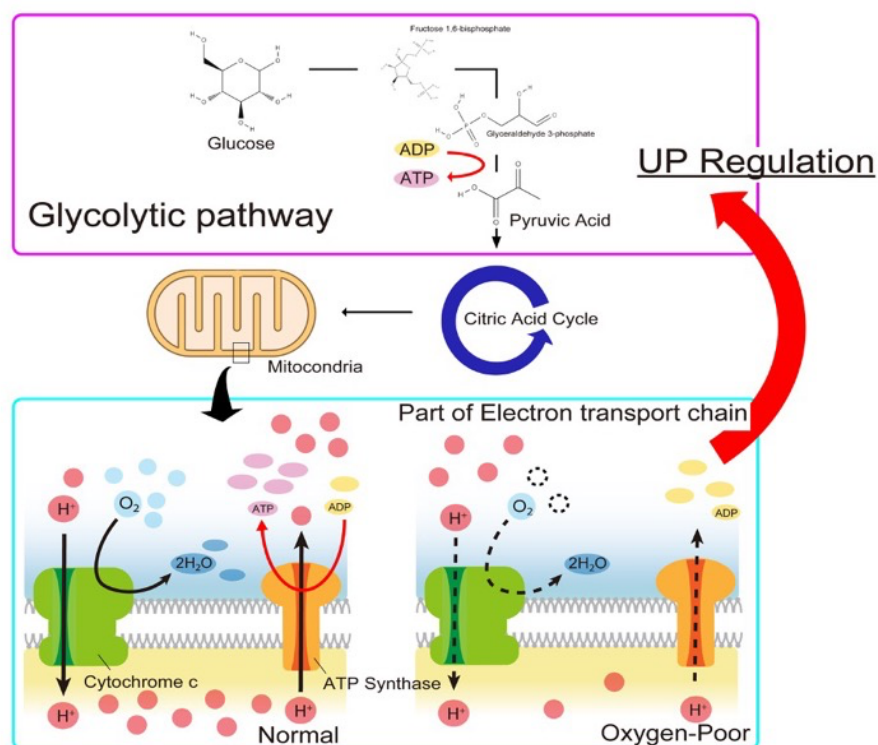


図2-8 シロギス卵における貧酸素区で電子伝達系及び解糖系でのATP生成に生じる生理的メカニズムの模式図。

表2-5 シロギス卵におけるエンリッチメント解析の結果の一覧表（青はBothとLDOで共通）

category	term	ontology	FDR	Condition
GO:0003735	structural constituent of ribosome	MF	2.12E-18	Both
GO:0006412	translation	BP	3.97E-16	Both
GO:0005840	ribosome	CC	3.51E-10	Both
GO:0051082	unfolded protein binding	MF	5.38E-07	Both
GO:0022625	cytosolic large ribosomal subunit	CC	1.47E-06	Both
GO:0033290	eukaryotic 48S preinitiation complex	CC	2.73E-05	Both
GO:0022627	cytosolic small ribosomal subunit	CC	3.38E-05	Both
GO:0006413	translational initiation	BP	4.03E-05	Both
GO:0005852	eukaryotic translation initiation factor 3 complex	CC	2.42E-04	Both
GO:0016282	eukaryotic 43S preinitiation complex	CC	0.0002532	Both
GO:0006096	glycolytic process	BP	0.0002532	Both
GO:0006096	glycolytic process	BP	1.24E-05	LDO
GO:0001732	formation of cytoplasmic translation initiation complex	BP	2.69E-04	Both
GO:0003743	translation initiation factor activity	MF	0.00138911	Both
GO:0006457	protein folding	BP	1.51E-03	Both
GO:0005832	chaperonin-containing T-complex	CC	0.00187101	Both
GO:0015935	small ribosomal subunit	CC	0.00303184	Both
GO:0019843	rRNA binding	MF	5.99E-03	Both
GO:0044183	protein folding chaperone	MF	0.0139705	Both
GO:0006614	SRP-dependent cotranslational protein targeting to membrane	BP	0.01517564	Both
GO:0003746	translation elongation factor activity	MF	0.03443579	Both
GO:0034605	cellular response to heat	BP	0.03645824	LDO
GO:0001568	blood vessel development	BP	0.03645824	LDO
GO:0006094	gluconeogenesis	BP	0.03645824	LDO
GO:0018401	peptidyl-proline hydroxylation to 4-hydroxy-L-proline	BP	0.03645824	LDO
GO:0031418	L-ascorbic acid binding	MF	3.65E-02	LDO
	低酸素条件と複合条件両方で検出されたカテゴリ。			

また、貧酸素区では、ストレス応答遺伝子として知られるヒートショックプロテイン（Heat shock 70 kDa protein¹²⁾）、低酸素誘導因子（Hypoxia-inducible factor¹³⁾）、インスリン様成長因子結合タンパク質1（Insulin-like growth factor-binding protein 1^{13・14)}の顕著な発現増加が見られ（表2-3・図2-8）、これらの遺伝子は低酸素ストレスに対する遺伝子マーカーとしての活用が期待される。興味深いことに、解糖系に関与するいくつかの遺伝子群と上記で取り上げた3つのストレス応答遺伝子では、複合ストレス影響において発現量の低下が観察された（図2-7・2-9）。

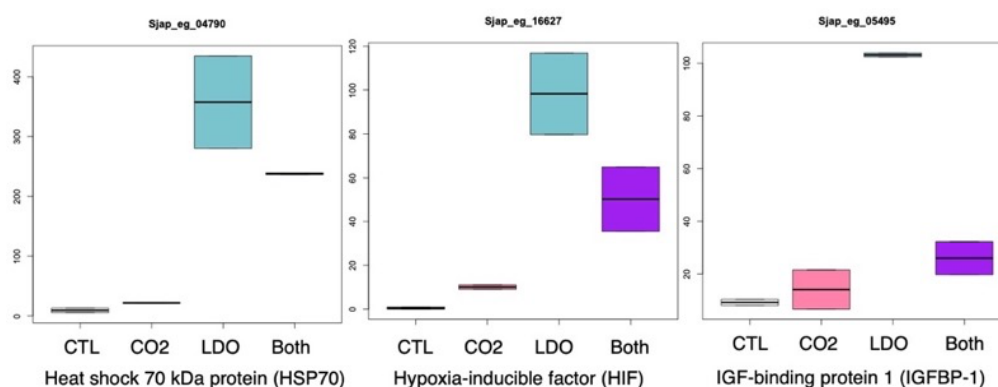


図2-9 シロギス卵におけるHeat shock 70 kDa protein、Hypoxia-inducible factor、Insulin-like growth factor-binding protein 1の発現パターン。縦軸は遺伝子発現量（TPM）、横軸は、CTLは対照区、CO₂は酸性化区、LDOは貧酸素区、Bothは高pCO₂・低O₂の複合影響区。

一般化線形モデルで全遺伝子での発現量を評価した結果、貧酸素区で遺伝子発現が増加して複合影響区で減少した遺伝子数は270、遺伝子発現が減少して複合影響区で増加した遺伝子数は138見られた（図2-10）。貧酸素区で遺伝子発現が増加してさらに複合影響区で増加した遺伝子数は7、遺伝子発現が減少して複合影響区でさらに減少した遺伝子数は54見られた（図2-10）。酸性化区で遺伝子発現が増加して複合影響区で減少した遺伝子数は121、遺伝子発現が減少して複合影響区で増加した遺伝子数は121見られた。酸性化区で遺伝子発現が増加してさらに複合影響区で増加した遺伝子数は0、遺伝子発現が減少して複合影響区でさらに減少した遺伝子数は36見られた。全体としては、複合影響区では遺伝子発現変化は緩和されるパターンが顕著であった。

海水中のCO₂の増加は、血液中のpH低下を引き起こして、ボーア効果によってヘモグロビンからの酸素放出量が上がり、貧酸素耐性を高める可能性が示唆されており¹⁵⁾、貧酸素海水と酸性化海水の複合ストレスは部分的には生体へのストレス緩和にも働く可能性もある。複合影響区では、遺伝子発現量は全体的に緩和している傾向が見られたが、発現変動遺伝子数自体は対照区よりもはるかに多いことから、生理的には異常な状態であると考えられる。また、今回は2時間という短時間でストレス暴露であったため、複合ストレスによって低酸素ストレスへの感受性が低下したかどうかはさらに長い時間の暴露実験で追認していく必要がある。まとめとして、沿岸域においてより厳しいシナリオ下において今世紀末までに到達すると予想されるレベルの酸性化海水よりも、飽和度20%の貧酸素化海水の方が、シロギス卵に対して顕著な影響を与えることが明らかとなった。また、複合影響区では、多くの遺伝子変動に緩和的に変化することも明らかとなったが、その影響が生体内においてどのような意味を示すのか、長時間暴露においてはどのように遺伝子発現が変化するのかについては、今後のさらなる研究が必要である。

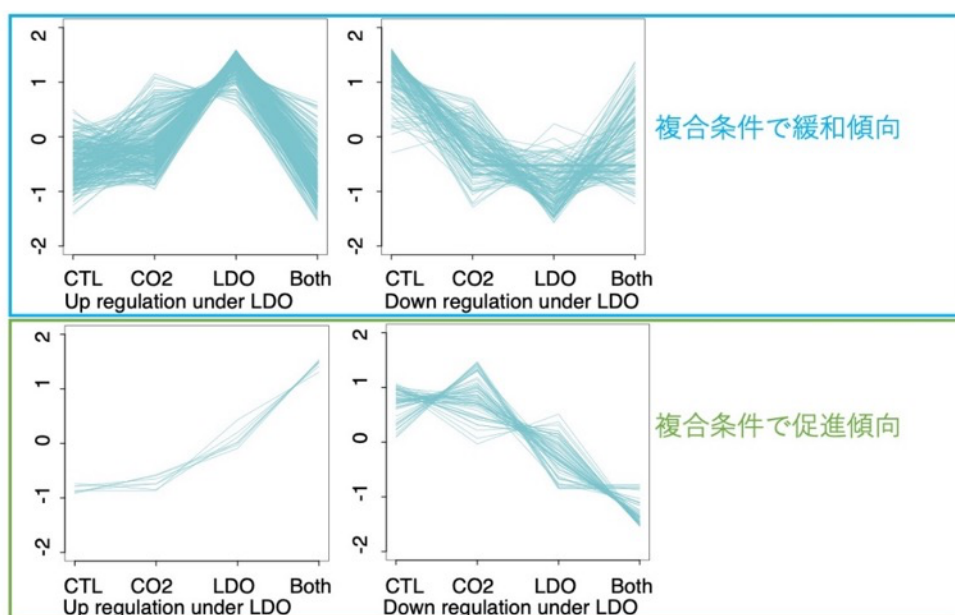


図2-10 シロギス卵における、一般化線形モデルで絞り込まれた貧酸素区で遺伝子発現が増加・減少した際に複合影響区で遺伝子発現が緩和・促進された遺伝子群の発現パターン。線1本が1遺伝子に対応する。縦軸は正規化されたTPM値、横軸は、CTLは対照区、CO2は酸性化区、LDOは貧酸素区、Bothは高pCO₂・低O₂の複合影響区。

ストレス暴露実験を行ったシロギス仔魚からは、全体でトランスクリプトーム25,700配列の取得に成功した。そのうち、Swiss-Prot databaseにヒットしたものは24,901配列であった。発現量解析の結果、ヒートマップ図では、シロギス卵よりは処理間でクラスターが分かれる傾向は見られなかった（図2-11）。有意な変動遺伝子数（ $p < 0.05$; FDR補正済）は、酸性化区では、24,901遺伝子中9遺伝子であった。貧酸素区では、24,901遺伝子中132遺伝子、複合影響区では、24,901遺伝子中111遺伝子、中程度の複合影響区では、24,901遺伝子中7遺伝子であり、貧酸素区で顕著な影響が生じる

傾向が見られた。クラスター解析の結果、サンプル間で大きく2グループに分かれることが確認され（図2-12）、シロギス卵の傾向と類似した結果が見られた。非階層クラスター解析のシルエット値でも、2グループで最大値であったが、クラスター解析のような明瞭なパターンではなかった。

エンリッチメント解析においても、シロギス卵同様に、酸性化区よりも、貧酸素区・複合影響区において、有意なtermが多く検出された。しかし解糖系のtermは複合影響区では見られないなど、卵と仔魚で差異が見られた。これらの結果から、シロギス仔魚ではシロギス卵よりも酸性化海水・貧酸素海水の影響は生じにくいことが示唆された。しかし今回の網羅的遺伝子発現解析においては、なるべく健常なサンプルを用いることを重視したため、シロギス仔魚の方は暴露時間が1時間のサンプルを用いた（2時間のサンプルでは仔魚の遊泳性が顕著に低下していた）。シロギス卵の方は暴露時間が2時間であったため、今回の結果の差異が暴露時間によるものかについても、今後検討を進める必要がある。まとめとして、シロギス卵同様に、シロギス仔魚においても、酸性化海水よりも貧酸素化海水の方が、顕著な影響を与えること、また発生段階で酸性化海水・貧酸素化海水に対する感受性が異なる可能性が示唆された。

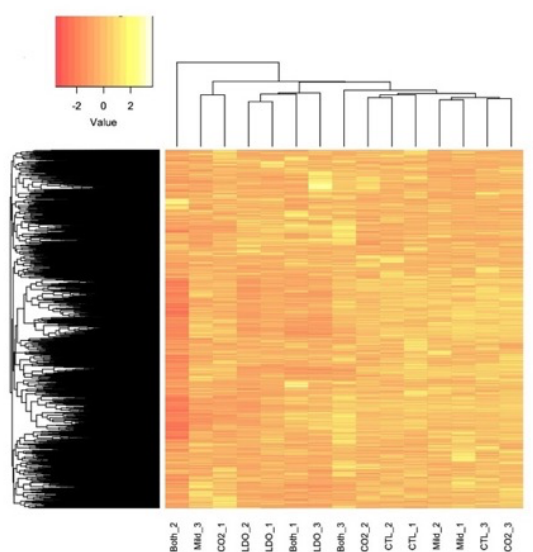


図2-11 シロギス仔魚における遺伝子発現量のヒートマップ図。CTLは対照区、CO₂は酸性化区、LDOは貧酸素区、Bothは高pCO₂・低O₂の複合影響区、末尾の数値はレプリケート番号。

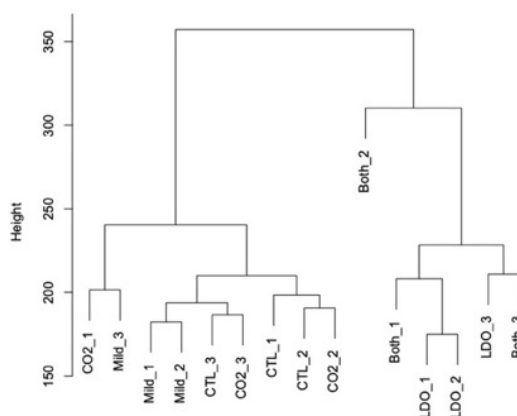


図2-12 シロギス仔魚における遺伝子発現量に基づく各サンプルのクラスター解析の結果。CTLは対照区、CO₂は酸性化区、LDOは貧酸素区、Bothは高pCO₂・低O₂の複合影響区、末尾の数値はレプリケート番号。

バイ卵に関しては、ヒートマップ図及びクラスター解析では処理間でクラスターが分かれる傾向は見られなかった（図2-13・14）。ウバガイ幼生に関しては、ヒートマップ図では処理間でクラスターが分かれる傾向は見られなかったが（図2-15）、発現変動遺伝子数は酸性化区で顕著に増えていた。二枚貝においては、嫌気呼吸代謝によって低酸素に対する耐性が高いことが報告されているが¹⁶⁾、ウバガイの発現変動遺伝子とこうした生理的機能との関連は見られなかった。シオダマリミジンコ成体に関しては、シロギスと同様に、貧酸素区及び複合影響区でクラスターを形成する傾向が見られた（図2-16）。

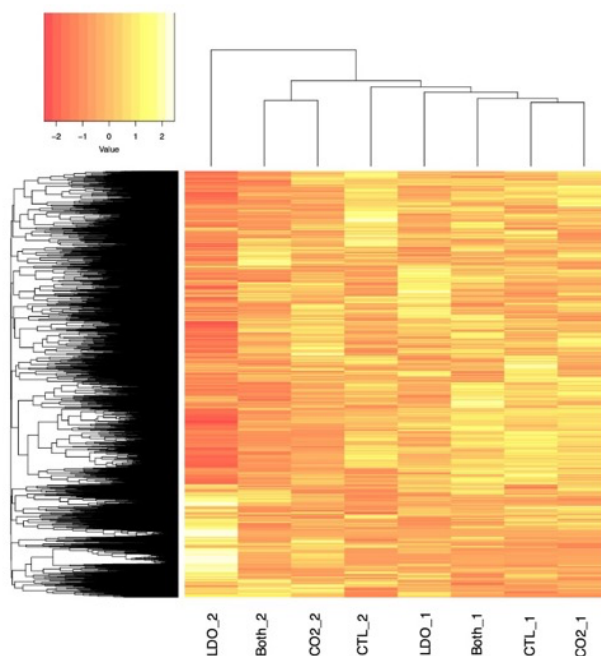


図2-13 バイ卵における遺伝子発現量のヒートマップ図。CTLは対照区、CO2は酸性化区、LDOは貧酸素区、Bothは高pCO₂・低O₂の複合影響区、末尾の数値はレプリケート番号。

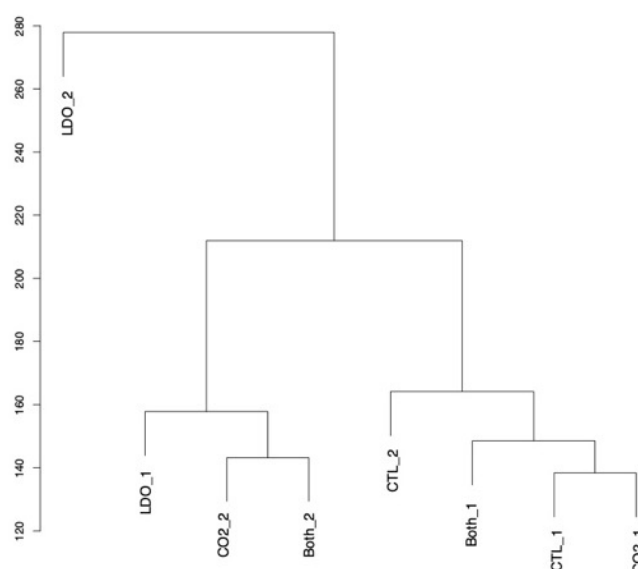


図2-14 バイ卵における遺伝子発現量に基づく各サンプルのクラスター解析の結果。CTLは対照区、CO₂は酸性化区、LDOは貧酸素区、Bothは高pCO₂・低O₂の複合影響区、末尾の数値はレプリケート番号。

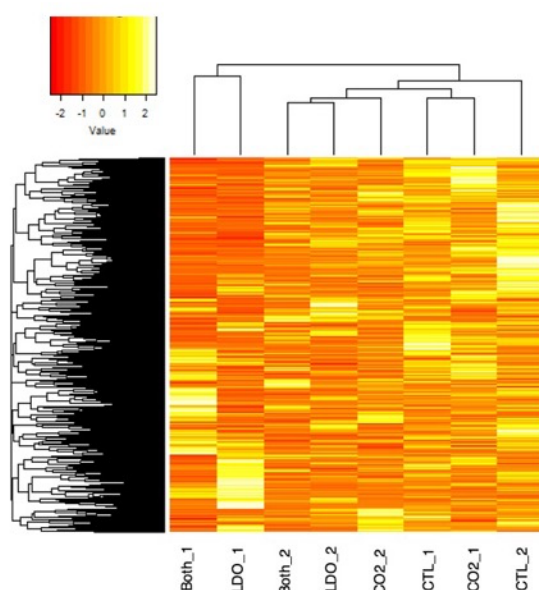


図2-15 ウバガイ幼生における遺伝子発現量のヒートマップ図。CTLは対照区、CO2は酸性化区、LDOは貧酸素区、Bothは高pCO₂・低O₂の複合影響区、末尾の数値はレプリケート番号。

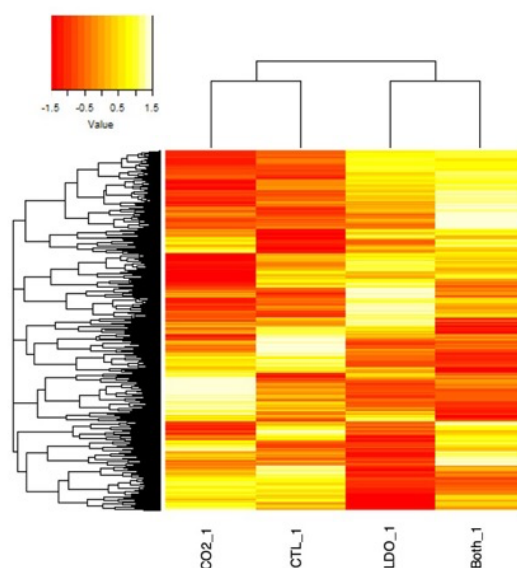


図2-16 シオダマリミジンコ親個体における遺伝子発現量のヒートマップ図。CTLは対照区、CO2は酸性化区、LDOは貧酸素区、Bothは高pCO₂・低O₂の複合影響区、末尾の数値はレプリケート番号。

アマノガワテンジクダイとキタクシノハクモヒトデに関しては、処理間比較のためのRNA-seqを行うためのサンプル調製ができなかったが、ストレス応答関連遺伝子抽出のための参照遺伝子配列群を取得できた。ストレス応答遺伝子として知られるHSP70に関しては、アマノガワテンジクダイとシロギスで同祖的關係にあると思われる遺伝子配列の抽出に成功した(図2-17)。このアマノガワテンジクダイのHSP70に関しては、ばらつきは見られたものの、貧酸素区・複合影響区では発現量の増加が確認された。キタクシノハクモヒトデに関しては、先行研究¹¹⁾でストレス応答に関与すること

がわかっているHSC70の遺伝子配列の抽出に成功したが、棘皮動物で知られる酵素反応等の阻害物質の影響もあって発現定量化に至らず、今後の課題となった。今後こうしたストレス応答遺伝子の定量PCR解析を実施することで、海洋酸性化や貧酸素化に対するストレス応答遺伝子の発現のタイミングについて詳細を把握できることが期待される。

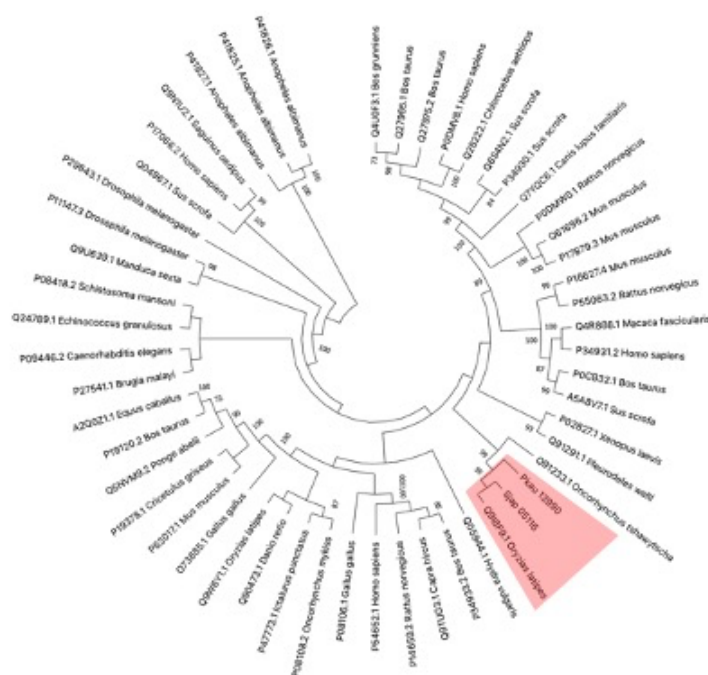


図2-17 アマノガワテンジクダイ (Pkai) ・シロギス (Sja) のHSP70と近縁配列を用いた遺伝子系統樹。数値はブートストラップ値 (1000回試行)。

5. 研究目標の達成状況

サブテーマ1から提供された6種の沿岸生物について遺伝子解析を実施した。またウバガイ・バイ・キタクシノハクモヒトデの3種について炭酸カルシウム殻の形態観察と元素分析を実施した。

この結果、貧酸素区で解糖系に関与する遺伝子群の発現量増加が多く検出され、酸素欠乏によって電子伝達系が働かなくなり、解糖系による迂回的なATP合成が行われていることが示唆された (P39)。解糖系のATP合成効率は電子伝達系よりも遥かに劣るため、このことが貧酸素ストレスの生理機序の一つとなっていると推察される。また貧酸素条件下において特異的に発現量が増加する3種の遺伝子も特定され (P40)、今後これらの遺伝子を生物の貧酸素ストレス指標として使用できる可能性が開かれた。

炭酸カルシウム殻の分析からは、酸性条件下で飼育されたバイ成体に殻の損傷、ウバガイの殻にU/Ca比の異常がそれぞれ検出され (P36)、これらの生物が酸性条件下で殻の形成を阻害されていることが示唆された。

酸性化区・貧酸素化区で発現量の増加が観察された遺伝子の多くが、複合影響区では遺伝子発現量の増加が緩和されていることも確認され (P41)、サブテーマ1で検出された、中程度のpH条件における緩和的な複合影響の存在を支持する結果が得られた。この現象の生理的な機序として、血液中のpHが下がることでヘモグロビンの酸素放出量があがるボーア効果の寄与が考えられたが、この仮説の明確な証明までには至らなかった。また生物分類群間でもストレス応答に遺伝子発現レベルでの差異が存在することも見出されており、その詳細についても今後の検証を必要とする。

6. 引用文献

- 1) Martin, M. (2011). Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet. journal*, 17(1), 10-12.
- 2) Smeds, L., & Künstner, A. (2011). ConDeTri—a content dependent read trimmer for Illumina data. *PloS one*, 6(10), e26314.
- 3) Grabherr, M. G., Haas, B. J., Yassour, M., Levin, J. Z., Thompson, D. A., Amit, I., ... & Regev, A. (2011). Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome. *Nature biotechnology*, 29(7), 644.
- 4) Haas, B. J., Papanicolaou, A., Yassour, M., Grabherr, M., Blood, P. D., Bowden, J., ... & Regev, A. (2013). De novo transcript sequence reconstruction from RNA-seq using the Trinity platform for reference generation and analysis. *Nature protocols*, 8(8), 1494-1512.
- 5) Aparicio, S., Chapman, J., Stupka, E., Putnam, N., Chia, J. M., Dehal, P., ... & Brenner, S. (2002). Whole-genome shotgun assembly and analysis of the genome of *Fugu rubripes*. *Science*, 297(5585), 1301-1310.
- 6) Bray, N. L., Pimentel, H., Melsted, P., & Pachter, L. (2016). Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification. *Nature biotechnology*, 34(5), 525-527.
- 7) R Core Team (2020) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>
- 8) Robinson, M. D., McCarthy, D. J., & Smyth, G. K. (2010). edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics*, 26(1), 139-140.
- 9) Young, M. D., Wakefield, M. J., Smyth, G. K., & Oshlack, A. (2010). Gene ontology analysis for RNA-seq: accounting for selection bias. *Genome biology*, 11(2), 1-12.
- 10) Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular biology and evolution*, 35(6), 1547.
- 11) Fuad, M. T. I., Shi, W., Liao, X., Li, Y., Sharifuzzaman, S. M., Zhang, X., ... & Xu, Q. (2022). Transcriptomic response of intertidal brittle star *Ophiothrix exigua* to seasonal variation. *Marine Genomics*, 64, 100957.
- 12) Iwama, G. K., Thomas, P. T., Forsyth, R. B., & Vijayan, M. M. (1998). Heat shock protein expression in fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 8(1), 35-56.
- 13) Kajimura, S., Aida, K., & Duan, C. (2006). Understanding hypoxia-induced gene expression in early development: in vitro and in vivo analysis of hypoxia-inducible factor 1-regulated zebra fish insulin-like growth factor binding protein 1 gene expression. *Molecular and cellular biology*, 26(3), 1142-1155.
- 14) Kajimura, S., Aida, K., & Duan, C. (2005). Insulin-like growth factor-binding protein-1 (IGFBP-1) mediates hypoxia-induced embryonic growth and developmental retardation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(4), 1240-1245.
- 15) Montgomery, D. W., Simpson, S. D., Engelhard, G. H., Birchenough, S. N., & Wilson, R. W. (2019). Rising CO₂ enhances hypoxia tolerance in a marine fish. *Scientific reports*, 9(1), 1-10.
- 16) 本田匡人、郡司掛博昭、松井繁明、諸石淳也、姜益俊、島崎洋平、大嶋雄治 (2010). サルボウガイ (*Scapharca kagoshimensis*) の呼吸代謝に及ぼす低酸素の影響. 九大農学芸誌 65, 31-37.

II-3 沿岸域における酸性化・貧酸素化の現状把握

国立研究開発法人水産研究・教育機構

水産資源研究所 海洋環境部

小埜 恒夫

水産技術研究所 環境・応用部門 沿岸生態システム部

村岡 大祐

【要旨】

現在の日本沿岸域における酸性化と貧酸素化のリスク評価を行うために、岩手県宮古市の地先及び沿岸沖合域、新潟県柏崎市の地先及び沿岸沖合域、東京湾地先の3海域5測点でD0とpHの連続周年モニタリングを実施した。各測点において、pHについては目標を上回る±0.01の精度、D0については目標通り±5 μmol/Lの精度で観測値を取得することができた。また東京湾では、既に公開されている湾中央部のD0・pH連続モニタリングデータも取得した。それぞれの海域において、塩分の時系列データからアルカリ度の時系列データを算出するとともに、得られたアルカリ度とpHから熱力学的平衡計算によってアラゴナイト飽和度 (Ω_{ara}) を算出して、pHとともに酸性化の指標値とした。

各海域の観測データをサブテーマ4で開発する高解像度沿岸域物質循環モデルの校正データとして提供するとともに、各海域の観測結果とサブテーマ1で算出された酸性化・貧酸素複合影響発現閾値とを比較して、各項目の年間最低値が複合影響発現閾値を下回っていない場合は年間最低値と複合影響発現閾値との差を複合影響発現猶予値として算出し、各項目の年間最低値が複合影響発現閾値を下回っていた場合は、1年のうち観測値が複合影響発現閾値を下回っていた日数を閾値超過日数として算出して、現在の各海域における貧酸素化と酸性化の進行状況を定量的に評価した。また観測データの解析により、D0と Ω_{ara} では観測された変動の40%程度、pHでは観測された変動のほとんど全てが生物活動に起因するものであること、そしてこれらの生物活動由来の変動成分は互いに正相関しているため、従来沿岸域の貧酸素化対策として実施されてきた各種の施策が、そのまま沿岸域のpHや Ω_{ara} を上昇させるための方策としても有効であることが明らかになった。定量的には、酸素飽和度を10%増加させることにより、pHが0.04~0.11程度、 Ω_{ara} が0.18~0.55程度上昇する。

また、現在の沿岸域において酸性化を引き起こす主要なリスク要因は、降雨時に河川から供給された有機物粒子が沿岸域で分解することで生じる短期的なpH・ Ω_{ara} の低下イベントであること、しかし沿岸域に流入する河川水中の栄養塩濃度を低下させることによって、このイベント発生時のpH・ Ω_{ara} の低下幅を引き下げることが可能であることも明らかとなった。

1. 研究開発目的

現在の日本沿岸域におけるpHとD0の変動状況は、環境省の公共用水域水質モニタリング等の事業を通じてある程度把握されているが、これらは採水試料の分析を基本としたモニタリングを行なっているため、日収変動や数日間スケールといった短期の変動状況は殆ど把握されていない。生物はこの程度の短期の暴露時間でも酸性化や貧酸素の影響を受けることが知られているため、さらに高い時間解像度でD0とpHの変動状況を把握する必要がある。またサブテーマ4においても同様の理由で日収変動や数日間スケールの変動を改造可能な高時空間解像度のモデルによる将来予測を行うため、このモデルの再現性評価用としても同様の時間解像度を持った観測データセットを準備する必要がある。

以上の必要を満たすため、サブテーマ1の飼育対象生物の生息海域である岩手県宮古市地先と新潟県柏崎市地先の2点において、日収変動を改造可能な時間解像度のpH・D0モニタリングを行い、現在の沿岸域において、ごく短期間の変動まで含めた場合にpHとD0がどこまで低下しているのかを把握するとともに、その変動要因を解明することを目的として本サブテーマを設定した。

2. 研究目標

柏崎、宮古の2地点におけるpHと溶存酸素の周年連続観測を実施し、各海域におけるpHと溶存酸素の

周年変動・周日変動の実態をpHについては ± 0.02 、溶存酸素については $\pm 5 \mu\text{mol/L}$ の精度で把握する。この結果を基に、サブテーマ1で得られた各生物の複合影響発現閾値に対して現在の海洋環境がどの程度離れた、あるいは近い状況にあるかの評価を実施する。

3. 研究開発内容

はじめに必要な精度を確保するための各センサーの洗浄手順・校正手順等の検討を行ない、特にpHについては、センサーの校正を通常用いられている淡水用標準溶液（JIS Z8802）ではなく、海水用に特化した「海水スケール標準溶液」¹⁾で行うことで、海水中に長期係留した際の計測値の誤差を軽減できることを確認した。そのうえで、2020年7月から2021年8月まで、岩手県宮古市地先と新潟県柏崎市地先の2地点における沿岸モニタリングを実施した（図3-1a）。それぞれの地点において、距岸200m程度、水深3-5m（潮汐によって変化）の地点から、宮古においては水産研究・教育機構宮古庁舎構内、柏崎においては海洋生物環境研究所実証試験場構内にそれぞれ設置した大型水槽（容積3kL以上）まで海水を連続的に組み上げ、この水槽内にセンサーを設置することで、砕波の影響が大きいこの水深帯の水質の観測を冬季の荒天下でも安全に継続できるようにした（図3-1b, c）。両地点において、海水温、塩分、D0、及びpHの各データを1時間毎に記録した。また1~2週間毎に水槽内の海水を採取して塩分、栄養塩濃度、アルカリ度及び全炭酸の分析を行い、これらの分析データから熱力学的平衡計算によって海水のpH真値を算出して、センサーによるpH観測値のドリフト補正を行なった。これらの観測中に、取水口と水槽内のpH及びD0の同時観測を行なって汲み上げによる水質変化の有無を評価し、また水槽内に2本のセンサーを同時に係留してセンサー間の計測値の比較を行うことで、センサー自身の計測精度を評価した。これらの結果から最終的に評価されたD0センサーとpHセンサーの計測誤差はそれぞれ $\pm 5 \mu\text{mol/kg}$ 、 ± 0.01 となり、目標とした計測精度を達成できていることが確認された。

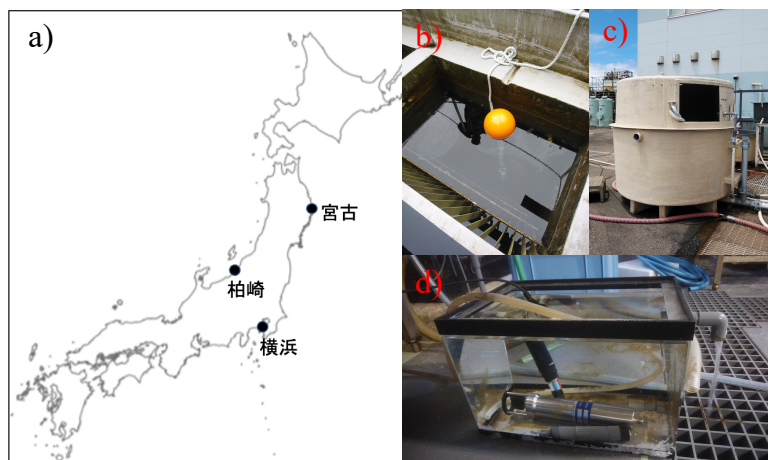


図3-1 a)本サブテーマにより実施された沿岸観測点の位置図。b)c)d)それぞれ、宮古地先、柏崎地先、横浜地先の観測において使用した大型水槽の現場写真

2021年9月からは岩手県宮古市沿岸の水深17m地点と新潟県柏崎市沿岸の水深25m地点にセンサー類を係留し、それぞれ2022年10月まで、岸から離れた沿岸域におけるD0とpHの変動状況のモニタリングを行なった。但し柏崎沖では荒天によるセンサーの破損・亡失を避けるために、2021年12月から2022年2月までの3ヶ月間は観測を中止した。また宮古では1ヶ月毎、柏崎では約3ヶ月毎に採水分析を行い、地先モニタリングと同様の手法でpHセンサー計測値のドリフト補正を行なった。

地先調査、沖合調査ともに、観測期間中の採水分析の結果をもとにアルカリ

度と塩分の関係式を作成し、この式に塩分センサーの時系列データを代入することで、観測期間中のアルカリ度の1時間毎の連続データを生成した。さらに水温・塩分・pHの観測データと、この手法により算出されたアルカリ度の値から、全炭酸及びアラゴナイト飽和度 (Ω_{ara}) の1時間毎の連続データを生成した。このようにして整備した宮古・柏崎海域の海洋環境データ（水温、塩分、D0、pH、アルカリ度、全炭酸、 Ω_{ara} ）をサブテーマ4に送付し、サブテーマ4が作成する宮古・柏崎各海域の高解像度物質循環モデルの校正データとして提供した。

サブテーマ1により、各pHレベルにおける沿岸生物の24時間暴露後半数致死D0濃度（24h-LD₅₀）が算出されている。環境省による貧酸素影響評価では24時間の暴露時間における5%致死D0濃度（24h-LD₅）が生物影響の指標値として採用されているため、サブテーマ1により求められた24h-LD₅₀に、環境省が使用している24-h LC₅₀から5%致死濃度（24-h LC₅）への換算比率（1.31、環境省資料「底層溶存酸素

量の基準値について」、<https://www.env.go.jp/council/09water/y0916-03/mat06.pdf>) を乗じることで、各生物の24-h LC₅を導出した(表3-1)。各海域の観測結果からD0・pH・ Ω_{ara} の年間最低値を算出し、D0の年間最低値が同時に観測されたpHに対応する24-h LC₅よりも下回っていないかを確認した。pHと Ω_{ara} については、既存研究により求められているマガキ (*Crassostrea gigas*) の幼生に対する酸性化影響発現閾値 (pH = 7.6, Ω_{ara} = 1.5)²⁾を基準値とし、それぞれの年間最低値がこの値を下回っていないかを確認した。各項目の年間最低値が複合影響発現閾値を下回っていない場合、現在の年間最低値と複合影響発現閾値との差を**複合影響発現猶予値**として算出した。また各項目の年間最低値が複合影響発現閾値を下回っていた場合は、1年のうち観測値が複合影響発現閾値を下回っていた日数を**閾値超過日数**として算出した。

表3-1 サブテーマ1で求められた24-h LC₅₀に基づいて算出された、各pH条件下の24時間の暴露時間における5%致死D0濃度(24-h LD₅; 単位は $\mu\text{mol}/\text{kg}$)。ウバガイ、パイ、キタクシノハクモヒトデはサブテーマ1の実験条件の範囲内では貧酸素影響を受けないと判定されたため、24-h LD₅は算出していない。

生物種	生活史段階	pH				
		8.0	7.8	7.7	7.6	7.5
シロギス	卵	128	132	121	117	137
	仔魚	125	111	119	120	131
シオダマリ						
ミジンコ	幼生	68	76	60	77	78

初年度のキックオフ会合とアドバイザー会合における議論により、宮古・柏崎地先よりもさらに陸域負荷の大きな東京湾についても数値モデルを構築し、貧酸素・酸性化複合影響の将来予測を行うことになったことに伴い、東京湾数値モデルの校正データとして必要な、東京湾のD0・pHモニタリングデータの整備をサブテーマ3において実施した。具体的には、2021年7月から2022年7月まで、神奈川県横浜市の水産研究・教育機構横浜庁舎地先から連続的に組み上げた海水を同庁舎構内の水槽に掛け流し(図3-1d)、宮古地先・柏崎地先と同様に水温、塩分、D0及びpHの連続観測を行って観測データをサブテーマ4に提供した。また海上保安庁が東京湾中央部の川崎人工島(風の塔)で観測・公開している連続水質モニタリングデータベース³⁾から、2020年6月~2021年12月の海洋環境データ(水温、塩分、D0及びpH)を収集し、この値もサブテーマ4に提供した。また東京湾における既知の塩分-アルカリ度関係式⁴⁾を用いて、塩分の観測値からアルカリ度の時系列データを算出し、この値と水温、塩分、pHから Ω_{ara} の時系列データも算出して同じくサブテーマ4に提供した。ただし川崎人工島のpHセンサーは淡水用の標準溶液で校正が行われているため、横浜地先のモニタリング水槽中に淡水用標準溶液で校正したpHセンサーと海水スケール標準溶液で校正したpHセンサーを2本同時に設置して、pHの同時観測を行った。校正スケールの異なる二つのpHセンサー値間の計測値のずれを水温・塩分で関数化した補正式を作成し、これを用いて川崎人工島のpHデータを海水スケールに変換した。

これらの観測データ整備とサブテーマ4へのデータ提供、複合影響発現猶予値と閾値超過日数を用いた酸性化・貧酸素化影響評価と並行して、取得されたデータの解析により、各海域におけるD0、pH及び Ω_{ara} の主要変動要因の推定を行った。

4. 結果及び考察

4-1 宮古・柏崎沿岸におけるD0・pH・ Ω_{ara} の変動状況の把握

宮古、柏崎の地先・沖合におけるD0、pH及び Ω_{ara} の観測結果を図3-2に示す。全測点ともに、D0とpHは夏季、 Ω_{ara} は冬にそれぞれ値が低くなる季節変動パターンを示したが、宮古沖では冬季に短期間の

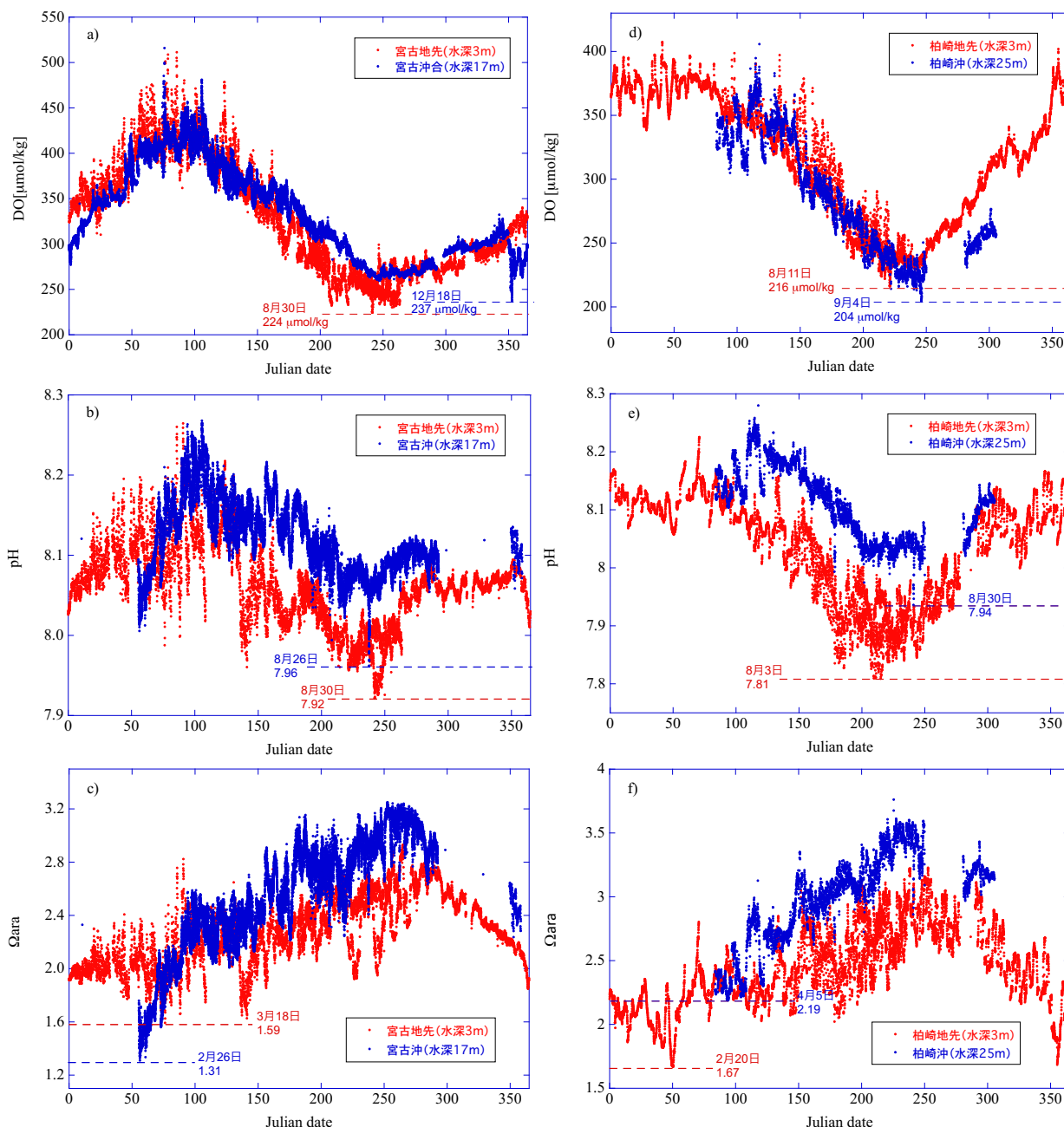


図3-2 宮古地先及び沖合におけるa) DO、b) pH及びc) Ω_{ara} 、柏崎地先及び沖合域におけるa) DO、b) pH及びc) Ω_{ara} の観測結果。実際の観測は2020年7月から2021年8月にかけておこなわれているが、ここでは1月1日から12月31日までの累積日数（Julian date）を横軸にとって表示しているため、概ね1～180日までが2021年のデータ、270～365日までが2020年の観測値である。また180～270日の間は2020年の観測値と2021年の観測値が重複している。

各図の青線・赤線は、各海域の地先・沖合でそれぞれ観測された年最低値を示す。

DO低下現象（継続日数2週間程度）が観察され、この際にDOの年間最低値が記録された。これは沿岸水の流動により、より深い水深に存在する低DOの水塊が短期的に湧昇した結果と考えられた。この2週間の特殊例を除けば、宮古沖合でもDOは夏季に低く冬季に高くなる季節変動を示した。柏崎では地先と沖合で各季節のDOにほとんど差がなかったが、宮古では沖合よりも地先の方が夏季に低いDOを示す傾向があった。pHと Ω_{ara} については、宮古・柏崎ともに沖合よりも地先の方が夏季に低い値を示した。これらの結果から、特に沿岸域で生物活動が活発化する夏季において、同じ沿岸域内でも海岸線に近い地先において、より強く貧酸素化や酸性化の影響を被る可能性があることが示唆された。

こうした季節変動に加えて、各点でD0、pH、 Ω_{ara} はともに顕著な日周変動と、数日～10日間程度の時間スケールを持った短期の経日変動を示した。各点におけるD0、pH、 Ω_{ara} の24時間標準偏差と10日間標準偏差を計算した結果は表3-2のようになり、各項目ともに10日間以下の時間スケールの変動成分が、年間の変動幅の20%～30%を占めることが判った。また各項目の年間最低値も、こうした短期の変動のピーク時に観測されていた(図3-2)。これらの結果は、現在の沿岸域における酸性化や貧酸素化の進行状況を正確に評価するためには、短くても月一回程度の観測頻度である公共用水域モニタリングでは不十分であり、10日間以内の経日変動や日周変動まで検出可能な時間解像度のモニタリングが必要であることを示している。

表3-2 時間スケール別の各項目の変動幅(±1SD)の年間平均値

	宮古地先	宮古沖	柏崎地先	柏崎沖	東京湾 [#]
D0					
日周変動	20	10	10	8	22
10日間変動	20	15	13	25	36
周年変動	60	56	51	45	58
pH					
日周変動	0.02	0.02	0.03	0.02	0.04
10日間変動	0.02	0.02	0.03	0.03	0.07
周年変動	0.05	0.05	0.09	0.06	0.16
Ω_{ara}					
日周変動	0.10	0.15	0.20	0.07	0.20
10日間変動	0.09	0.15	0.21	0.10	0.34
周年変動	0.36	0.42	0.64	0.35	0.72

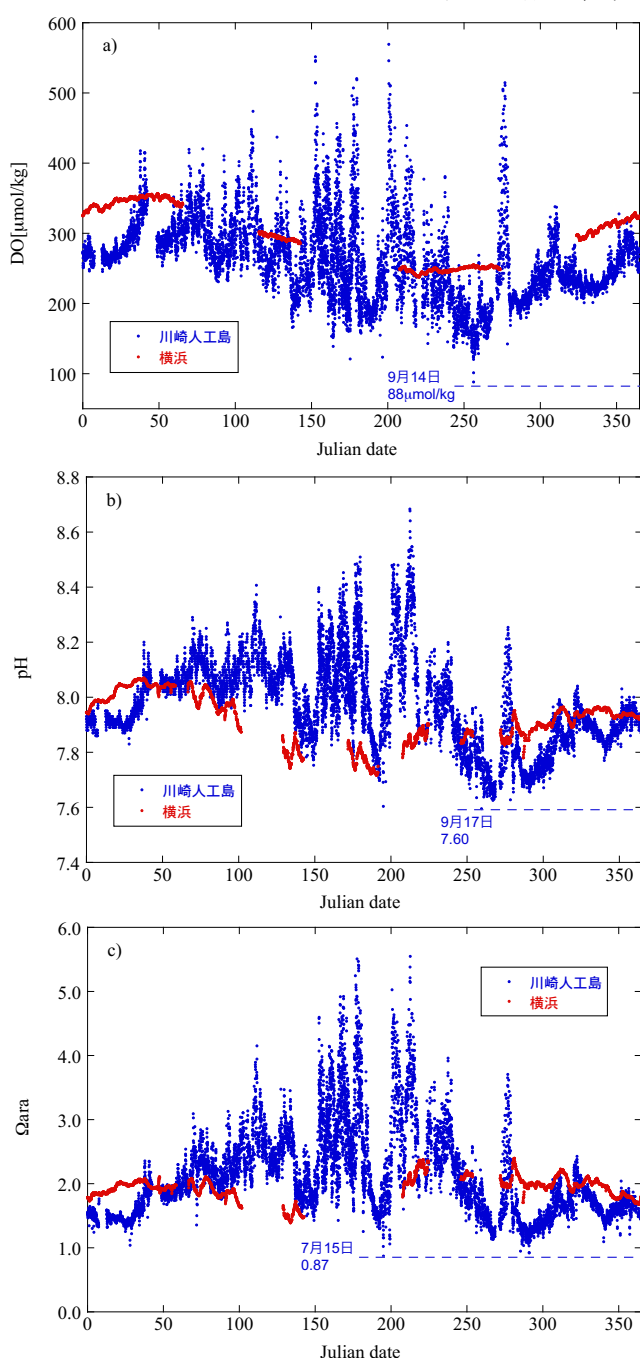
#東京湾については川崎人工島の値のみを示す。詳細は3-2節参照。

表3-3 宮古、柏崎、東京湾におけるD0、pH、 Ω_{ara} の年間最低値と、そこから計算された複合影響発現猶予値もしくは閾値超過日数

	宮古地先	宮古沖	柏崎地先	柏崎沖	東京湾 [#]
D0					
年間最低値($\mu\text{mol}/\text{kg}$)	224	237	216	204	88
影響発現猶予値($\mu\text{mol}/\text{kg}$)	92	105	95	72	----
閾値超過日数(日)					1
pH					
年間最低値	7.92	7.96	7.81	7.94	7.60
影響発現猶予値	0.32	0.36	0.21	0.34	0.00
Ω_{ara}					
年間最低値	1.59	1.31	1.67	2.19	0.87
影響発現猶予値	----	----	0.07	0.69	----
閾値超過日数(日)	0.25	10			87

*東京湾については川崎人工島の値のみを示す。詳細は3-2節参照。

各点におけるDO、pH、 Ω_{ara} の年間最低値は表3-3のようになり、DOとpHについては、サブテーマ1で得られた複合影響発現閾値に対して、DOで70 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 以上、pHで0.2以上の猶予値が存在することが明らかになった。現在日本沿岸域で観測されているDOの減少速度は最大で0.7 $\mu\text{mol}/\text{kg}/\text{y}$ 程度⁵⁾、pHで平均0.0024/y⁶⁾なので、宮古と柏崎の沿岸域ではDOについては今後100年以上、pHについては今後80年程度の間は、生物に影響が現れるレベルまで値が低下することはないと考えられる（より精確な将来予測はサブテーマ4による）。いっぽう Ω_{ara} については、宮古地先で全観測期間中6時間、宮古沖で全観測期間中10日間、既存研究⁷⁾で得られているマガキ幼生の影響発現酸性化閾値を下回った。pHでは酸性化が閾値まで達しておらず、 Ω_{ara} でだけ到達している理由は、 Ω_{ara} がpHだけでなく水温・塩分によっても変動し、特に低温・低塩分の環境下で Ω_{ara} が低下するため、低pHと低温・低塩分の3条件が重なってしまうタイミングで、pHよりも Ω_{ara} が先に閾値に到達してしまっているものと考えられる。ただしこれらの点で影響発現閾値以下の Ω_{ara} が観測されたのは冬季であり、実際にこの海域にマガキ幼生が出現する期間（5月～8月）には Ω_{ara} は常時影響発現閾値を上回っているため、現在の同海域においてマガキ幼生への酸性化影響は発現していないと考えられる。宮古海域におけるマガキ以外の主な有炭酸塩殻水産資源生物であるエゾアワビやキタムラサキウニの酸性化影響発現 Ω_{ara} 閾値は1.1～1.2⁷⁾⁸⁾とさらに低く、宮古海域の Ω_{ara} は冬季でもこの値までは低下していないため、宮古海域では少なくとも主な海産資源生物に対しては、酸性化の影響はまだ発現していないと考えて良い。ただし、水産業によって生育状況がこまめにモニタリングされていない非水産利用種の有炭酸塩殻生物の中で、冬季に卵・幼生を発生させるような種が存在した場合、その種に対しては何らかの酸性化影響が発生している可能性は否定できないため、今後は非水産利用種の有炭酸塩殻生物に対するモニタリングが重要である。



宮古海域の Ω_{ara} は冬季でもこの値までは低下していないため、宮古海域では少なくとも主な海産資源生物に対しては、酸性化の影響はまだ発現していないと考えて良い。ただし、水産業によって生育状況がこまめにモニタリングされていない非水産利用種の有炭酸塩殻生物の中で、冬季に卵・幼生を発生させるような種が存在した場合、その種に対しては何らかの酸性化影響が発生している可能性は否定できないため、今後は非水産利用種の有炭酸塩殻生物に対するモニタリングが重要である。

4-2 東京湾におけるDO・pH・ Ω_{ara} の変動状況の把握

東京湾の横浜地先におけるDO、pH、 Ω_{ara} の観測データと、公開されている川崎人工島表層(1m)のDO、pH、 Ω_{ara} の観測結果を図3-3に示す。なお先述のとおり、公開されている川崎人工島のpHデータはJIS標準溶液で校正された値(JIS-pH)であるため、横浜地先において、JIS標準溶液で校正されたpHセンサー

図3-3 横浜地先におけるa)DO、b)pH、及びc) Ω_{ara} の観測結果と、公開データベースから取得した川崎人工島における同項目の観測値。横浜は2021年7月～2022年7月の全データ、川崎人工島のデータは取得した2020年6月～2021年12月までのデータのうち、2020年6月～2021年7月のデータを表示している。青線は川崎人工島における各項目の年間最低値を示す。

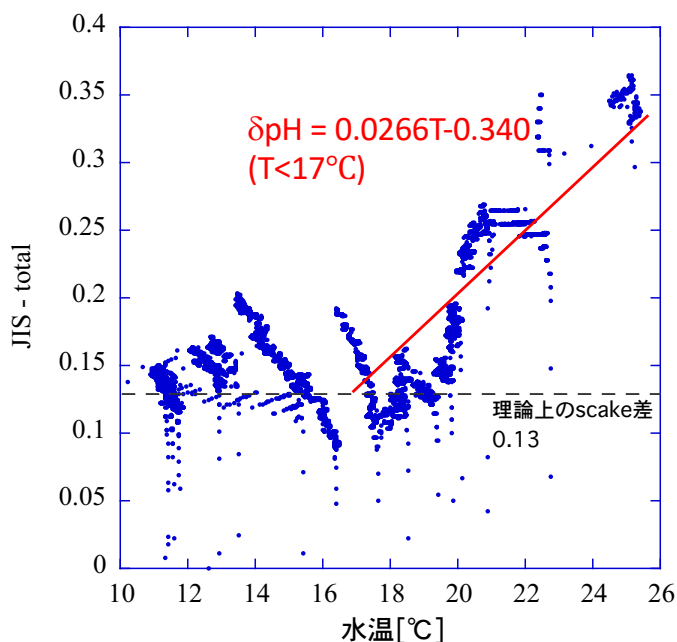


図3-4 JISスケール標準液で校正したpHセンサーにより取得されたpH値と、海水スケール標準液で校正したpHセンサーにより取得されたpH値の差の水温に対するプロット。黒線は理論的に予想される両スケール間の値の差、赤線は水温17°C以上において実際の観測値から算出された回帰直線を示す。

東京湾では、D0とpHは9月頃、 Ω_{ara} は12月ごろにそれぞれ値が低くなる季節変動を示したが、それに加えて川崎人工島沖では各項目とも、数日～10日間程度の時間スケールの非常に大きな短期変動が観察されており、この結果 Ω_{ara} は季節変動としては冬季に値が低下しているにもかかわらず、年間最低値は7月の短期的な Ω_{ara} 低下イベントの際に記録された。このような短期変動の存在のため、D0、pH、 Ω_{ara} ともに、幅広い季節にわたってそれぞれの生物影響発現閾値に迫る値が短期的には観察された。特に Ω_{ara} については、年間のうち実に87日間にわたってマガキ幼生の生物影響発現閾値を下回る値が観測された（表3-3）。現在の東京湾ではマガキの産業的な養殖は行われていないが、水質浄化を目的として沿岸各自自治体が近年放流したものも含めて、天然のマガキは生息しており、その東京湾内における再生産には酸性化の影響が現れている可能性がある。また他の貝類の卵や幼生に対しても、東京湾では酸性化の影響が生じている可能性があるため、今後生物側のモニタリングを行って影響を確認していく必要がある。またD0に関しても、川崎人工島では対応するpH環境下におけるシロギス卵の溶存酸素影響発現閾値（137 $\mu\text{mol/kg}$ ）を下回る値が1日間だけ観測された。シロギスは東京湾の底層溶存酸素濃度基準値を決める際の指標生物のひとつともなっているが、今回の観測結果は、東京湾に生息するシロギスの再生産に適さないD0環境が少なくとも湾内の一部で、ごく短期間には生じていることを示しており、今後D0環境の動向とシロギスの生育状況にも注視が必要である。

4-3 各海域における貧酸素化機構と酸性化機構の関連の解析

一般的に、海洋表層におけるD0の変動要因は水温・塩分により変動する飽和酸素濃度の変化と、生物活動に起因するそこからのずれの二つに分けることができ、前者は海水の100%酸素飽和濃度、後者は酸素飽和度として数量化できる。pH・ Ω_{ara} についても同様に、水温・塩分により海水のCO₂飽和濃度が変動することに伴って変化するpH成分と、生物活動により引き起こされるそこからのずれ（pH_{disseq}及び

(JIS-pH)と海水スケール標準溶液で校正されたpHセンサー（total-pH）を同じ水槽に入れて1年間計測を行い、両者の値の差を水温の関数として定式化している。この結果は図3-4のようになり、水温17°C以下では一定値0.13、水温17°C以上では図3-4に示した水温の一次相関式で両者の差を表すことができた。図3-3に示されている川崎人工島のpHは、公開データをこの式により補正して得た、海水スケールの値である。

川崎人工島における観測値は横浜地先における観測値よりも顕著に大きな短期変動を示し（表3-2）、これに伴って年間最低値も横浜より川崎人工島の方がはるかに低い値を示した。これは横浜地先と川崎沖の2点間の海洋環境の違いの他にも、横浜地先の観測で使用している揚水ポンプシステムの経路途中に存在する静置水槽内の海水滞留時間が大きいため、日周変動のシグナルが消去されてしまっている可能性が考えられた。このため、以降の解析では川崎人工島の観測データを主に使用し、またサブテーマ4における東京湾モデルの校正データとしても川崎人工島の観測データを優先的に使用している。

Ω_{aradiseq}) の二つの要素によって観測された変動が生じていると考えられる。

そこで、観測された水温・塩分・アルカリ度の時系列から、海水中の CO_2 濃度が現在の大気中 CO_2 濃度(410ppm)と平衡状態にある場合の pH_{eq} 及び Ω_{ara} の推定値(pH_{eq} 及び Ω_{araeq})を熱力学的平衡計算により算出し、この値と $\text{pH} \cdot \Omega_{\text{ara}}$ 各観測値からのずれ(pH_{diseq} 及び Ω_{aradiseq})を生物学的要因による変動成分として算出した。

$$\text{pH}_{\text{meas}} = \text{pH}_{\text{eq}} + \text{pH}_{\text{diseq}}$$

$$\Omega_{\text{arameas}} = \Omega_{\text{araeq}} + \Omega_{\text{aradiseq}}$$

宮古、柏崎及び東京湾における pH_{eq} 、 pH_{diseq} 、 Ω_{araeq} 及び Ω_{aradiseq} の時系列を、各海域における飽和酸素濃度及び酸素飽和度の変化とともに図3-5に示す。 pH_{eq} の変動幅は大河川の影響が強い宮古地先と川崎人工島でもっとも大きかったが、それでも年間の変動幅は0.04程度でしかないのに対して、 pH_{diseq} の変動幅は川崎人工島で1.0程度、その他の海域でも0.3~0.4程度あり、観測された pH 変動の大部分が生物過程によって引き起こされたことを示した。 Ω_{ara} については、宮古と柏崎では Ω_{araeq} の年間変動幅が1.5~2.3程度に対して Ω_{aradiseq} の年間変動幅が1~1.5で、観測された変動のうち40%程度が生物活動由来の変動成分と推定された。ただし Ω_{araeq} の時系列には数日~10日間スケールの短期の変動成分がほとんど見られないのに対して、 Ω_{aradiseq} には短期の変動シグナルが多量に含まれており、 Ω_{ara} の短期変動に限って見れば宮古と柏崎でもほとんどが生物由来であると考えられた。また生物活動が非常に大きい東京湾では、 Ω_{araeq} の年間変動幅1.5に対して Ω_{aradiseq} の年間変動幅が5以上となり、観測された変動の8割程度が生物的要因によるものとなった。

このように pH 、 Ω_{ara} ともに生物由来の変動成分が大きいことから、同じく生物活動(特に有機物の分解活動)によって生じること多い貧酸素現象に対して立案されてきた対策の多くが、同時に pH_{diseq} と Ω_{aradiseq} の値を上昇させることで、酸性化対策としても有効に寄与する可能性が示唆された。そこで各海域の pH_{diseq} と Ω_{aradiseq} の値を酸素飽和度に対してプロットすると、図3-6のようにそれぞれ有意な正の

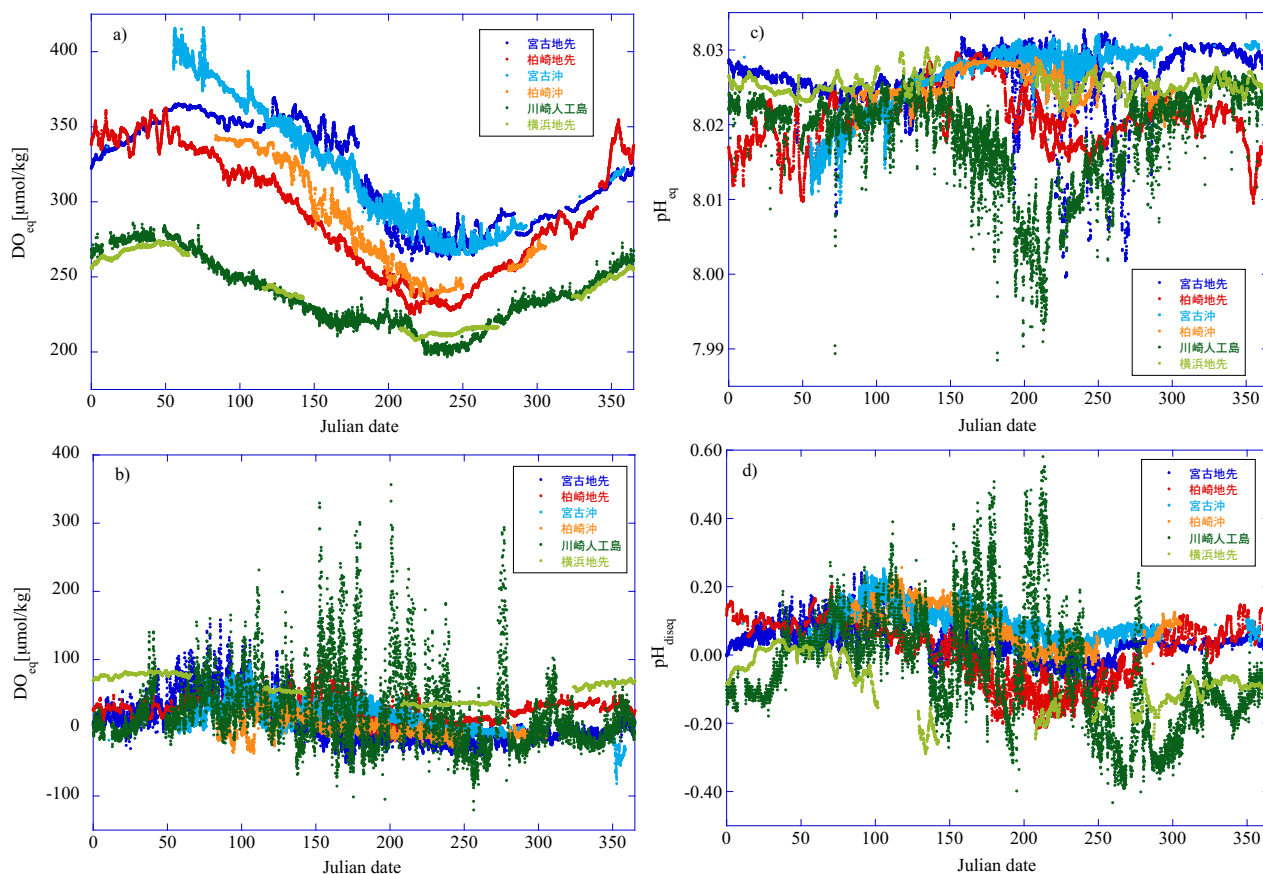


図3-5 各観測点で算出されたa) pH_{eq} 、b) pH_{diseq} 、c) Ω_{araeq} 及びd) Ω_{aradiseq} の時系列

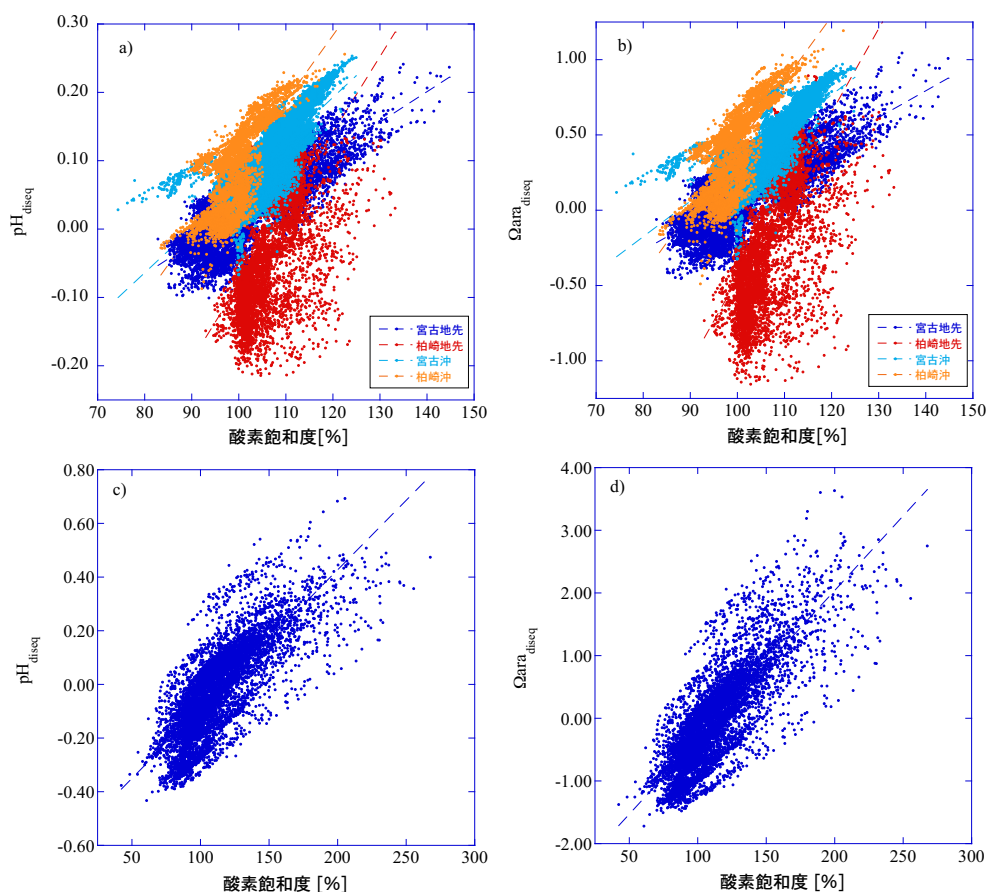


図3-6 宮古地先、宮古沖、柏崎地先、柏崎沖におけるa) pH_{diseq} 及びb) $\Omega_{\text{ara,diseq}}$ の酸素飽和度に対するプロットと、川崎人工島におけるc) pH_{diseq} 及びd) $\Omega_{\text{ara,diseq}}$ の酸素飽和度に対するプロット。横浜地先の観測値は日周・経日の短期変動が緩和されている可能性が高いことから、本解析には用いていない。点線は各海域における回帰直線を示す。

表3-4 各海域の酸素飽和度を10%改善させることで期待されるpHと Ω_{ara} の上昇量

	宮古地先	宮古沖	柏崎地先	柏崎沖	東京湾
pH	0.04	0.06	0.11	0.10	0.05
Ω_{ara}	0.18	0.24	0.55	0.43	0.24

相関を示した。それぞれの回帰直線の傾きから、貧酸素対策によって酸素飽和度を10%改善することで期待されるpHと Ω_{ara} の上昇量を海域ごとに算出すると表3-4のようになった。この見積もり値は、貧酸素対策が同時に持ち得る酸性化対策としての効果の予測値として、今後有用となると考えている。

4-4 地先海域における短期のD0・pH低下機構の解明

図3-2及び図3-3に見られるとおり、沿岸域とくに地先海域におけるD0、pH、 Ω_{ara} の変動には、季節スケールの変動の上に数日～10日程度の時間スケールの短期の変動が重複しており、各項目とも年間最低値はこうした短期変動の極小フェーズ（短期低下イベント）時に記録されている。東京湾のように生物影響発現閾値を下回るD0や Ω_{ara} が頻繁に観測されている海域でも、こうした短期変動を取り除いた各季節の平均D0値・ Ω_{ara} 値（東京湾でいえば横浜地先の観測値が相当、図3-3）自体は、生物影響発現閾値を下回ってはいない。これらの事実は、現在の地先海域及び内湾域の表層において生物に影響を与えるレベルの貧酸素化や酸性化を引き起こす可能性のある主要なリスク要因が、D0、pH、 Ω_{ara} の短期低下イ

イベントであることを示している。このため、これらの短期低下イベントの発生機構を理解することが特に重要である。

各海域において特に大きなD0、pH、 Ω_{ara} の短期低下イベントが生じている際に同時に発生していた気象現象を探索した結果、ほとんどの短期低下イベントが、各海域における降雨後数日以内に発生していることがわかった。海域に流入する主要河川が一本だけで、降雨と短期低下イベントの関係が特に明瞭に視認しやすかった宮古地先における降雨時の塩分、D0及びpH_{diseq}の時系列変化の一例を図3-7に示す。

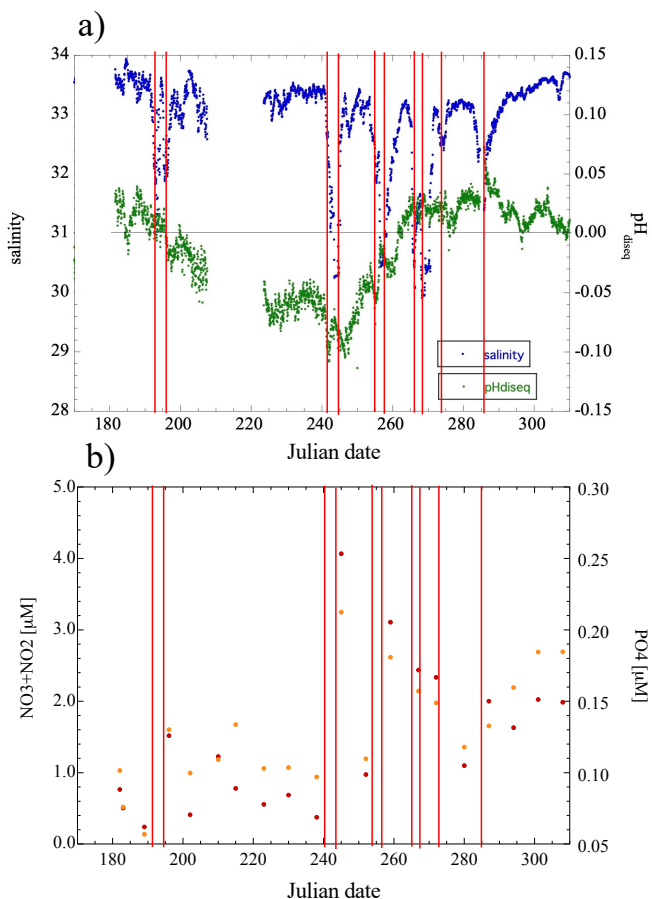


図3-7 a) 宮古地先における2020年7月1日 (Julian date = 182) から2020年11月4日 (Julian date = 304) までの、塩分とpH_{diseq}の観測結果の拡大表示。b) 上記と同時期に約1週間おきに採水した、硝酸+亜硝酸 (赤丸) とリン酸 (茶丸) の分析結果。表示期間中、宮古市において主要な降水のあった日に赤縦線を記している。

降雨に伴うD0、pH、 Ω_{ara} の短期低下イベントが河川によって供給される有機物粒子の分解によって生じているとすれば、各海域におけるこれらの短期低下イベントの振幅の大きさは、各海域に流入する河川水中の有機物粒子濃度によって決定されている可能性が大きい。全国の河川水中の有機物粒子濃度の網羅的なデータベースは存在していないが、間接的なデータとして全国の主要河川河口域の栄養塩濃度 (硝酸性窒素) は環境省の公共用水域水質モニタリングによって把握されているので、この値と各地先・内湾海域 (宮古地先、柏崎地先及び川崎人工島) におけるpH短期低下イベントの振幅との関連を解析した。具体的には、まず降雨にかかわらず常時存在する日周変動の影響を除去するために、各海域における各日のpHの日最低値を算出し、次に各日の当日+前後5日間の区間における日最低値の標準偏差 (SD₁₀) を算出した後に、各月のSD₁₀の月平均値 (\overline{SD}_{10}^m) を海域ごとに算出した。同じ操作を塩分に対して

宮古地先においては、降雨イベントと同日に表層水の塩分が低下しているいっぽう、pH_{diseq}は降水と同時に低下せず、降雨後2~3日後から低下を開始していた。また塩分の低下現象は降雨終了後遅くとも数日以内に解消されるのに対して、pH_{diseq}の低下イベントの継続期間は降雨のたびにまちまちであり、場合によっては塩分低下イベントの終了後10日以上経過しても元の値に戻らないケースも確認された。この観測と同時期に行われた栄養塩の採水観測データを見ると、(栄養塩試料の採取は週1回のため、全ての降雨イベントに対応したデータがあるわけではないが) pH_{diseq}と同様に、降雨の数日後に栄養塩濃度のピークが発生している状況が確認できた。これらのデータから、pH_{diseq}の短期的な低下現象は塩分低下によるCO₂飽和濃度の増加や河川から溶存態として供給される栄養塩を起点とした生物過程の影響で引き起こされているのではなく、増水した河川から供給される有機物粒子が沿岸域において数日間かけて分解され、海水中にCO₂を放出するために起きていることが推察された。この有機物分解によって栄養塩も同時に放出され、この栄養塩を利用した一時生産によって放出されたCO₂が消費されていくことで、pH_{diseq}が緩やかに再上昇して一回の短期低下イベントが終了すると考えられる。また図3-5で見たようにD0飽和度、pH_{diseq}、 $\Omega_{aradiseq}$ は互いに正相関していることから、この一連の過程によってD0飽和度と $\Omega_{aradiseq}$ の短期低下イベントも同時に発生していると考えて良い。

も行い、最後に各海域のpHの \overline{SD}_{10}^m を塩分の \overline{SD}_{10}^m に対してプロットした。なおこの解析に際しては、本課題による観測海域だけでなく全国的な傾向を把握するため、本課題の観測とほぼ同時期に宮城県志津川湾と瀬戸内海の2回域（岡山県日生地先及び広島県廿日市地先）で実施されていたpHモニタリング事業⁹⁾の公開データも取得して解析に加えた。

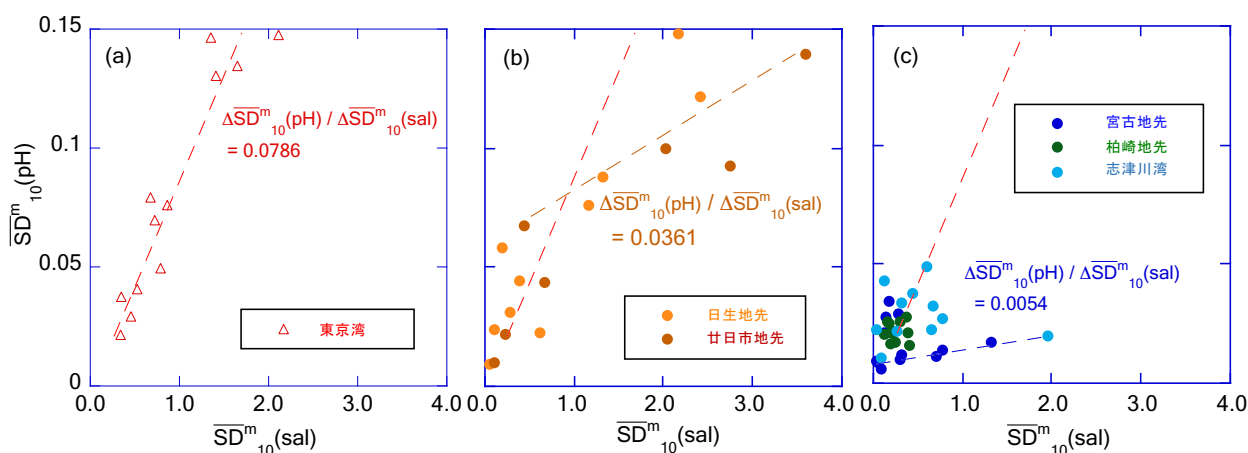


図3-8 a) 東京湾、b) 瀬戸内海及びc) 三陸・北陸沿岸域で算出された塩分・pHの各 \overline{SD}_{10}^m 値の相関プロット。各図の赤線は東京湾で得られた \overline{SD}_{10}^m (pH)と \overline{SD}_{10}^m (sal)の回帰直線、茶線及び青線はそれぞれ瀬戸内海、三陸・北陸沿岸域の \overline{SD}_{10}^m (sal)が1.0以上の点から算出された回帰直線を示す。

各海域の解析結果を図3-8に示す。東京湾ではpHの \overline{SD}_{10}^m は塩分の \overline{SD}_{10}^m の増加に対応して直線的に増加し、その傾きは塩分の \overline{SD}_{10}^m の値に関わらず一定だった。いっぽう、外部データを参照した瀬戸内海の2点では、塩分の \overline{SD}_{10}^m が1.0以下ではpHの \overline{SD}_{10}^m と塩分の \overline{SD}_{10}^m のプロットは東京湾と同じ回帰直線上に乗ったが、それより大きな \overline{SD}_{10}^m では、塩分の \overline{SD}_{10}^m 増加速度に対するpHの塩分の \overline{SD}_{10}^m の増加速度は東京湾より

顕著に低下した。宮古地先、柏崎地先及び志津川湾のプロットでは、 \overline{SD}_{10}^m が1.0以上での回帰直線の傾きは瀬戸内海よりもさらに小さくなった。

東京湾、瀬戸内海、及びその他の海域における、 \overline{SD}_{10}^m が1.0以上での回帰直線の傾きを、各海域に流入する一級河川の河口域硝酸塩濃度の平均値に対してプロットすると図3-9のようになり、大規模出水時における塩分低下量とpH低下量の比率が、流入する河川の栄養塩濃度に正相関していることが定量的に明らかになった。このことは、沿岸域に流入する河川の栄養塩濃度を低減することで、河川内もしくは河口域で生産される有機物粒子の量も減少し、したがって増水時（低塩分イベント時）における沿岸域のpH低下幅も軽減できるということを意味している。

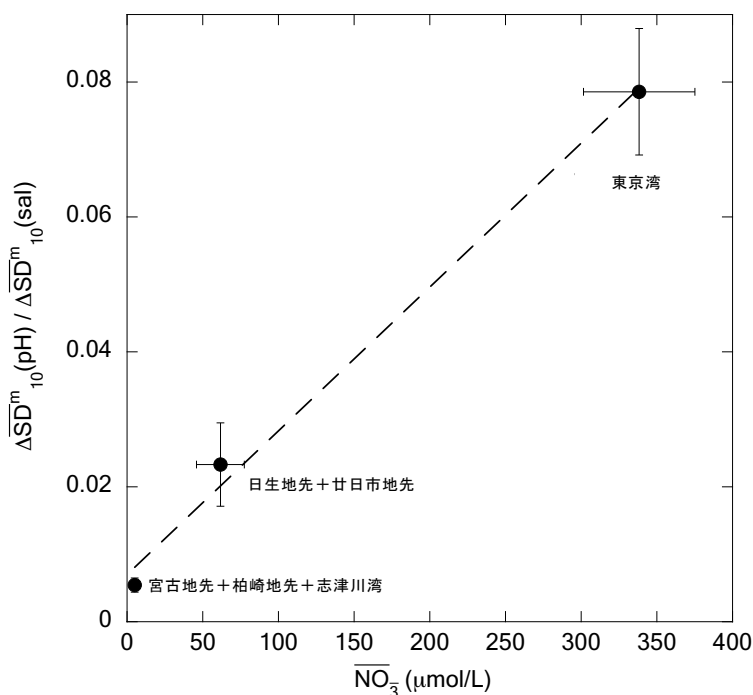


図3-9 東京湾、瀬戸内海、三陸・北陸沿岸域の各海域において \overline{SD}_{10}^m (sal) > 1となる月に対して算出された、 \overline{SD}_{10}^m (sal)の増加に対する \overline{SD}_{10}^m (pH)の増加率と、各海域に流入する主要河川の年平均硝酸塩濃度との相関プロット。

前出のようにpHの変動のほとんどは pH_{diseq} の変動でもたらされていること、そして pH_{diseq} とDO飽和度及び Ω_{aradiseq} は互いに正相関していることを考え合わせると、河川の栄養塩濃度を低減することで酸素飽和度と Ω_{ara} の短期的な低下幅も同時に軽減できることが期待される。沿岸域への陸域負荷量を低下させることで沿岸域の貧酸素化を軽減できることは従来から指摘されているが、本課題の解析結果から、沿岸域への陸域負荷量を低下させることで、現在の沿岸域における主要な酸性化リスクである降水時の短期的pH低下イベントの規模もまた軽減できることが、初めて定量的に示された。

沿岸域における貧酸素化と酸性化の将来予測においても、陸域からの栄養塩負荷量を低下させることで、将来の沿岸域におけるDO、pH、 Ω_{ara} の短期変動幅を減少させることができると考えられる。このことにより、気温の上昇と大気中 CO_2 濃度の上昇によって引き起こされるDO、pH、 Ω_{ara} の経年的な減少の一部を相殺することができる可能性がある。この点に関してのより詳細かつ定量的な検討は、サブテーマ4によって実施されている。

5. 研究目標の達成状況

柏崎、宮古の2地点におけるpHとDOの周年連続観測を実施し、各海域におけるpHとDOの周年変動・経日変動及び周日変動の実態を、pHについては目標を上回る ± 0.01 の精度、溶存酸素については目標通り $\pm 5 \mu\text{mol/L}$ の精度で把握した(P50)。また当初目標に加えて、より陸域負荷の高い東京湾においても地先においてpHと溶存酸素の周年連続観測を実施し、さらに湾中央部の変動についても既存の公開データベースから観測値を取得することで把握した(P52)。これらのデータとサブテーマ1で得られた生物の複合影響発現閾値とを比較し、 $\text{pH} \cdot \Omega_{\text{ara}}$ とDOの年間最低値が複合影響発現閾値よりも高い場合には複合影響発現猶予値、年間最低値が既に複合影響発現閾値を下回っている場合には閾値超過日数を算出して、現在の各沿岸域の酸性化・貧酸素化の進行状況を定量的に評価した(P51)。既に現時点において、宮古沖では年間10日程度、東京湾では年間87日程度、 Ω_{ara} がマガキ幼生の酸性化影響発現閾値を下回っており、両海域で既に酸性化影響の発現リスクが存在することが示された。また東京湾ではDOがシロギス卵の貧酸素影響発現閾値を下回る日も年間1日程度存在しており、東京湾では現時点でも酸性化と貧酸素化の複合影響発現リスクが存在していることが示された。

また取得されたデータの解析から、沿岸域におけるDO、pH、 Ω_{ara} の主要変動要因を推定し、特に現在の日本沿岸における主要な酸性化リスクである降水時のpH短期低下現象の発生機構と、pHの低下幅を抑えるための方法のひとつを明確化した(P57)。これらのことから、本サブテーマは当初の研究目標を上回る成果が得られたと自己評価している。

6. 引用文献

- 1) United States Department of Energy: Handbook of methods for the analysis of the various parameters of the carbon dioxide system in sea water, ver. 2, edited by: Dickson, A. G. and Goyet, C., ORNL/CDIAC-74, 1994.
- 2) Waldbusser, G. G., Hales, B., Langdon, C. J., Haley, B. A., Schrader, P., Brunner, E. L., Gray, M. W., Miller, C. A. and Gimenez, I.: Saturation-state sensitivity of marine bivalve larvae to ocean acidification, *Nature Climate Change*, 5, 273-280, <https://doi.org/10.1038/NCLIMATE2479>, 2015
- 3) 東京湾環境情報センター 東京湾水質連続観測データホームページ <https://www.tbeic.go.jp/MonitoringPost/manual/aboutObservedPoint02.pdf>
- 4) Taguchi, F., Fujiwara, T., Yamada, Y., Fujita, K., and Sugiyama, M.: Alkalinity in coastal seas around Japan, *Bull. Coastal. Oceanography*, 47, 71-75, 2009.
- 5) Ono, T.: Long-term trends of oxygen concentration in the waters in Bank and shelves of the Southern Japan Sea, *Journal of Oceanography*, 77, 659-684, <https://doi.org/10.1007/s10872-021-00599-1>, 2021
- 6) Ishizu, M., Miyazawa, Y., Tsunoda, T. and Ono, T.: Long-term trends in pH in Japanese

- coastal seawater, *Biogeosciences*, 16, 4747-4763, <https://doi.org/10.5194/bg-16-4747-2019>, 2019.
- 7) Onitsuka, T., Takami, H., Muraoka, D., Matsumoto, Y., Nakatsubo, A., Kimura, R., Ono, T. and Nojiri, Y.: Effects of ocean acidification with pCO₂ diurnal fluctuations on survival and larval shell formation of Ezo abalone, *Haliotis discus hannai*, *Marine Environmental Research*, 134, 28-36, <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2017.12.015>, 2018.
- 8) Zhan, Y., Hu, W., Zhang, W., Liu, M., Duan, L., Huang, X., Chang, Y. and Li, C.: The impact of CO₂-driven ocean acidification on early development and calcification in the sea urchin *Strongylocentrotus intermedius*, *Marine Pollution Bulletin*, 112, 291-302, <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.08.003>, 2016.
- 9) 日本財団海洋酸性化適応プロジェクト令和3年度報告書, NPO 法人里海づくり研究会議, 109pp., 2022. <http://fields.canpan.info/report/detail/26846>

II-4 沿岸域における酸性化・貧酸素複合影響の将来予測

国立大学法人北海道大学

大学院地球環境科学研究院
大学院地球環境科学研究院

藤井 賢彦

ベルナルド ローレンス パトリック カセス

[要旨]

将来の日本沿岸域における酸性化・貧酸素化複合影響の発現リスクを評価し、またその対策としての陸域栄養塩負荷削減施策の効果を評価するために、宮古湾北部、柏崎地先海域、東京湾の3つの海域を対象として、pH・溶存酸素変動を再現可能な高解像度沿岸生態系モデルを開発した。気候についてはRCP8.5とRCP2.6の二つのCO₂排出シナリオ、栄養塩負荷量については現在の観測値のまま将来も一定とした場合、将来の栄養塩負荷量を現在から半減させた場合、現在から倍増させた場合の3つの栄養塩シナリオを準備し、この2項目の組み合わせとなる6つの将来シナリオに基づいて、今世紀末までの各海域におけるDO、pH、アラゴナイト飽和度 (Ω_{arag})の経年変化を算出した。

宮古と柏崎では、栄養塩負荷量一定シナリオの元では、今世紀末までにDOがサブテーマ1で得られた沿岸生物の複合影響発現閾値を下回る可能性はないと予測された。一方 Ω_{arag} については、栄養塩負荷量一定かつCO₂排出シナリオがRCP8.5の場合には、今世紀末までにマガキ幼生に対する酸性化影響発現閾値を下回る Ω_{arag} が宮古・柏崎で出現するようになると予測された。CO₂排出シナリオがRCP2.6の場合、今世紀末までに宮古・柏崎の Ω_{arag} がマガキ幼生の酸性化影響発現閾値を下回ることはない。また元々の栄養塩負荷量が低い宮古では、逆に河川からの影響負荷量を倍増させることで、沿岸域表層のpHが増加して、結果的にRCP2.6シナリオ下での今世紀末の貧酸素化を5年分、海洋酸性化を2~4年分遅らせることができることも予測された。

一方東京湾では、すでに現時点においてDOがシロギス卵・仔魚の複合影響発現閾値を下回ることがあることが判っており、栄養塩負荷量一定かつCO₂排出シナリオがRCP8.5の場合には、今後DOがシロギスの複合影響発現閾値を超える日数が急激に増えていくことが予測された。いっぽう、同じRCP8.5を選択した場合でも、栄養塩付加量を現在から半減させることができた場合は、DOがシロギスの複合影響発現閾値を超える日数は経年的に減少していくことが示された。減少の程度は栄養塩負荷量一定でCO₂排出シナリオをRCP2.6シナリオに変更した場合とほぼ同じであり、栄養塩負荷量の大きな東京湾においては、栄養塩付加量の削減が世界的なCO₂排出量の抑制と同程度の効果を、将来の酸性化・貧酸素化複合影響にたいして持つことが定量的に明らかになった。もちろん、複合影響リスクの減少効果が最大となるのはCO₂排出シナリオをRCP2.6とし、さらに栄養塩負荷量を現在から半減させた場合であり、この場合には、2040年までに東京湾においてDOがシロギス卵・仔魚の複合影響発現閾値を下回る日数をゼロにし得ることが示された。

1. 研究開発目的

近年、気候変動が海洋生態系や水産対象種に及ぼす影響が世界中で懸念されている。また、貝類やエビ・カニ類、ウニ類等、炭酸カルシウムの殻や骨格を形成する石灰化生物は、地球温暖化と同じく人為起源CO₂の過剰排出が主要な原因になっている海洋酸性化の影響も受けることが懸念されている。さらに、最近の研究では海水中のDOが長期的に低下する貧酸素化が海洋生物に及ぼす影響も懸念されているが、地球温暖化に伴う水温上昇も貧酸素化の原因の一つとなっている。このように、地球温暖化、海洋酸性化、貧酸素化の間には密接な関係がある^{1,2}。しかし、同時進行しているこれらの現象が海洋生物に及ぼす複合影響は複雑であり、また影響に対する感受性が生物種や成長段階によって大きく異なるため、全貌は明らかになっていない。本サブテーマでは冷水沿岸域、暖水沿岸域それぞれの代表として岩手県宮古湾北部及び新潟県柏崎地先、さらに陸域栄養塩負荷の高い内湾域の代表として東京湾の合計3海域を選定し、各海域のpH、アラゴナイト飽和度 (Ω_{arag}) 及びDOを高解像度海洋物理・生物化学統合モデルを用いて将来予測することで、各海域の沿岸生物に酸性化、貧酸素化の複合影響が発現する時

期の予測を行うことを第一の目的とした。加えて、陸域栄養塩負荷量や海岸地形等の条件を不変とした標準的な将来予測の他に、陸域栄養塩負荷量や海岸地形を仮想的に変動させた、複数シナリオの将来予測を実施することで、地域自治体が陸域栄養塩負荷量や海岸地形を管理することによって、地先沿岸域における酸性化・貧酸素化の複合影響の発現時期をどの程度遅延、あるいは回避させることが出来るか？という問いに対する参考情報を提供することを最終目的として研究を実施した。

2. 研究目標

柏崎、宮古の2地点におけるpH・溶存酸素変動を再現可能な高解像度沿岸生態系モデルを開発し、各海域における将来のpHとD0の変動を、複数の陸源栄養塩負荷量変動シナリオの元で予測し、それぞれの栄養塩シナリオにおいて、2海域のpHとD0が海洋生物の複合影響発現閾値に到達してしまう年代の予測を実施する。この結果を用いて、沿岸各自治体が陸源栄養塩負荷量を適切にコントロールする事で、沿岸生態系の複合影響発現を何年程度遅延、あるいは完全に回避できるかという定量的な情報を提供し、沿岸各自治体の適応計画の策定に資する。

3. 研究開発内容

日本沿岸でも人間活動が盛んで陸域から沿岸への栄養塩をはじめとする物質の流入が顕著な富栄養海域と、そうでない貧栄養海域では今後、講じていくべき対策も異なると予想される。そこで本サブテーマでは前者について代表的な沿岸域として岩手県宮古湾と新潟県柏崎を、後者として日本の代表的な富栄養海域である東京湾を対象とした(図4-1)。なお研究開始当初は対象海域として標準的な冷水沿岸域である宮古湾と標準的な暖水沿岸域である柏崎の2点のみを想定していたが、初年度のキックオフ会合とアドバイザー会合において交わされた、宮古・柏崎地先よりもさらに陸域負荷の大きな東京湾についても複合影響の現状評価と将来予測を行うべきという議論を受けて研究計画の変更を行い、東京湾を追加したものである。

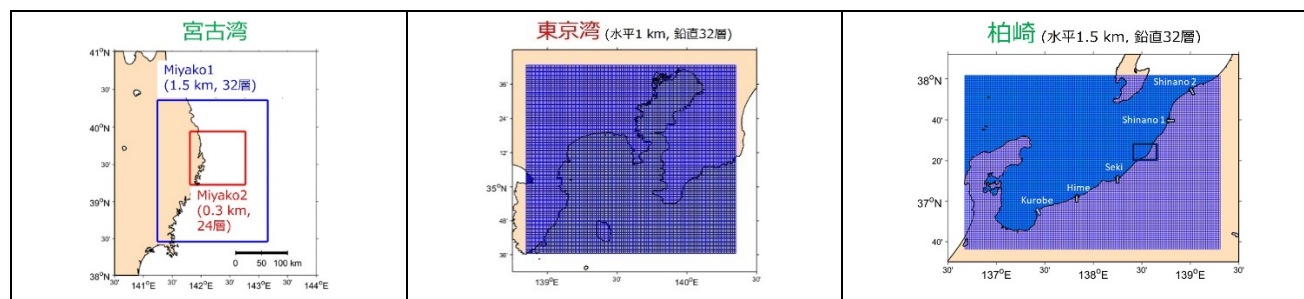


図4-1. 本サブテーマで対象とした宮古湾、東京湾、柏崎のモデル領域。宮古湾では水平解像度1.5 kmのモデルの結果を境界値として水平解像度0.3 kmのモデルを再度駆動してダウンスケールした。その他の海域では水平解像度1 km乃至1.5 kmのモデルを駆動した。

本サブテーマを実施する際の手法として、一貫して数値モデリングを行った。数値モデルは海洋の物理過程を記述する上で広く用いられている領域海洋モデル (Regional Ocean Model System; ROMS) をベースに開発された海洋モデルCROCO³⁾に、海洋生態系モデルPISCES⁴⁾を組み込んだものを用いた。本サブテーマの代表研究者である藤井が北海道忍路湾において本モデルのプロトタイプを構築しており、本研究課題ではこのモデルを宮古湾北部・柏崎・東京湾の3海域に移植して、これらの海域で稼働する高解像度沿岸生態系モデルを開発した。モデルの水平解像度は対象海域の地形や入手できた境界値の空間解像度に応じて、300 m~1.5 kmの範囲で可変とした(図4-1)。

数値モデルを用いて高精度の将来予測を行うためには、まずは現在の状態の再現性を向上させることが重要である。そこで、まず、各海域における物理・生物化学パラメータの気候値を初期値・境界値としてモデルを駆動し(表4-1)、物理・生物化学過程の現在再現を行った。物理パラメータの初期値・境界値は海洋将来予測データセット (FORP⁵⁾)のうち、気象研究所で開発された気候予測モデルMRI-

CGCM3のhistorical (2000~2001)の結果を用いた。合わせて、従来の物理・生物化学統合モデルでは殆ど考慮されていなかった、陸域から河川を経て沿岸域に流入する淡水・物質流入の影響を考慮するために、河川からの淡水、栄養塩濃度、溶存酸素 (DO)濃度、全アルカリ度、DIC濃度等の境界値を与えてモデルを駆動した (表4-2)。炭酸系成分については全アルカリ度、溶存無機炭素濃度 (DIC) をモデル中の変数として計算し、海洋酸性化指標であるpHとアラゴナイト飽和度 (Ω_{arag})の値は、モデル上で得られた水温、塩分、全アルカリ度、溶存無機炭素 (DIC)濃度の値から炭酸系平衡計算ソフトウェアCO₂SYS⁶⁾を用いて見積もった。各海域における現在気候条件下のモデルの計算値がサブテーマ3による各観測点のpH・ Ω_{arag} 、DO観測値と合うように、モデルのパラメータ調整を実施し、各海域の高解像度物理・生物化学統合モデルを完成させた。

表4-1. 現在再現と将来予測の際にモデルに与えた境界値

パラメータ	データセット	出典
水深	The 15 arc-second General Bathymetric Chart of the Oceans (GEBCO)	GEBCO website
潮汐	TPXO Global Tidal Models (TPXO7.0)	8)
海洋物理パラメータ (水温, 塩分, 流速, 水位)	Global Ocean Forecasting System (GOFS) 3.1 Outputs from the HYCOM Consortium for Data Assimilative Modelingまたは Future Ocean Regional Projection (FORP)-JPN02 (MRI-GCM3) (現在 (2000-2001), 将来 (2099-2100); RCP 2.6シナリオ, RCP 8.5シナリオ)	GOFS 3.1 website; 9) 5)
大気強制力 (日射, 気温, 海面気圧, 相対湿度, 降水量, 風速)	GPV/JMA Meso-scale Spectral Model (MSM)	気象庁ウェブサイト
大気CO ₂ 濃度	現在: 370 ppm 将来: 420 ppm (RCP 2.6シナリオ), 900 ppm (RCP 8.5シナリオ)	7)
溶存酸素 (DO)	World Ocean Atlas 2009	10)
栄養塩 (NO ₃ , PO ₄ , Si)		11)
溶存有機炭素 (DOC)		12)
鉄		
全アルカリ度 (TA)	TA = 2319 + 0.5155 T - 0.2367 DO	13)
溶存無機炭素 (DIC)	現在: DIC = 2407 - 12.20 T - 0.7851 DO 将来: Model description and results of CMIP5-20c3m experiments (MIROC-ESM) (2086-2095)の結果を利用	14) 13) 15)

次に、現在再現の際に使用した物理・生物化学パラメータの初期値・気候値を将来予測結果に置換してモデルを駆動し (表4-1)、物理・生物化学過程の将来予測を行った。具体的には、大気強制力と大気中のCO₂分圧、水温、DIC濃度として気候変動に関する政府間パネル (IPCC) 第5次評価報告書 (5th Assessment Report; AR5)の高位参照シナリオ (RCP8.5シナリオ)及び低位参照シナリオ (RCP2.6シナリオ)による今世紀末 (2099~2100)の結果を用いた⁷⁾。

この将来予測モデルを駆動する際、各海域に陸域から付加される栄養塩量の将来予測シナリオを、1)現在の観測値のまま一定、2)現在の観測値から半減、3)現在の観測値から倍増の3種類準備し、栄養塩シナリオごとにそれぞれ将来予測を実施した。最後に、これらの栄養塩負荷シナリオ別のpH・ Ω_{arag} 、DOの将来予測結果と、サブテーマ1で算定された各生物種・各生活史段階別の酸性化・貧酸素化複合影響発現閾値とを比較し、各沿岸域におけるpH・ Ω_{arag} 、DOが酸性化・貧酸素化複合影響発現閾値に到達する年次を栄養塩負荷シナリオ別に算出した。

表4-2. 宮古湾（上左）、柏崎（上右）及び東京湾（下）においてモデルに与えた、河川からの淡水、栄養塩濃度、D0、全アルカリ度、溶存無機炭素濃度（DIC）等の境界値

宮古湾 パラメータ (単位)	値	出典	柏崎 パラメータ (単位)	値	出典
平均河川流量 ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$) (降水により可変)	最寄りの一級河川（北上川） の流量の時間変化を 各河川の流量で按分	16) 本研究	平均河川流量 ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$) (降水により可変)	ダム諸量データベース（鯖石 川）から算出	本研究
塩分		2 本研究	塩分		2 本研究
NO_3 ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)		5.0 17)	NO_3 ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)		10.25 18)
NH_4 ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)		0.5 本研究	NH_4 ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)		2.9 本研究
PO_4 ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)		0.3 17)	PO_4 ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)		2.0 18)
Si ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)		65.0 17)	Si ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)		907.9 18)
溶存酸素 ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)		195 17)	溶存酸素 ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)		200 18)
全アルカリ度, 溶存無機炭素 ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)	410 (関伊川, 津軽石川) 142 (田老川)	18) 本研究	全アルカリ度, 溶存無機炭素 ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)		419.6 18) 本研究

東京湾 パラメータ (単位)	値	出典
平均河川流量 ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$) (降水により可変)	各河川の流量	19) 本研究
塩分	2	本研究
NO_3 ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)	aQ^b (Qは各河川の流量, a, bは各河川固有の定数)	19), 20) 本研究
NH_4 ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)	166.0	21), 本研究
PO_4 ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)	aQ^b (Qは各河川の流量, a, bは各河川固有の定数)	19), 20) 本研究
Si ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)	227.6	21), 本研究
全アルカリ度 ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)	950 (荒川, 江戸川, 中川, 隅田川) 1094 (多摩川, 鶴見川)	21), 22) 本研究
溶存無機炭素 ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)	1050	21), 22)

4. 結果及び考察

4.1. 海洋酸性化・貧酸素化影響の評価・予測結果

4.1.1. 貧栄養海域

貧栄養海域として、宮古と柏崎における海洋酸性化・貧酸素化影響の現在再現と将来予測の結果をそれぞれ図4-2, 図4-3に示す。

宮古では、モデルによる現在再現の結果は観測結果を概ね現実的に再現した。特に、観測で見られた、大雨に伴う河川水の流入増加による塩分の急激な低下と、それに伴う Ω_{arag} の同様の低下はモデルの時空間解像度を高めたことで再現された。一方、D0と Ω_{arag} については、冬季～初春にかけての観測値を過小評価しており、課題を残した。この過小評価の原因がモデルの再現性によるものなのか、春季ブルーム時の測器への生物付着の影響によるものかは現時点では同定できず、今後の課題である。陸域栄養塩負荷量が現在値で一定とした場合の今世紀末相当の将来予測の結果は、RCP 2.6、RCP 8.5いずれのシナリオでも現在よりも水温が上昇し、 Ω_{arag} が大幅に低下することを示している。但し、その変化幅には顕著なCO₂排出シナリオ依存性が見いだされ、RCP 8.5シナリオでは今世紀末までに Ω_{arag} が既存研究によってマガキ (*Crassostrea gigas*) の幼生に酸性化影響が発現する閾値とされている指標値²³⁾まで低下する一方、RCP 2.6シナリオでは Ω_{arag} の低下量が緩和され、今世紀中のマガキの酸性化影響発現閾値への到達は回避できると示唆された。この結果は、パリ協定基準の人為起源CO₂の大幅削減が沿岸環境の保全のうえでも不可欠であることを示している。一方D0の今世紀末相当の将来予測値は、いずれのCO₂排出シナリオでも、サブテーマ1の実験結果から求められたシロギス卵の貧酸素影響発現閾値 (137 $\mu\text{mol/kg}$) を大きく上回り、宮古沿岸では将来も貧酸素化影響は生じないと予測された。

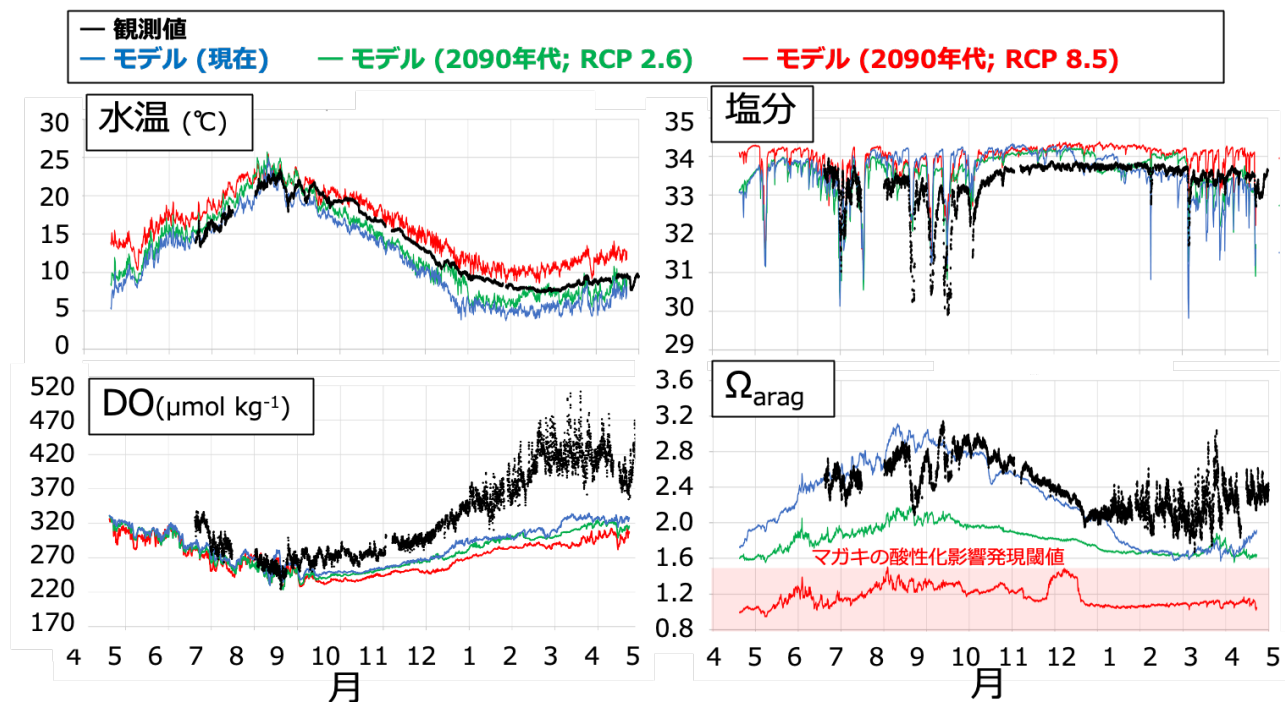


図4-2. 宮古表層における2020年4月からの水温、塩分、DO、 Ω_{arag} の現在再現実験（青線）と、2090年代相当の将来予測実験（緑線：RCP 2.6シナリオ、赤線：RCP 8.5シナリオ。いずれも栄養塩負荷量は現在のまま固定）のモデル計算結果。同時期の観測値を黒点で示す。また Ω_{arag} がマガキ幼生の酸性化影響発現閾値以下となる範囲を赤色で示す。

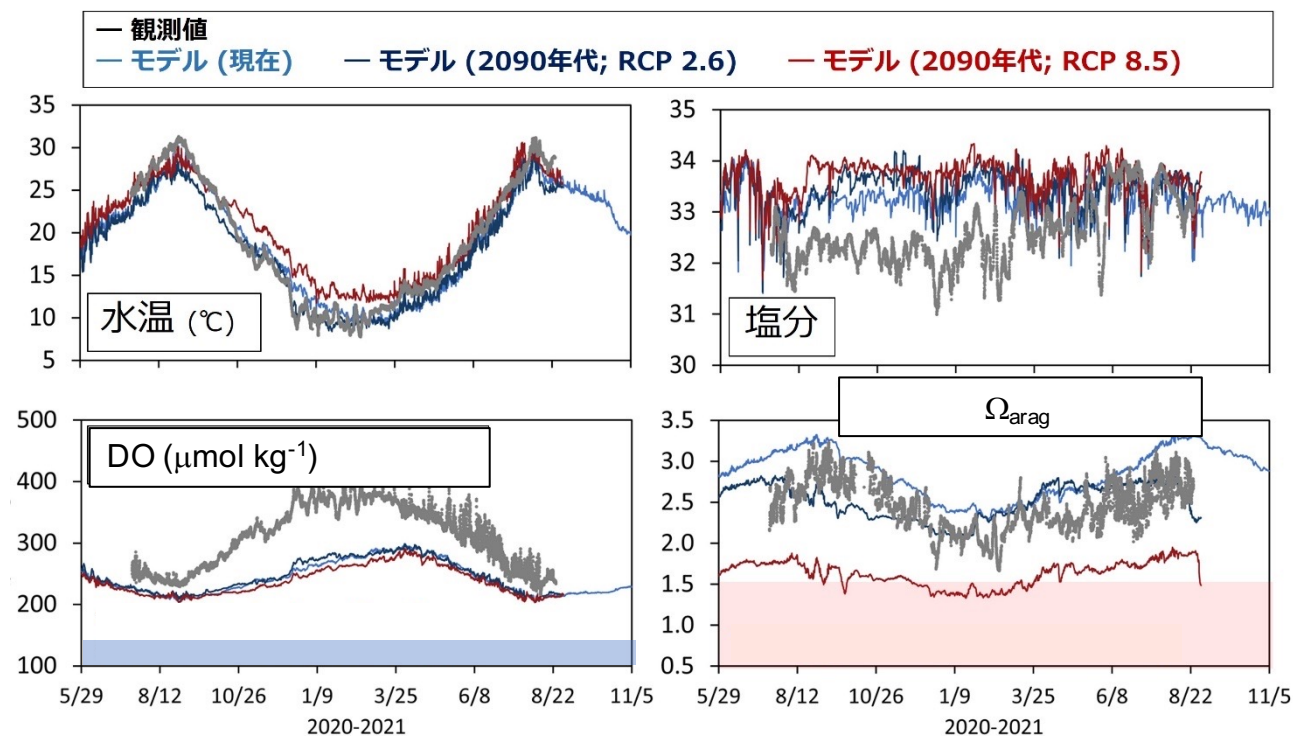


図4-3. 柏崎表層における2020年6月からの水温、塩分、DO、 Ω_{arag} の現在再現実験（薄青線）と、2090年代相当の将来予測実験（濃青線：RCP 2.6シナリオ、茶線：RCP 8.5シナリオ。いずれも栄養塩負荷量は現在のまま固定）のモデル計算結果。同時期の観測値を灰色線で示す。またDOがシロギス卵の複合影響発現閾値以下の範囲を青色、 Ω_{arag} がマガキ幼生の酸性化影響発現閾値以下の範囲を赤色で示す。

柏崎では、モデルによる現在再現の結果は、観測で得られた季節変動を概ね現実的に再現したが、モデル結果は塩分では過大評価、D0では過小評価となった。同海域では海底からの淡水の流入（海底湧水）の影響が考えられ、この過程をモデルで考慮していないことが塩分の過大評価の一因と考えられる。モデルでD0が過小評価となった理由は宮古と同様、その原因がモデルの再現性によるものなのか、春季ブルーム時の測器への生物付着の影響によるものかは現時点では同定できず、今後の課題である。

陸域栄養塩負荷量が現在値で一定とした場合の今世紀末相当の将来予測の結果は、柏崎でもRCP 8.5シナリオ下では Ω_{arag} が大幅に低下し、今世紀末までにマガキの酸性化影響発現閾値に到達することが示された。RCP 2.6では将来における Ω_{arag} 低下量は大幅に緩和され、今世紀中のマガキの酸性化影響発現閾値への到達は回避される。いっぽう陸域栄養塩負荷量一定条件下での今世紀末相当のD0将来予測値は、RCP 2.6、RCP 8.5いずれのシナリオCO₂排出シナリオ下でも、サブテーマ1の実験結果から求められたシロギス卵の貧酸素影響発現閾値（137 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ ）を大きく上回った。このモデルが現在再現実験ではD0を過小評価する傾向にあったことも合わせて考慮すると、実際の今世紀末における柏崎のD0は今回のモデル予測値よりもさらに高くなることが考えられ、従って柏崎沿岸は貧酸素については将来も安全だと結論できる。

4.1.2. 富栄養海域

富栄養海域として、東京湾における現在再現と将来予測の結果を図4-4に示す。宮古と同様、東京湾においても観測結果を概ね現実的に再現できた。一方、観測で見られた大雨に伴う河川水の流入増加による塩分の急激な低下と、塩分、D0濃度、 Ω_{arag} の短時間の顕著な変動はモデルでは過小評価された。

前者については、大雨時の河川水の流入過程をモデルで過小評価している可能性に加え、現下のモデルでは東京湾への淡水流入源として重要な下水処理水や産業排水の考慮が不十分であることが原因として考えられる。後者の理由として、宮古同様、測器への生物付着の影響も考えられる他、モデルが

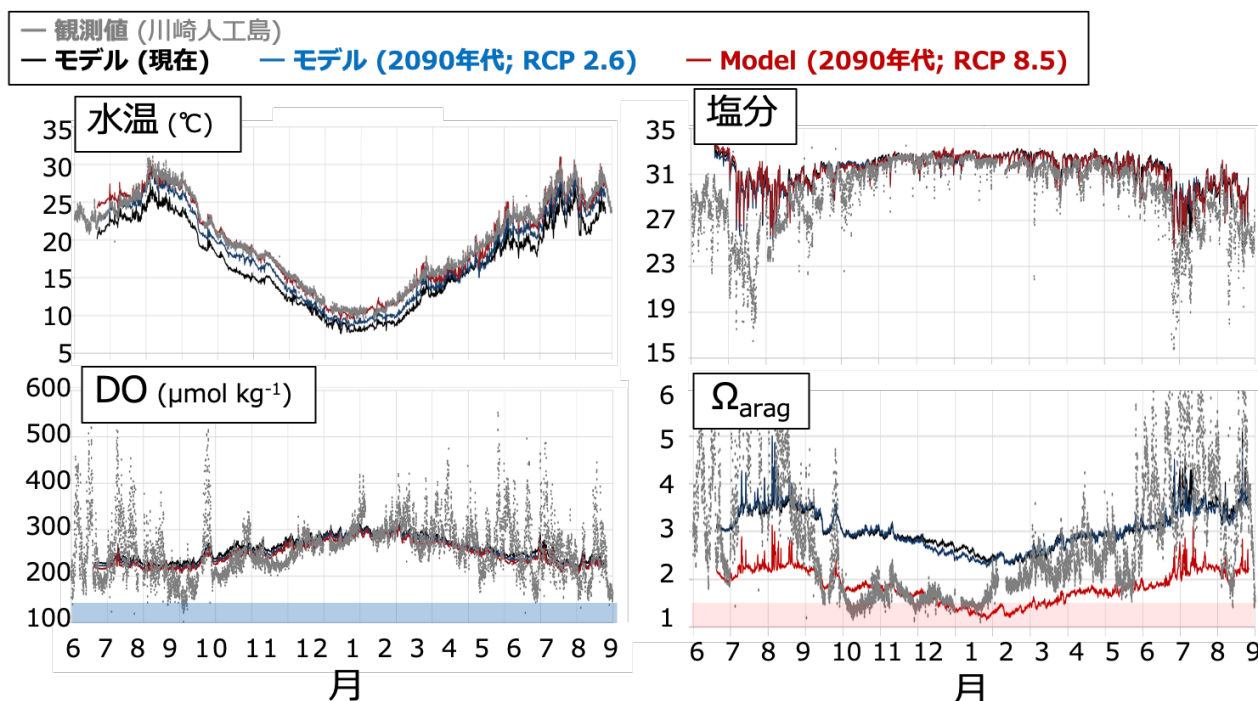


図4-4. 東京湾表層における2020年7月からの水温、塩分、D0、 Ω_{arag} の現在再現実験（黒線）と、2090年代相当の将来予測実験（青線：RCP 2.6シナリオ、茶線：RCP 8.5シナリオ。いずれも陸域栄養塩負荷量は現在のまま固定）のモデル計算結果。同時期の観測値を灰色線で示す。またD0がシロギス卵の複合影響発現閾値以下の範囲を青色、 Ω_{arag} がマガキ幼生の酸性化影響発現閾値以下の範囲を赤色で示す。

生物化学過程の日周変動を過小評価している可能性も考えられ、これについては4.2で議論する。

今世紀末相当の将来予測の結果は、宮古同様、RCP 2.6、RCP 8.5いずれのシナリオでも現在よりも水温が上昇し Ω_{arag} が低下すること、そしてその変化幅には顕著なシナリオ依存性が見出され、RCP 8.5シナリオでは今世紀末までに Ω_{arag} が冬季にマガキ幼生にとって危険な水準に到達する一方、RCP 2.6シナリオでは回避できると示唆された。つまり、パリ協定基準の人為起源CO₂の大幅削減が不可欠であることを示している。一方、DO濃度は表層においては現在と同様、将来も十分高い値が維持され、いずれのシナリオでも深刻な貧酸素化影響は生じないと予測された。

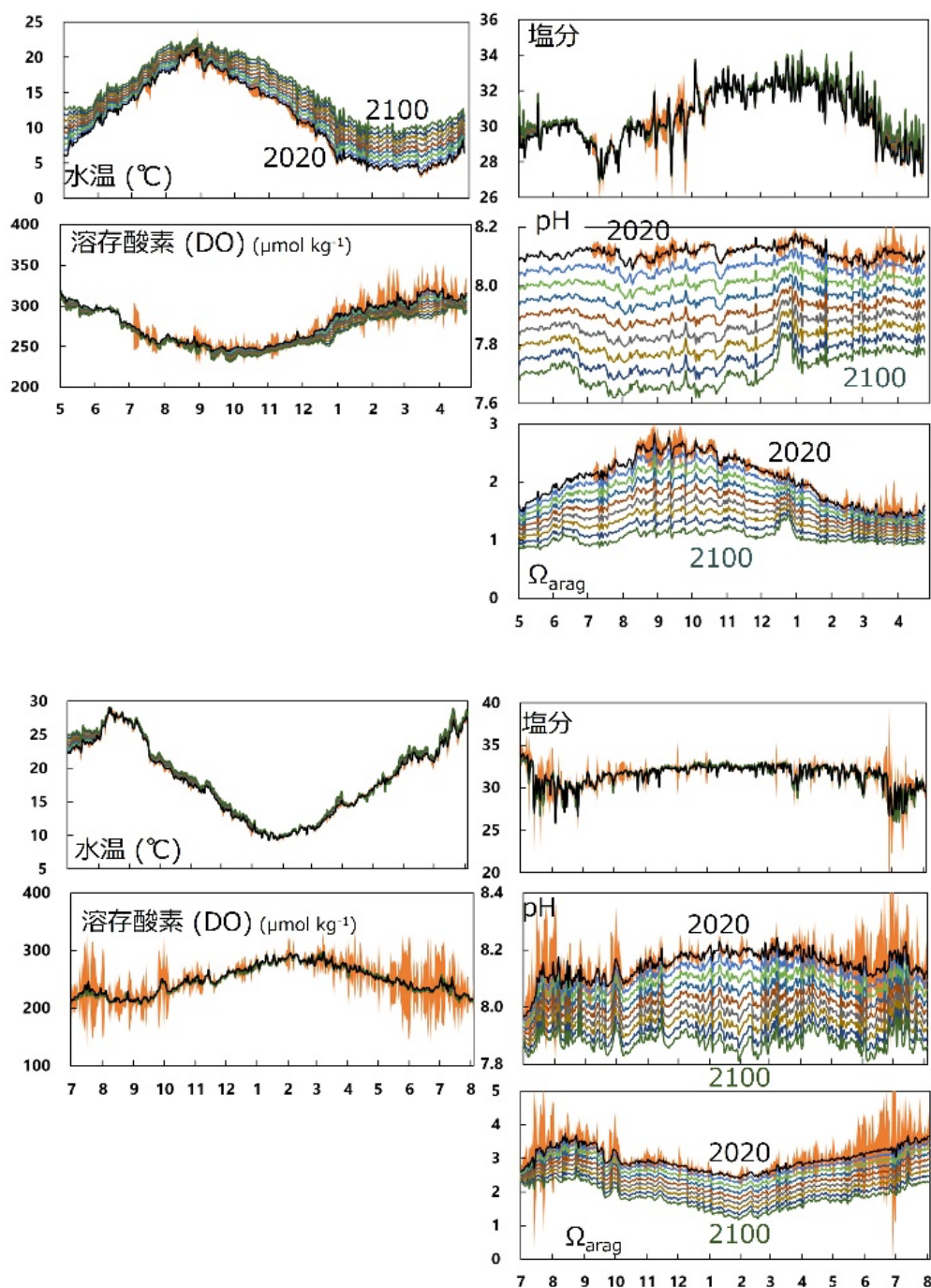


図4-5. 宮古（上）と東京湾（下）の表層における、午前3時の水温、塩分、溶存酸素（DO）濃度、pH、アラゴナイト飽和度（ Ω_{arag} ）の現在再現（黒線）と、2100年までの10年毎のRCP 8.5シナリオによる将来予測のモデル結果。時系列はそれぞれ図4-1，図4-3に準ずる。橙領域はそれぞれのパラメータについて観測で得られた日周変動幅を示す。

4.2. モデルによる短期変動成分の再現・予測

上記のように、モデルでは日周変動や数日スケールの短期変動成分の再現が不十分である可能性が見出された。これは、生物活動は非常に短い時間で変化するがモデルの時間分解能は1時間に設定しており、1時間よりも十分に短い期間に生じる生物活動の影響を考慮できないことが一因と考えられる。現状の計算機資源ではこれ以上の時間分解能の高解像度化は現実的ではない。そこで、本サブテーマでは、特に短期的な塩分変動幅の大きかった宮古と東京湾を対象に、各年代のモデルの計算結果に、現在の観測で検出された10日間以下の短期の変動成分（生の観測値と11日移動平均の偏差）を固定値として加算することで、将来の予測結果に対しても短期の変動成分の効果を反映させることを試みた。

その結果、図4-5に示すように、pHの短期変動成分の振幅は、宮古では約10年分の経年的なpH低下の大きさに匹敵していることが示された。このことは、仮に短期の変動成分の効果を無視して将来予測を行った場合、pHが何らかの生物の酸性化影響発現閾値に到達する年代を10年程度遅く見積もってしまう可能性があることを示している。さらに東京湾では、DO、pH、 Ω_{arag} ともに、今後80年間の経年的な低下の大きさよりも、短期変動の変動幅の方が大きいことも明らかになった。これは、東京湾においては、短期の変動成分を考慮しなかった場合には現実と全くかけ離れた将来予測結果になってしまうこと、また対策立案的な観点からは、将来の経年的な貧酸素化・酸性化の要因を抑えていくことに加えて、現在も生じている短期変動の振幅を抑える方策を講じることで、より効率的にDO、pH、 Ω_{arag} の年間最低値を改善できることを示唆している。

つまり、海洋酸性化・貧酸素化影響を軽減するための対策は海域によって異なり、貧栄養海域では世界的な人為起源CO₂の大幅削減が有効だが、富栄養海域ではそれに加えて、陸域から河川を通じてもたらされる栄養塩流入量を調整して日周変動幅を縮小することも同じくらいに有効であると考えられる。

4.3. 河川栄養塩流入調整実験の結果と考察

世界規模で進行している海洋酸性化と貧酸素化による影響を回避するためには、上述のように緩和策として人為起源CO₂の大幅削減を着実に進めていくことが重要だが、合わせて、それぞれの海域の実情に応じた適応策も有効である。4.2節の解析から、富栄養海域では流入する栄養塩を削減することで、海洋酸性化・貧酸素化影響を改善できることが示唆された。逆に、貧栄養海域では流入する栄養塩を増加することは、一次生産者による光合成を促進し、海洋酸性化・貧酸素化影響の改善に繋がると考えられる。しかし、いずれの海域でも、実際にどのくらいの削減が求められるかを観測から見積もるのは難しい。そこで、そこで、本サブテーマではモデルで与えている河川から沿岸域への栄養塩流入量を変化させる感度実験を行った。

特に短期変動の大きい宮古と東京湾について、RCP8.5とRCP2.6の二つのCO₂排出シナリオに、各海域へ流入する河川の栄養塩濃度を現在の観測値で一定とした場合（コントロール）、半減させた場合（栄養塩半減）、倍増させた場合（栄養塩倍増）の3つの栄養塩シナリオをかけあわせ、都合6通りのシナリオの組み合わせで将来予測計算を実施した。この際、4.2節で議論したようにモデルの出力結果に観測から得られた短期変動成分を加算することで、短期変動成分の効果も含めた将来予測を行った。ただし、サブテーマ3の解析により、沿岸域における10日間以下の短期変動成分の振幅自体も、河川水中の栄養塩濃度に応じて変化することが明らかとなっているため、栄養塩負荷量一定シナリオでは現在観測されている短期変動成分をそのまま加算、栄養塩負荷量半減シナリオでは現在観測されている短期変動成分の振幅を半分に減らして加算、栄養塩負荷量倍増シナリオでは現在観測されている短期変動成分の振幅を倍加して加算することで、陸域栄養塩負荷量の変化が短期変動に与える影響まで考慮したシナリオ別将来予測を実施した。

この結果、東京湾底層では、河川から東京湾に流入する栄養塩の量を半減した場合、DO、pH、 Ω_{arag} の日最低値はいずれも現状維持の場合と比べて明らかに上昇した（図4-6）。つまり、河川から流入する栄養塩の量を調節することで海洋酸性化・貧酸素化影響を軽減できることが定量的に示された。逆に宮古湾表層では、河川から宮古湾に流入する栄養塩の量を倍増した場合、DO濃度、pH、 Ω_{arag} の年平均値

がそれぞれ $0.34 \mu\text{mol kg}^{-1}$ 、 0.002 、 0.01 上昇した。これはRCP2.6シナリオ下での今世紀末の貧酸素化を5年分、海洋酸性化を2~4年分遅らせることに相当する。

ここで得られた各年のDO、pH、 Ω_{arag} の予測結果と、サブテーマ1で得られたシロギス卵・仔魚の24-h LC_{50} 及び24-h LC_5 を比較し、 CO_2 排出シナリオと栄養塩排出シナリオの選択が将来のシロギスに与える

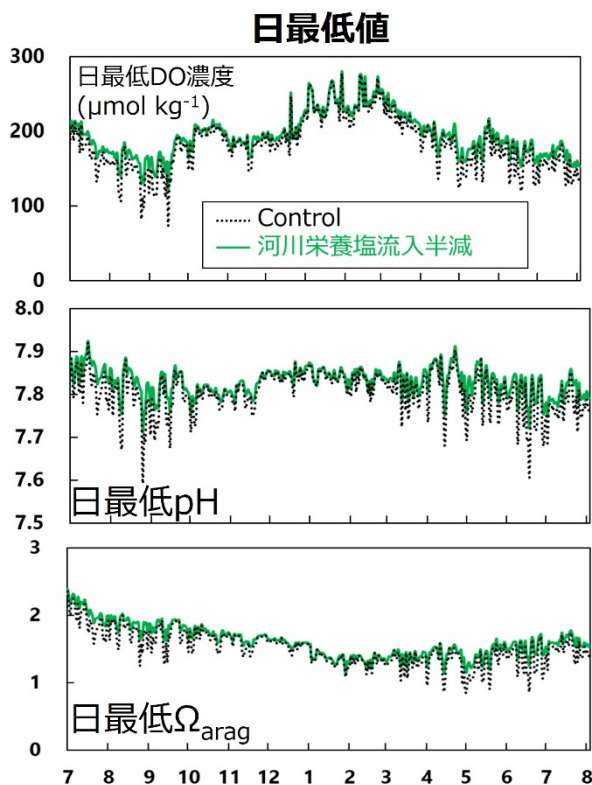


図4-6. 河川から東京湾に流入する栄養塩負荷を現状維持した場合（黒点線）と半減させた場合（緑実線）の、7月から翌年8月までのDO濃度、pH、 Ω_{arag} の日最低値。

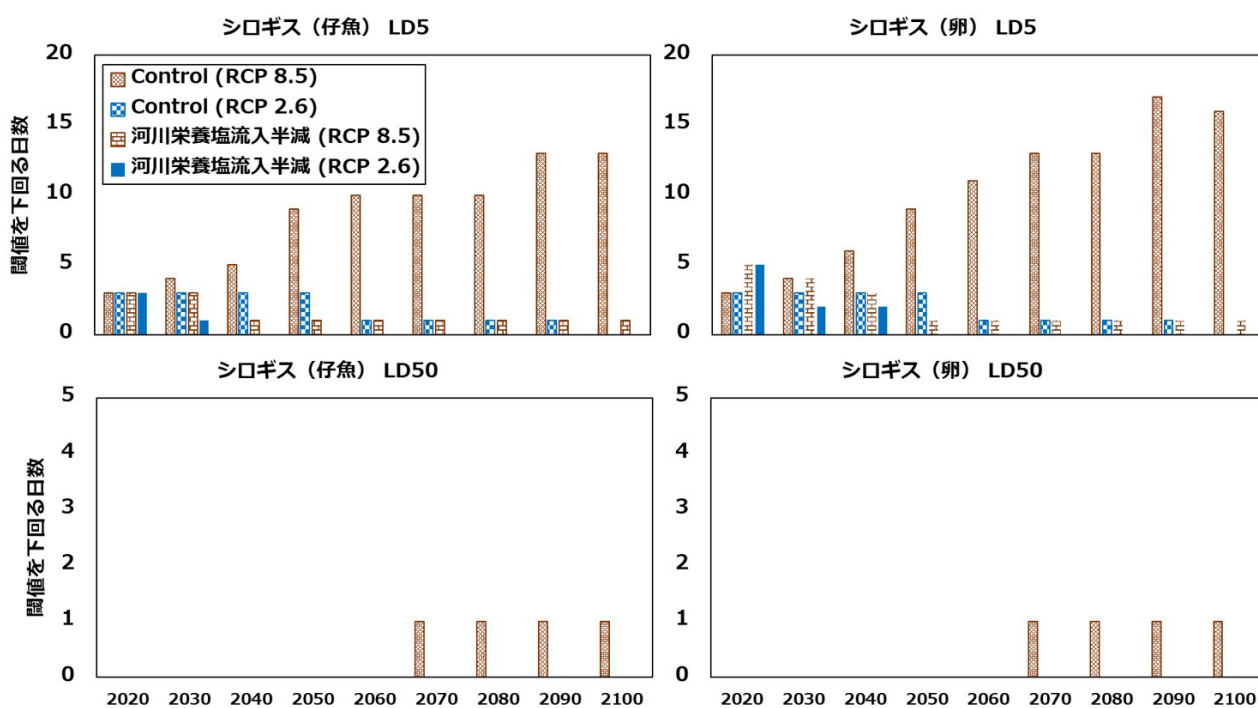


図4-7. 複数の CO_2 排出シナリオ及び栄養塩負荷量シナリオ別に算出された、将来の東京湾底層におけるDOがシロギスの仔魚（左）及び卵（右）の24h- LD_5 （上）及び24h- LD_{50} （下）を下回る日数の将来予測結果

酸性化・貧酸素化複合リスクの変化を評価した。サブテーマ3の観測により明らかになったように、東京湾では既に現在の時点でD0がシロギス卵の24-h LC₅₀を下回る期間が存在するため、リスク評価は将来の東京湾における、D0がシロギス卵の24-h LC₅₀及び24-h LC₅を下回る年間日数の経年変化を、シナリオ別に算出することで生物影響への効果を評価した。

東京湾底層におけるD0閾値超過日数のシナリオ別将来予測結果を図4-7に示す。標準実験(control)では、RCP 8.5シナリオでは海洋酸性化・貧酸素化の進行と共に、閾値を下回る日数が増加するが、RCP 2.6シナリオではその影響が大幅に回避され、ここでも緩和策(人為起源CO₂の削減)の必要性が示された。なお、閾値を下回る時期の大半はシロギス産卵期(6/1~9/30)に集中している(RCP 8.5シナリオでは92%以上、2.6シナリオでは100%)ことから、シロギスの初期成長段階への深刻な複合影響を回避するためには、より迅速な対策が求められる。

一方で、同じRCP8.5シナリオ下においても、栄養塩負荷量を半減させることで、将来のD0閾値超過日数をRCP2.6-controlシナリオと同程度まで低下できることも示された。これは、東京湾のように栄養塩負荷量が大きい内湾域では、栄養塩負荷量の削減もまた、世界的なCO₂削減と同程度の複合影響発現抑制効果を持つことを意味している。世界的なCO₂削減と栄養塩付加量の削減を同時に行ったRCP2.6-栄養塩半減シナリオでは複合影響発現の抑制効果はさらに高く、2050年までにはD0がシロギス卵・仔魚の24-h LC₅を下回る日数をゼロにし得ることが示された。これは、内湾における栄養塩負荷量抑制施策が将来の酸性化・貧酸素化複合影響の発現リスクを低減させる効果を定量的に評価した、世界初の成果である。

5. 研究目標の達成状況

当初目標である柏崎・宮古の2海域に、高栄養塩負荷海域である東京湾も加えた3海域に対して、pH・溶存酸素変動を再現可能な高解像度沿岸生態系モデルを開発し、複数のCO₂シナリオと栄養塩負荷量シナリオの元で、各海域における将来のpHとD0の変動予測を実施した(P64-66)。この結果、高栄養塩負荷海域である東京湾では、栄養塩負荷量を現在から半減させることで、将来のCO₂排出量をRCP8.5からRCP2.6に引き下げたのとほぼ同程度の酸性化・貧酸素化複合影響発現リスク抑制効果を期待できることを定量的に示した(P68)。また低栄養塩負荷量海域である柏崎と宮古では、逆に栄養塩負荷量を増加させることで酸性化・貧酸素化複合影響の発現タイミングを数年程度遅らせることが可能であることが示された。以上の結果は、沿岸各自治体が陸源栄養塩負荷量を適切にコントロールする事で、沿岸生態系の複合影響発現を何年程度遅延、あるいは完全に回避できるかという問いに対する定量的な情報を提供するものであり、当初の研究目標を達成できたと考えている。

6. 引用文献

- 1) Fujii, M., Takao, S., Yamaka, T., Akamatsu, T., Fujita, Y., Wakita, M., Yamamoto, A., and Ono, T. (2021) Continuous monitoring and future projection of ocean warming, acidification, and deoxygenation on the subarctic coast of Hokkaido, Japan, *Front. Mar. Sci.*, 8, 590020
- 2) 藤井賢彦, 高尾 信太郎, 山家 拓人, 赤松 知音, 藤田 大和, 脇田 昌英, 山本 彬友, 小埜 恒夫 (2021) 北海道沿岸域における地球温暖化・海洋温暖化・貧酸素化指標の連続モニタリングと将来予測シミュレーション, *月刊海洋*, 53(6), 318-331.
- 3) Jullien, S., Caillaud, M., Benshila, R., Bordoais, L., Cambon, G., Dumas, F., Le Gentil, S., Lemarié, F., Marchesiello, P., and Theetten, S. (2022) Croco Tutorials Release 1.1, 2019, available at: <https://data-croco.ifremer.fr/DOC/tutos-v1.1.pdf>, last access: 1 November 2022
- 4) Aumont, O., Maier-Reimer, E., Blain, S., and Monfray, P. (2003) An ecosystem model of the global ocean including Fe, Si, P Colimitations. *Glob. Biogeochem. Cycles*, 17(2), 1-

- 26.
- 5) Nishikawa, S., Wakamatsu, T., Ishizaki, H., Sakamoto, K., Tanaka, Y., Tsujino, H., Yamanaka, G., Kamachi, M., and Ishikawa, Y. (2021) Development of high-resolution future ocean regional projection datasets for coastal applications in Japan, *Progress in Earth and Planetary Science*, 8, 7 doi: 10.1186/s40645-020-00399-z
- 6) Pierrot, D., Lewis, E., and Wallace, D. W. R. (2006) MS Excel program developed for CO₂ system calculations. ORNL/CDIAC-105a. Oak Ridge, TN: Carbon Dioxide Information Analysis Center, Oak Ridge National Laboratory, doi:10.3334/CDIAC/otg.CO2SYS_XLS_CDIAC105a
- 7) Van Vuuren, D., Edmonds, J., Kainuma, M., Riahi, K., Thomson, A., Hibbard, K., Hurtt, G., Kram, T., Krey, V., Lamarque, J-F., Masui, T., Meinshausen, M., Nakicenovic, N., Smith, S., Rose, S. (2011) The representative concentration pathways: an overview. *Climatic Change* 109:5-3.
- 8) Egbert, G. D., and Erofeeva S. Y. (2002) Efficient inverse modeling of barotropic ocean tides, *J. Atmos. Oceanic Technol.*, 19, 183-204.
- 9) Tsujino, H., Nakano, H., Sakamoto, K., Urakawa, S., Hirabara, M., Ishizaki, H., and Yamanaka, G. (2017) Reference manual for the Meteorological Research Institute Community Ocean Model version 4 (MRI.COMv4). Technical Reports of the MRI, 80, doi:10.11483/mritechrepo.80
- 10) Garcia, H. E., Locarnini, R. A., Boyer, T. P., Antonov, J. I., Baranova, O. K., M. M. Zweng, and Johnson, D. R. (2010a) World Ocean Atlas 2009, Volume 3: Dissolved Oxygen, Apparent Oxygen Utilization, and Oxygen Saturation. S, edited by: Levitus, S., NOAA Atlas NESDIS 70, U.S. Government Printing Office, Washington, D.C., 344pp.
- 11) Garcia, H. E., Locarnini, R. A., Boyer, T. P., Antonov, J. I., Zweng, M. M., Baranova, O. K., and Johnson, D. R. (2010b) World Ocean Atlas 2009, Volume 4: Nutrients (phosphate, nitrate, silicate), edited by: Levitus, S., NOAA Atlas NESDIS 71, U.S. Government Printing Office, Washington, D.C., 398pp.
- 12) Aumont, O., and L. Bopp (2006) Globalizing results from ocean in situ iron fertilization studies, *Global Biogeochem. Cycles* 20, GB2017. doi: 10.1029/2005GB002591
- 13) Watanabe, Y. W., Li, B. F., Yamasaki, R., Yunoki, S., Imai, K., Hosoda, S., and Nakano, Y. (2020) Spatiotemporal changes of ocean carbon species in the western North Pacific using parameterization technique, *J. Oceanogr.*, 76(2), 155-167.
- 14) Lewis, E., and Wallace, D., and Allison, L. J. (1998) Program developed for CO₂ system calculations, ORNL/CDIAC-105, Oak Ridge Natl. Lab, 33pp, doi:10.2172/639712.
- 15) Watanabe, S., Hajima, T., Sudo, K., Nagashima, T., Takemura, T., Okajima, H., Nozawa, T., Kawase, H., Abe, M., Yokohata, T., Ise, T., Sato, H., Kato, E., Takata, K., Emori, S., and Kawamiya, M. (2011) MIROC-ESM 2010: model description and basic results of CMIP5-20C3M experiments, *Geosci. Model Dev.*, 4(4), 845-872, doi:10.5194/gmd-4-845-2011.
- 16) 岡田 知也, 丸谷 靖幸, 中山 恵介, 井芹 絵里奈 (2014) 宮古湾における津波後のアマモ場の復元に関する検討, *土木学会論文集B2(海岸工学)*, 70(2), 1186-1190.
- 17) 水産庁漁港漁場整備部, 林野庁森林整備部, 国土交通省河川局 (2004)
- 18) 小林 純 (1961) 日本の河川の平均水質とその特徴に関する研究, *農学研究*, 48(2), 63-106.
- 19) 流量年報2005
- 20) 坂井 文子, 二瓶 泰雄, 江原 圭介, 臼田 美穂, 重田 京助, 大塚 慧 (2008) 江戸川・荒川・多摩川・中川における出水時栄養塩・COD負荷特性, *水工学論文集*, 52, 1117-1122.
- 21) Kubo, A., M., Yamamoto-Kawai, and J. Kanda (2015) Seasonal variations in concentration and lability of dissolved organic carbon in Tokyo Bay, *Biogeosciences*, 12, 269-279.

- 22) Yamamoto-Kawai, M., Kawamura, N., Ono, T., Kosugi, N., Kubo, A., Ishii, M., and Kanda, J. (2015). Calcium carbonate saturation and ocean acidification in Tokyo Bay, Japan. *J. Oceanogr.* 71, 427-439. doi: 10.1007/s10872-015-0302-8
- 23) Waldbusser, G. G., Hales, B., Langdon, C. J., Haley, B. A., Schrader, P., Brunner, E. L., Gray, M. W., Miller, C. A. and Gimenez, I. (2015) Saturation-state sensitivity of marine bivalve larvae to ocean acidification, *Nature Climate Change*, 5, 273-280, <https://doi.org/10.1038/NCLIMATE2479>.

Ⅲ. 研究成果の発表状況の詳細

(1) 誌上発表

<査読付き論文>

【サブテーマ1】

- 1) M. Yorifuji, M. Hayashi and T. Ono: Science of the Total Environment, in review (2023), Interactive Effects of Ocean Deoxygenation and Acidification on a Coastal Fish *Sillago japonica* in Early Life Stages (IF: 10.7)

【サブテーマ2】

- 1) A. Iguchi, M. Hayashi, M. Yorifuji, M. Nishijima, K. Gibu, T. Kunishima, Bell T, A. Suzuki, T. Ono: Science of the Total Environment, in review (2023) Whole transcriptome analysis of demersal fish eggs reveals complex responses to ocean deoxygenation and acidification (IF: 10.7)

【サブテーマ3】

- 1) T. Ono: Journal of Oceanography, 77, 659-684 (2021) Long-term trends of oxygen concentration in the waters in bank and shelves of the Southern Japan Sea. (IF: 2.0)
- 2) T. Ono, D. Muraoka, M. Hayashi, M. Yorifuji, A. Dazai, S. Omoto, T. Tanaka, T. Okamura, G. Onitsuka, K. Sudo, M. Fujii, R. Hamanoue and M. Wakita: Biogeoscience, in review (2023), Short-term variation of pH in seawaters around Japan coastal areas: Its characteristics and forcings. (IF:5.1)

【サブテーマ4】

- 1) M. Fujii, S. Takao, T. Yamaka, T. Akamatsu, Y. Fujita, M. Wakita, A. Yamamoto and T. Ono: Frontiers in Marine Science, 8, 590020 (2021) Continuous monitoring and future projection of ocean warming, acidification, and deoxygenation on the subarctic coast of Hokkaido, Japan. (IF:5.2)
- 2) M. Fujii, R. Hamanoue, L. P. C. Bernardo, T. Ono, A. Dazai, S. Oomoto, M. Wakita and T. Tanaka: Biogeoscience, in review (2023) Observed and projected impacts of coastal warming, acidification, and deoxygenation on Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) farming: A case study in the Hinase Area, Okayama Prefecture and Shizugawa Bay, Miyagi Prefecture, Japan. (IF: 5.1)
- 3) L. P. C. Bernardo, M. Fujii and T. Ono: Frontiers in Marine Science, in review (2023) Development of a high-resolution marine ecosystem model for predicting the combined impacts of ocean acidification and hypoxia. (IF: 5.2)

<その他誌上発表 (査読なし) >

【サブテーマ1】

特に記載すべき事項はない。

【サブテーマ2】

特に記載すべき事項はない。

【サブテーマ3】

- 1) 小埜恒夫、藤井賢彦：環境と測定技術, 48(10), 3-8 (2021) 日本沿岸域のpH連続観測網 -海

洋酸性化に備えるために-

- 2) 小埜恒夫、村岡大祐、林正裕、依藤実樹子、鈴木淳、井口亮、藤井賢彦、Lawrence Patrick Bernardo:沿岸海洋研究, 60, 85-88 (2022) 沿岸域における海洋酸性化と貧酸素化の複合影響評価.

【サブテーマ4】

- 1) M. Fujii: Ocean warming: The impacts on marine ecosystems and human societies in Japanese coasts. In: Li, Y. and Namikawa, T. (Eds.), In the Era of Big Change: Essays about Japanese Small-Scale Fisheries. TBTI Global Publication Series, St. John's, NL, Canada (2020).
- 2) 藤井 賢彦: 沿岸域学会誌, 32(4), 15-19 (2020) 海洋酸性化.
- 3) 藤井 賢彦: 水産工学, 56(3), 191-195 (2020) 地球温暖化・海洋酸性化が日本沿岸の海洋生態系や社会に及ぼす影響.
- 4) 藤井 賢彦, 高尾 信太郎, 山家 拓人, 赤松 知音, 藤田 大和, 脇田 昌英, 山本 彬友, 小埜恒夫: 月刊海洋, 53(6), 318-331 (2021) 北海道沿岸域における地球温暖化・海洋温暖化・貧酸素化指標の連続モニタリングと将来予測シミュレーション.
- 5) 藤井 賢彦, 芳村 毅, 小埜 恒夫: 月刊海洋, 53(6), 299-303 (2021) 海洋酸性化・貧酸素化・地球温暖化の海洋生態系への影響評価.

(2) 口頭発表 (学会等)

【サブテーマ1】

- 1) 依藤実樹子, 林正裕, 塩野谷勝, 川田実季, 渡邊裕介, 小埜恒夫: 令和3年度日本水産学会秋季大会 (2021) 「海洋酸性化と貧酸素化がシロギス卵・仔魚に与える影響」
- 2) Makiko Yorifuji, Masahiro Hayashi, Masaru Shionoya, Miki Kawata, Yusuke Watanabe, Tsuneo Ono: PICES 2021 (2021) Interactive effects of ocean deoxygenation and acidification on demersal fish in early life stages.
- 3) Yorifuji, M., M. Hayashi, T. Ono: 5th International Symposium on the Ocean in High CO2 World (2022) Experimental assessment of Ocean Acidification combined with Deoxygenation using a copepod *Tigriopus japonicus*.

【サブテーマ2】

- 1) 井口亮, 林正裕, 依藤実樹子, 西島美由紀, 鈴木淳, 村岡大祐, 高見秀輝, 小埜恒夫: 令和3年度日本水産学会春季大会 (2021) 「熱帯性魚のストレス応答の分子基盤の解明—アマノガワテンジクダイをモデルとして—」
- 2) 井口亮, 林正裕, 依藤実樹子, 西島美由紀, 鈴木淳, 國島大河, 小埜恒夫: 第21回マリンバイオテクノロジー学会大会 (2021) 「海洋酸性化と貧酸素化がシロギス卵に与える影響評価—網羅的遺伝子発現解析によるアプローチ—」
- 3) Akira Iguchi, Masahiro Hayashi, Makiko Yorifuji, Miyuki Nishijima, Taiga Kunishima, Tomoko Bell, Atsushi Suzuki and Tsuneo Ono: PICES 2021 (2021) Evaluation of the effects of ocean acidification and deoxygenation on eggs of Japanese whiting, *Sillago japonica*: An approach based on comprehensive gene expression analysis.
- 4) 井口亮, 林正裕, 依藤実樹子, 西島美由紀, 儀武滉大, 鈴木淳, 國島大河, 小埜恒夫: 2023年度日本水産学会春季大会 (2023) 「海洋酸性化と貧酸素化がベントスの初期生活史に与える影響評価—網羅的遺伝子発現解析によるアプローチ—」

【サブテーマ3】

- 1) 小埜恒夫：第6回沿岸生態系の評価・予測に関するワークショップ（2020）「沿岸域の酸性化と貧酸素化：BEACHプロジェクト」
- 2) 小埜恒夫：日本惑星地球化学連合2021年会（2021）「日本海南部陸棚域における溶存酸素濃度の減少傾向」
- 3) 小埜恒夫：2021年度沿岸環境関連学会連絡協議会シンポジウム（2021）「沿岸域における海洋酸性化と貧酸素化の複合影響評価」
- 4) 小埜恒夫，村岡大祐，林正裕，依藤実樹子，太齋彰浩，片尾沙凡，田中丈裕，藤井賢彦，濱野上龍志，脇田昌英：2021年度日本海洋学会秋季大会（2021）「沿岸浅海域におけるpH動態の海域間比較」
- 5) 小埜恒夫：第7回沿岸生態系の評価・予測に関するワークショップ（2021）「宮古・柏崎地先における長期・短期の pH 変動要因」
- 6) 小埜恒夫：沿岸環境関連学会連絡協議会・日本財団合同シンポジウム（2022）「我が国沿岸域における海洋酸性化・貧酸素化の現状評価と対策の考え方」
- 7) T. Ono, D. Muraoka, M. Hayashi, M. Yorifuji, A. Dazai, S. Katao, S. Omoto, T. Tanaka, M. Fujii, R. Hamanoue and M. Wakita: 5th International Symposium on the Ocean in High CO₂ World (2022) Short-term variation of pH in seawaters around Japan coastal areas: Its characteristics and forcings.
- 8) 小埜恒夫：日本学術会議地球惑星科学委員会地球・人間圏分科会、地球惑星科学委員会 SCOR 分科会公開シンポジウム（2022）「沿岸域の富栄養化と酸性化」
- 9) 小埜恒夫，村岡大祐，鬼塚剛，岡村知海，須藤健二，林正裕，依藤実樹子，太齋彰浩，大本茂之，田中丈裕，藤井賢彦，脇田昌英：日本惑星地球化学連合2023年会(2023)「日本沿岸におけるpHおよび Ω_{ara} の短期変動振幅の決定要因」（発表受理済）

【サブテーマ4】

- 1) 藤井賢彦，高尾信太郎，山家拓人，赤松知音，藤田大和，脇田昌英，山本彬友，小埜恒夫：日本海洋学会2020年度秋季大会（2020）「北海道沿岸域における地球温暖化・海洋酸性化・貧酸素化指標の連続モニタリングと将来予測シミュレーション」
- 2) Lawrence Patrick C. Bernardo, 藤井賢彦，小埜恒夫：第6回沿岸生態系の評価・予測に関するワークショップ（2020）「沿岸生態系の貧酸素化・海洋酸性化影響の評価・予測のための陸域—海域統合モデルの開発」
- 3) 藤田大和，藤井賢彦：第6回沿岸生態系の評価・予測に関するワークショップ（2020）「海洋酸性化がキタムラサキウニ幼生へ及ぼす影響」
- 4) 藤井賢彦，高尾信太郎，山家拓人，赤松知音，藤田大和，脇田昌英，山本彬友，小埜恒夫：日本地球惑星科学連合2021年大会（2021）「北海道沿岸域における地球温暖化・海洋酸性化・貧酸素化指標の連続モニタリングと将来予測シミュレーション」
- 5) Lawrence Patrick C. Bernardo, 藤井賢彦，小埜恒夫：水産海洋学会2021年会（2021）「高解像度海洋生態系モデルを用いた海洋酸性化・貧酸素化複合影響予測」
- 6) 藤井賢彦：日本太陽エネルギー学会太陽光発電部会第32回セミナー 気象・環境セミナー（2021）「気候変動と海洋生物資源」
- 7) Masahiko Fujii, Shintaro Takao, Takuto Yamaka, Tomoo Akamatsu, Yamato Fujita, Masahide Wakita, Akitomo Yamamoto and Tsuneo Ono: PICES 2021 (2021) Continuous monitoring and future projection of ocean warming, acidification, and deoxygenation on the subarctic coast of Hokkaido, Japan.
- 8) Masahiko Fujii, Shintaro Takao, Takuto Yamaka, Tomoo Akamatsu, Yamato Fujita, Masahide Wakita, Akitomo Yamamoto and Tsuneo Ono: IMBeR West Pacific Symposium 2021 “Changing West Pacific Ocean: Science and Sustainability” (2021) Continuous monitoring and future projection of ocean warming, acidification, and deoxygenation

on the subarctic coast of Hokkaido, Japan.

- 9) M. Fujii, S. Takao, T. Yamaka, T. Akamatsu, Y. Fujita, M. Wakita, A. Yamamoto and T. Ono: Ocean Sciences Meeting 2022 (2022) Continuous monitoring and future projection of ocean warming, acidification, and deoxygenation on the subarctic coast of Hokkaido, Japan.
- 10) 藤井賢彦：沿岸環境関連学会連絡協議会・日本財団合同シンポジウム（2022）「世界における地球温暖化・海洋酸性化の現状」
- 11) L. P. C. Bernardo, 藤井賢彦, 小埜恒夫: 日本地球惑星科学連合2022年大会（2022）Using a high-resolution marine ecosystem model predicting the combined impacts of ocean acidification and deoxygenation.
- 12) L. P. C. Bernardo, M. Fujii, A. Yamamoto and T. Ono: 5th International Symposium on the Ocean in High CO2 World (2022) Comparative Marine Ecosystem Modelling to Assess the Impacts of Ocean Acidification and Hypoxia in Miyako Bay and Tokyo Bay, Japan.
- 13) L. P. C. Bernardo, 藤井賢彦, 小埜恒夫: 2022年度日本海洋学会秋季大会(2022) 「東京湾における海洋酸性化と貧酸素化の影響評価のための海洋生態系モデリング」
- 14) M. Fujii, L. P. C. Bernardo and T. Ono: 4th Ocean Science Symposium on Western Pacific Ocean Circulation and Climate (2022) Comparative marine ecosystem modelling to assess the impacts of ocean acidification and hypoxia in Miyako Bay and Tokyo Bay, Japan.

(3) 「国民との科学・技術対話」の実施

【サブテーマ1】

特に記載すべき事項はない。

【サブテーマ2】

- 1) 沖縄県立向陽高校・2020年1年理数科SSH特別授業「地球規模・地域規模の環境変化から読み解く海洋生物に迫る危機」（2020年12月8日、聴講者約76名）
- 2) 沖縄県立向陽高校 2021年1年理数科SSH特別授業「海洋生物に迫る危機を地球規模・地域規模の環境変化から読み解けるか」（2022年1月18日、聴講者約85名）
- 3) 沖縄県立向陽高校 2022年1年理数科SSH特別授業「海洋生物に迫る危機を地球規模・地域規模の環境変化から読み解けるか」（2023年1月12日、聴講者約80名）

【サブテーマ3】

- 1) 里海カンファレンス2021in南三陸における講演「三陸海域における酸性化と貧酸素化の現状」（2021年11月6日、聴講者約100名）
- 2) 北海道全道漁協漁場環境保全研修会における講演「北海道沿岸域における温暖化と酸性化の影響」（2022年2月14日、聴講者約200名）
- 3) 瀬戸内海環境保全協会公開講座「日本の沿岸域における酸性化の特性と、私たちにできること」（2022年5月26日、聴講者114名）
- 4) JF全漁連・JF全漁青連 海洋環境の変化等に関する研修会「我が国沿岸域における酸性化・貧酸素化の現状評価と対策の考え方」（2022年9月9日、聴講者約500名）

【サブテーマ4】

- 1) 北海道大学高等教育推進機構科学技術コミュニケーション教育研究部門(CoSTEP)サイエンス・カフェ「描け!ぼくらの「海の未来予想図」」（主催：北海道大学、2020年10月15日、web開催、観客約420名）

- 2) 北海道インターナショナルスクール特別授業「Research on Global Environmental Issues」
(2021年5月11日、聴講者約20名)
- 3) 第13回環境問題に関する市民勉強会「地球温暖化・海洋酸性化・貧酸素化が脅かす海の環境」
(2021年9月28日)
- 4) 里海カンファレンス2021in南三陸における講演「地球温暖化・海洋酸性化が脅かす海の環境」
(2021年11月6日、聴講者約100名)
- 5) 大分県姫島村立姫島中学校特別授業「海の環境問題について学ぶ」(2023年2月10日、聴講者約40名)

(4) マスコミ等への公表・報道等

【サブテーマ1】

- 1) NHK(2022年8月14日 サイエンスZERO「生き物のからだ溶ける?『海洋酸性化』の脅威」)
- 2) NHK(2023年3月2日 コズミックフロント「海洋酸性化 静かに迫る危機」)

【サブテーマ2】

- 1) NHK(2022年8月14日 サイエンスZERO「生き物のからだ溶ける?『海洋酸性化』の脅威」)
- 2) NHK(2023年3月2日 コズミックフロント「海洋酸性化 静かに迫る危機」)

【サブテーマ3】

特に記載すべき事項はない。

【サブテーマ4】

- 1) プレスリリース：北海道沿岸域の温暖化・酸性化・貧酸素化影響が明らかに ～水産対象種に対する深刻な影響回避には具体的な対策が必要～. 北海道大学・水産研究・教育機構・国立環境研究所・海洋研究開発機構、2021年6月15日公表
- 2) NHK(2022年8月14日 サイエンスZERO「生き物のからだ溶ける?『海洋酸性化』の脅威」)
- 3) NHK(2023年3月2日 コズミックフロント「海洋酸性化 静かに迫る危機」)

(5) 本研究費の研究成果による受賞

本研究を含む研究によりサブテーマ4リーダーの藤井賢彦が日本海洋学会2022年度環境科学賞「地球温暖化と海洋酸性化の複合影響の評価・予測・対策に関する統合的研究の推進および関係する教育啓発・社会活動」を受賞

本研究費を用いた研究論文(サブテーマ3 論文番号1)が日本海洋学会2023年度日高論文賞を受賞(学会より著者に内示済)

(6) その他の成果発表

特に記載すべき事項はない。

IV. 英文Abstract

Biological Effect of Ocean Acidification and Hypoxia

Principal Investigator: Tsuneo ONO

Institution: Japan Fisheries Research and Education Agency, Yokohama, Kanagawa,
221-8529, JAPAN

Tel: +81-45-277-0120 / Fax: +81-45-788-5001

E-mail: ono_tsuneo65@fra.go.jp

Cooperated by: Marine Ecology Research Institute, National Institute of Advanced Industrial
Science and Technology, Hokkaido University

[Abstract]

Key Words: Climate change, Ocean acidification, Ocean deoxygenation, Interactive effect,
Coastal Environment, Future prediction, Adaptation measures

Effects of ocean acidification and deoxygenation on coastal ecosystem were investigated through a synthesized assessment of rearing experiments with whole transcriptome analysis, coastal monitoring, and future projections using ecosystem models. Interactive effects of ocean acidification and deoxygenation were examined by rearing experiments with twenty-five treatments (5 x 5 levels of oxygen and pH). Among the six species investigated, Japanese whiting (*Sillago japonica*) and coastal tigrionus (*Tigriopus japonicus*) showed different tolerances for low oxygen as a function of pH, and both species showed higher oxygen thresholds for deoxygenation hazards than present levels at the pH levels that are expected for coastal regions at the end of this century. These results suggest that we need much stricter regulation of coastal oxygen levels for the protection of future coastal environments. Whole transcriptome analysis was applied to the subject of each rearing experiment. Increased expressions of genes related to glycolytic processes were observed for stressed Japanese whiting eggs, indicating that the activity of the electron transport chain was inhibited under low-oxygen conditions and hence glycolytic processes were activated to produce ATP. Temporal variations of oxygen, pH, and aragonite saturation state (Ω_{ara}) were monitored at Miyako Bay, Kashiwazaki Coast and Tokyo Bay, and annual minimum values of these parameters were compared with the threshold values of acidification and deoxygenation hazards that were obtained from the rearing experiments. It was found that oxygen and Ω_{ara} become lower than the deoxygenation threshold and acidification threshold, respectively, in the present Tokyo Bay. Future prediction made by the high-resolution marine ecosystem model newly developed for these three areas revealed that number of the days with low oxygen under the threshold values will be increase further by the end of this century, if conditions following the RCP8.5 CO₂ scenario persist. On the other hand, results of multi-parameter analysis of the monitoring data suggested us that we can diminish the extent of short-term drawdowns of oxygen and pH in coastal waters by regulating nutrient loadings from terrestrial areas. Model estimates including this process projected that the number of the days with low oxygen under the threshold values in Tokyo Bay will become even lower at the end of the 21st century compared to the present day if we can diminish nutrient loadings into the Bay to 50 % of present values.