

— 総説 —

海洋酸性化が植物プランクトンの動態および物質循環に及ぼす影響*

杉江 恒二^{†**}・芳村 毅[†]

要 旨

海洋酸性化が海洋生物に及ぼす影響に関する研究が近年勢力的に行われている。本総説では、まず、地球史における海水の pH の変遷と現代の海洋酸性化とを対比しながら植物プランクトンの動態について考察した。続いて、海洋酸性化の実験方法および植物プランクトンの生理生態と物質循環に及ぼす影響に関して近年の報告を中心にまとめ、以下の課題を抽出した。(1) 過去の海洋酸性化の研究において亜寒帯や寒帯および外洋性の単離培養株が用いられていないこと、生息域や生活環に基づく実験が行われていないことは、自然環境における海洋酸性化の影響を把握する上での知識の欠如となっている。(2) pH の変化によって鉄と錯形成をする有機配位子の化学形態や 2 価鉄の濃度が変化するため、それらが生態系に及ぼす影響を評価する必要がある。(3) pH の低下により植物プランクトン細胞の有機炭素：リン比は増加する傾向、有機炭素：窒素比はほとんど変化しない傾向にある。一方では、pH の低下が溶存有機物およびケイ素の動態に与える影響には未解明な点が多いため、研究を促進させる必要がある。(4) pH の低下と鉄などの微量元素の利用性との複合作用がシアノバクテリアの窒素固定速度に及ぼす影響を明らかにし、窒素循環過程の理解を深化させる必要がある。

キーワード：海洋酸性化, 珪藻, 円石藻, 窒素固定, 物質循環

1. はじめに

化石燃料の使用, セメントの精製並びに陸域の土地利用形態の変化によって大気中の CO₂ 濃度は上昇している。一部の CO₂ は分圧の差に従い弱アルカリ性である海水に溶解し, 海水に溶けた CO₂ は炭酸塩とホウ酸塩

等の緩衝を受けながら H⁺を放出するため, pH は緩やかに低下する。人類活動による CO₂ の排出は産業革命前から現代までに海水の pH を約 0.1 低下させたといわれている (Doney *et al.*, 2009)。今後, 約 200 年という短期間のうちに化石燃料資源を枯渇させる量の炭素 (~5000 Gt = ~5000 Pg = ~5000 × 10¹⁵ g, 以下 Gt C と表記) を CO₂ として排出すると, 海洋表層の pH は約 8.1 から約 7.3 まで低下すると予想される (Caldeira and Wickett, 2003; Zeebe *et al.*, 2008)。溶解する CO₂ の量と海水の pH との関係性は海洋物理および化学環境に支配されているため正確に算出できるが, pH の低下による海洋生態系並びに漁業や観光資源などの海洋生態系サービスに及ぼす影響に関する科学的知見は乏しいの

* 2010 年 10 月 9 日受理; 2011 年 7 月 14 日受理
著作権: 日本海洋学会, 2011

[†] 〒270-1194 千葉県我孫子市我孫子 1646
(財)電力中央研究所環境科学研究所

** 連絡先著者: 杉江恒二

E-mail: kojisugie@gmail.com

Tel: 04-7182-1181, Fax: 04-7183-2966

が現状である (e.g. Doney *et al.*, 2009; Cooley *et al.*, 2009)。このように人為起源の CO_2 の放出に伴う大気中の CO_2 濃度の増加が海水の pH を低下させている事実 (e.g. Dore *et al.*, 2009; Midorikawa *et al.*, 2010) 並びに生態系サービスに与える影響に対する懸念が海洋酸性化の問題である (Royal Society, 2005)。海洋酸性化は IPCC の第 4 次報告書において重要課題のうちの 1 つとして取り上げられ (Denman *et al.*, 2007), 海水の pH の低下が生態系に及ぼす影響を評価する研究は世界中の研究機関によって進められている (Orr *et al.*, 2009)。また, IPCC 第 5 次報告書に向けた議長意見書においても海洋酸性化は重要なキーワードとして取り上げられており (IPCC, 2009), 海水の pH の低下が海洋生態系に及ぼす影響を把握することは急務の課題である。

一方, 海水の pH が環境の変化と共に変化する現象は, 海洋酸性化がトピックの研究課題となる以前においてもよく知られていた (e.g. Atkins, 1922; Marshall and Orr, 1948; Park *et al.*, 1958)。海水は炭酸塩などによる pH 緩衝能が高いにもかかわらず, 例えば, デンマークの Mariager フィヨルドにおける pH は季節的に約 7.5 から 9.5 まで変動する (Hansen, 2002)。この pH の変動要因を解明するために, 海水中の炭酸塩の挙動に関する理論構築も古くに始まっている (e.g. Henderson and Cohn, 1916; Buch *et al.* 1932)。その後, スクリップス研究所の Andrew G. Dickson 博士やマイアミ大学の Frank J. Millero 博士を中心とした研究グループによって今日まで理論体系を向上させており (Millero *et al.*, 2006), 現代の海洋科学の発展に大きく貢献している。

自然環境における pH の上昇はシアノバクテリアや渦鞭毛藻などの大発生時に観察されており, pH は植物プランクトン群集の遷移において重要な要因と考えられてきた (e.g. Goldman and Shapiro, 1973; Hinga, 1992; Chen and Durbin, 1994; Hansen, 2002)。pH の上昇は 1990 年代中盤まで海産藻類にとって唯一利用可能な溶解無機炭素の化学種と考えられていた分子状の二酸化炭素 (CO_2 (aq)) の濃度を減らすため (cf. Riebesell *et al.*, 1993), 渦鞭毛藻はその他の藻類と比較して CO_2 (aq) を取り込む能力が高い可能性が考えられていた (e.g. Hinga, 1992; Rost *et al.*, 2006)。そこで 1980 年代に炭素同化機構に関する研究が本格的に始まり, 多くの藻類におい

て CO_2 (aq) だけではなく HCO_3^- も利用していることが明らかになってきた (e.g. Badger *et al.*, 1998; Raven, 1997, 2010; 炭素同化機構に関しては 4 章を参照)。一方, 海水の pH の低下が生物に及ぼす影響に関して注目が集まったのは, 大気中に増加する CO_2 を海洋の中深層に溶解させて大気から隔離する技術 (Marchetti, 1977) が現実味を帯びてきた 2000 年頃からである。しかしながら, CO_2 の海洋隔離の研究は主に中深層に生息する動物や底生動物を対象に, 極めて高い濃度の CO_2 に曝露させる研究が主であるため (e.g. Seibel and Walsh, 2001), 本総説では取り扱わない (cf. Fabry *et al.*, 2008)。

本総説では海水の pH の低下が植物プランクトン並びに物質循環に与える影響に関する近年の報告を中心にまとめた。海洋植物プランクトンは生態系の構造や生元素の循環および大気-海洋間の CO_2 交換などの海洋生態系の基盤サービスに重要な役割を持つ。海水の pH の低下が植物プランクトンの動態に何らかの影響を与えることがあれば, その影響が食物連鎖を通じて高次の栄養段階の生物に伝搬することにより海洋生態系の供給サービスに甚大な影響を与えかねない。また, 植物プランクトンによる栄養塩の利用が pH の低下によって影響を受けることがあれば, 物質循環は攪乱され, 現在の海洋表層の生態系を変化させる可能性もある。すなわち, 海洋酸性化が植物プランクトンの動態に及ぼす影響について把握することは, 将来の生物海洋学を推進する上で, ひいては人類が持続的に海洋資源を利用できるかどうかを知る上で極めて重要な課題と言える。

海水の pH の低下が植物プランクトンに及ぼす影響に関しては, 2000 年に Riebesell らが円石藻の円石に奇形が生じると共に円石の生産量を減少させたことを報告するまで研究例は少なかった (Riebesell *et al.*, 2000)。その後ロンドン王立協会や IPCC により pH の低下が海洋生態系に与える影響を危惧する報告書が出版され (Royal Society, 2005; Denman *et al.*, 2007), 近年では, 海洋酸性化に関する研究が様々な分野で急速に進んでいる。植物プランクトンより高次の栄養段階の生物および造礁サンゴに対する pH の低下の影響に関しては近年総説が出版されている (Browman, 2008; Fabry *et al.*, 2008; 諏訪ら, 2010)。本総説では生物海洋学的な重要性

から、海洋酸性化が植物プランクトン並びに生元素の循環に及ぼす影響に関する最新の知見を以下の順で整理した。(1) 地球上における炭素循環並びに海洋において pH が低下する機構、(2) 過去の約 6000 万年前以降の地球史における炭素動態並びに pH の変化と現代の海洋酸性化の現象との対比および地質学的な時間尺度における植物プランクトンの応答性に関する考察、(3) 炭素同化機構、(4) pH 操作実験の手法、(5) 単離培養株を用いた実験における pH の低下の影響、(6) 自然プランクトン群集を用いた実験における pH 低下の影響および(7) 物質循環に及ぼす影響。最後に、(8) 現在得られている知見から、今後取り組んでいくべき課題について考察した。

2. 海洋の炭素循環と海洋酸性化

地球上では大陸地殻、水、大気および生物との相互関係により、炭素を始めとした生元素が循環している。概説すると、大気 CO₂ によってケイ炭石 (CaSiO₃) および石灰岩 (CaCO₃) 等の岩石が風化され、重炭酸イオン (HCO₃⁻) を生じる。HCO₃⁻ は生物的または非生物的に再び岩石に戻り、その際に CO₂ が生じる。岩石中の CO₂ は火山活動や地殻変動等によって再び大気中に放出され、その後、再び風化によって消費されることで地球上の炭素は循環している。炭素循環に関する総説は野崎 (1994) を参照されたい。植物による光合成は大気中の CO₂ を有機炭素 (CH₂O) に変換するため、CO₂ を固定する機構という側面では風化と似た働きがあるとも言える。人類活動に伴う大気への CO₂ の放出は光合成や風化の逆反応であり、純光合成生産や風化によって補償されない分の CO₂ は大気中並びに海洋に分配される。風化による CO₂ の固定は数万年以上の時間尺度において大気中の CO₂ 濃度の変動要因として重要であるが (Zeebe and Caldeira, 2008; Goodwin *et al.*, 2009), その速度は人為起源の CO₂ の排出速度と比較して遥かに遅いため、CO₂ は大気中並びに海洋に蓄積することとなる (Denman *et al.*, 2007; Fig. 1)。

産業革命以降、人類が放出してきた CO₂ の約 30% は海洋に取り込まれ、残りの約 70% は大気に蓄積している (Sabine *et al.*, 2004)。近年、現場観測による全炭酸、

アルカリ度のデータ解析から、海洋は毎年 2 ± 1 Gt C に及ぶ CO₂ を吸収していることが明らかになってきた (Takahashi *et al.*, 2009)。海洋吸収分の約 2 Gt は、生物ポンプ (e.g. Smetacek, 1999; Kobari *et al.*, 2003; Hopkinson and Vallino, 2005) および溶解ポンプによって海洋表層から隔離された量である。一方、陸域の生物圏による CO₂ の吸収は人間活動による土地利用によって相殺され、1800 年から 1994 年までの間、都合 39 ± 28 Gt C の放出源になっていたと考えられる (Houghton, 2007; Fig. 1)。推定値のばらつきが大きいのは不確定要因が多いためである。

大気中の CO₂ は海水に溶解すると、CO_{2(aq)}, H₂CO₃, HCO₃⁻ および CO₃²⁻ の 4 態として存在する。これらの炭酸 (塩) の分配は、酸解離平衡定数 K₁ (式 1) 並びに K₂ (式 2) によって決定され、それぞれの定数の値は、溶媒 (海水、湖水など) の物理化学的な要因に支配される (Dickson and Millero, 1987; Lee and Millero, 1995; Millero *et al.*, 2006)。

$$K_1 = k [\text{H}^+] [\text{HCO}_3^-] / [\text{CO}_2(\text{aq})] \quad (1)$$

$$K_2 = k [\text{H}^+] [\text{CO}_3^{2-}] / [\text{HCO}_3^-] \quad (2)$$

現在の大气中の CO₂ 分圧 (pCO₂ : ~390 μatm ; Tans, 2011) と平衡にある海水では、全溶存無機炭素 (DIC) の約 90% が HCO₃⁻, 10% 弱が CO₃²⁻ の化学形態であり、CO_{2(aq)} は 1% 以下、H₂CO₃ はさらに少なく、CO_{2(aq)} の 0.15% 程度である (藤永, 2005)。それぞれの化学種を直接測定することはできないが、海水の全アルカリ度 (TA), DIC, pCO₂ および pH の 4 項目のうち、いずれかの 2 項目を測定し、化学平衡を計算することで求めることができる (e.g. Lewis and Wallace, 1998)。

海水に CO₂ が溶解することによって放出された H⁺ の一部は CO₃²⁻ やホウ酸塩による緩衝を受けるが、残りの H⁺ によって海水中の pH は低下する。その結果、HCO₃⁻ 並びに CO_{2(aq)} の割合が増加し、CO₃²⁻ の割合が減少する (5.1 節を参照)。CO₃²⁻ の減少は海水の pH 緩衝能力を減少させるだけでなく、炭酸カルシウムの飽和度 (以下 Ω と表記する) を低下させる (式 3)。

$$\Omega = a(\text{Ca}^{2+})_{\text{eq}} a(\text{CO}_3^{2-})_{\text{eq}} / K_{\text{sp}} \quad (3)$$

ここで、 $a(\text{Ca}^{2+})_{\text{eq}}$ および $a(\text{CO}_3^{2-})_{\text{eq}}$ は、Ca²⁺ および CO₃²⁻ の活量、K_{sp} は溶解度積であり、炭酸カルシウムの結晶構造によって固有の K_{sp} の値を持つ。例えば、結

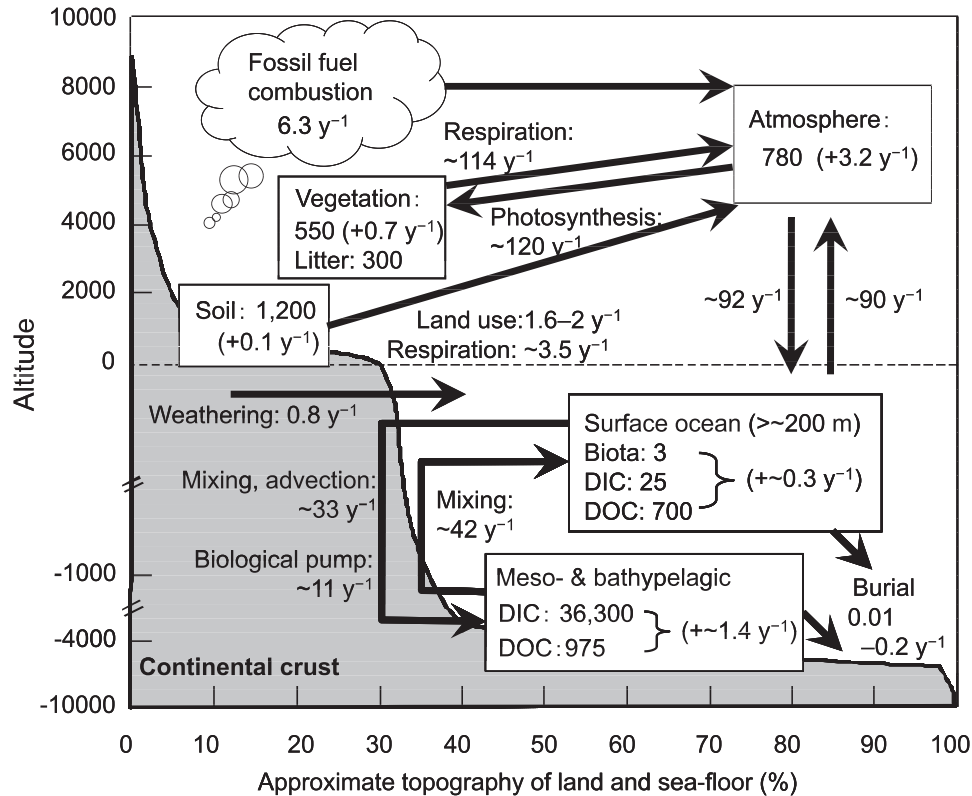


Fig. 1. The global carbon cycle in the 1990s. Units are Gt C and y⁻¹ represents annual rate. The values in the figure are based on Houghton (2007) and Denman *et al.* (2007). Small discrepancy (<1 Gt C y⁻¹) in the C budget was probably derived from the uncertainty of the larger C pools such as physical mixing, advection and biological pump in the ocean.

晶構造の異なるアラゴナイトとカルサイトとを比較すると前者のほうが熱力学的に溶解し易く、同じ海水であればアラゴナイトの Ω (Ω_{arg})はカルサイトの Ω (Ω_{cal})と比較して小さい値をとる。海中における炭酸カルシウムの化学的特徴の詳細に関してはMorse *et al.* (1980)およびStumm and Morgan (1996)を参照されたい。海水のpHの低下に伴う Ω の低下が生物による炭酸カルシウムの殻の生成および生成された炭酸カルシウムの溶解や沈降過程に影響を及ぼす可能性があり、生態系の機能や物質循環の攪乱が懸念されている(6.2, 7.2および8.1節を参照)。

大気と海洋表層におけるCO₂の気体交換の量は、大気中のCO₂以外にも湧昇や冬季鉛直混合層の深度などの地理および物理的な要因によって変化する。さらに対象海域における生物活動の強度によってpCO₂の振幅は変化する(Cai *et al.*, 2000; Kuss and Schneider, 2004;

Takahashi *et al.*, 2009; Dore *et al.*, 2009)。特に、生物活動が活発な沿岸域においてpCO₂の振幅が大きいことが知られている(Table 1; Hansen, 2002; Dai *et al.*, 2009)。一方、水深約200 m以深の外洋域では、バクテリアなどによる異化作用によって沈降した一次生産物からCO₂が放出されるため、pCO₂が大気と比較して高い。例えば、西部亜寒帯北太平洋にあるStation KNOT (44°N, 155°E)の水深200 mでは年間を通じてTAが約2280 μmol kg⁻¹、DICが約2275 μmol kg⁻¹であり(e.g. Tsurushima *et al.*, 2002)、pCO₂は1000 μatm以上、pHは約7.65である。すなわち、湧昇により中層の海水が表層に現れる海域では分圧差に従いCO₂は大気中に放出される(Takahashi *et al.*, 2009)。仮にStation KNOTの200 mの水と同質の水塊が表面に現れたとすると、現在の大気のCO₂濃度(~390 ppm; Tans, 2011)と平衡になるまでに約120 μmol kg⁻¹のCO₂を

Table 1. The decline rate and fluctuation of seawater pH over the past 60 million years.

Period/Epoch	Observation period	Oceanographic station	Rate of pH decline (y^{-1})	Seasonal pH fluctuation	Diurnal pH fluctuation	Ref. No.
Anthropocene	A.D. 1988–2007	Subtropical North Pacific (oceanic)	$-1.9 \times 10^{-3} \pm 0.2 \times 10^{-3}$	< 0.1	0.01	1
Anthropocene	A.D. 2000–2008	Temperate western North Pacific (coastal)	$-4.5 \times 10^{-2} \pm 0.9 \times 10^{-2}$	1.5–2	~0.5	2
Anthropocene	A.D. 1985–2008	Subarctic North Atlantic (oceanic)	$-2.4 \times 10^{-3} \pm 0.2 \times 10^{-3}$			3
Anthropocene	A.D. 1983–2007	Temperate to subtropical western North Pacific (oceanic)	$-1.8 \times 10^{-3} \pm 0.2 \times 10^{-3}$			4
Anthropocene	A.D. 1990–1999	Mariager Fjord, Denmark		1.5–2		5
Quaternary	~15,000 years ago	Equatorial Pacific	$\sim -1.4 \times 10^{-4}$			6
Eocene	46 Million years ago	Vostok ice core	$\sim -5 \times 10^{-7}$			7

References. 1: Dore *et al.*, 2009; 2: Wootton *et al.*, 2008; 3: Olafsson *et al.*, 2009; 4: Midorikawa *et al.*, 2010; 5: Hansen, 2002; 6: Yu *et al.*, 2007; 7: Pearson and Palmer, 2000.

大気に放出することになる。一方、湧昇によって栄養塩が表層に回帰するため、植物プランクトンによる活発な光合成が行われる。その結果、DICが消費されて $p\text{CO}_2$ が低下するため、海洋の $p\text{CO}_2$ は季節的に振動する (Tsurushima *et al.*, 2002; Wootton *et al.*, 2008; Dore *et al.*, 2009)。西部亜寒帯北太平洋では冬季の鉛直混合が深くまで達するとともに、 $p\text{CO}_2$ の高い深層水が湧昇してくるため、冬季における表層の $p\text{CO}_2$ は400 μatm を超える (Tsurushima *et al.*, 2002; Wong *et al.*, 2002; 観測当時の大気の $p\text{CO}_2$ は約365 μatm)。続く春季から夏季にかけて、珪藻を主体とした植物プランクトンによる生産が表層の $p\text{CO}_2$ を300 μatm 前後まで低下させるため (Tsurushima *et al.*, 2002; Wong *et al.*, 2002)、外洋域としては $p\text{CO}_2$ が最も大きく振幅する海域の一つであることが知られている (e.g. Takahashi *et al.*, 2009)。また、外洋域における大きな $p\text{CO}_2$ の振幅、すなわち、植物プランクトンによる高い一次生産量を達成するためには、鉄が栄養塩と共に必須元素であることが近年の現場における鉄撒布実験により明らかにされている (e.g. de Baar *et al.*, 2005; Boyd *et al.*, 2007)。西部亜寒帯北太平洋における大きな $p\text{CO}_2$ の振幅には風生塵や堆積物起源の鉄の供給量が比較的多いことが重要な要因の1つと考えられる (e.g. Nishioka *et al.*, 2007)。また、人類活動に伴う将来の気候変化や地球環境の自然

変動により、外洋域への鉄を含む風成塵の供給量が変化し、大気–海洋間の炭素循環過程に影響を与える可能性が指摘されている (e.g. Martin, 1990; Jickells *et al.*, 2005)。このように、海洋の物理並びに化学環境と生物活動の相互作用により全球の物質循環が駆動されていることから (e.g. Anderson and Sarmiento, 1994; Tsunogai, 2002)、気候変化が海洋植物プランクトンに与える影響を把握することは極めて重要である。

3. 地球史から見た海洋酸性化

数万年から数千万年の時間尺度の地球史において、大気中の CO_2 濃度は地殻変動の強度が変化することによって増減を繰り返してきたことが知られている (Fig. 2; Doney and Schimel, 2007; Doney *et al.*, 2009)。すなわち、大気中の CO_2 濃度の増加に伴う海洋酸性化のような環境変動は過去にも起きていたと考えられる。そこで本章では、確度の高い報告値があり、かつ、現代の海洋に生息する植物プランクトンのうち多くの分類群が出現していたと考えられる6000万年前以降における海洋環境の変動と現在の海洋におけるpHの低下の現象とを比較検討し、地質学的な時間尺度における植物プランクトンの応答性に関して考察する。

3.1 古第三期から新第三期 (6000 万–258 万年前)

古第三期 (Paleogene) の約 5500 万年前の暁新世 (Paleocene) / 始新世 (Eocene) 境界で、炭素安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$) の負異常を伴う急激 (<1 万年) な大気中の CO_2 濃度並びに気温の上昇が生じたことが知られている。大気中の CO_2 濃度の上昇は、 $\delta^{13}\text{C}$ 値の軽いメタンハイドレート由来の炭素が大気中に放出され、そのメタンが大気中の酸素によって酸化されたことによると考えられている (e.g. Zachos *et al.*, 2008)。 $\delta^{13}\text{C}$ 値の軽い炭素の放出量は 2000–6840 Gt C に及んでいたとされ、人類が今後数 100 年間で排出する可能性のある量に匹敵する (Zachos *et al.*, 2008; Ridgwell and Schmidt, 2010)。このときの年間の炭素排出速度は最速で約 1 Gt C にも及んだとされる (Zeebe *et al.*, 2009)。 $\delta^{13}\text{C}$ の負異常が起こった後、海水温の上昇は 1 万年以内に 5°C 以上 (極域では約 8°C) にも及んだと考えられている (Zachos *et al.*, 2005; Zeebe *et al.*, 2009)。この現象は暁新世/始新世温度極大 (Paleocene-Eocene Thermal Maximum: PETM) と呼ばれる。PETM 時、ホウ素の安定同位体比から推定された当時の海洋表層の pH は 7.4–7.5 まで低下していた。その後、約 1000 万年の間、約 4000–5000 ppm にも及ぶ高 CO_2 濃度の環境が続いていた (Pearson and Palmer, 2000)。

PETM 時以外では、堆積物中の生物粒子の 80–90% 以上は炭酸カルシウムであった。しかしながら、PETM 発生から 6–7 万年間、堆積物中の炭酸カルシウムの割合がほぼ 0% になる観測点があり、元の状態に回復するまでに約 4–15 万年を要した (Zachos *et al.*, 2005; Gibbs *et al.*, 2006a)。炭酸カルシウムの堆積量の低下は、表層混合層 (~200 m) から水深 3600 m 以深まで炭酸カルシウムが未飽和または間接的に貧酸素の状態となったことによって、底生有孔虫が大量に絶滅したことが大きな要因と考えられている (e.g. Ridgwell and Schmidt, 2010)。それ以外では、PETM の開始からピーク時までの間に沿岸域における生物生産が強化されたことで、外洋域に供給される栄養塩の量が低下し、外洋域における炭酸カルシウムの沈降量が低下した可能性も考えられている (Gibbs *et al.*, 2006b)。また、PETM の開始から数万年の間、深層水形成の場が南北で逆転する

ことによって海洋循環が変化し、外洋域における生物生産が低下した、または空間的な差異が堆積物中の生物指標の組成を変化させていた可能性も指摘されている (Nunes and Norris, 2006)。一方では、PETM 後の約 7 万年間に表層における炭酸カルシウムを生成するナノプランクトンの絶滅と新種の発生が起こっていたことが微化石の消長から示されている (Gibbs *et al.*, 2006a)。PETM のピークの後には Ω の未飽和が解消しつつあったと考えられるのにもかかわらず、堆積物中のナノプランクトンの炭酸カルシウムの微化石は重厚に石灰化したものもあれば弱くもろいものも存在していた (Gibbs *et al.*, 2006a)。このことは海水の $p\text{CO}_2$ の上昇によって円石藻の円石が溶けたり大型になったりする株 (種) が存在していることと似ている (6.2 節を参照)。

PETM に続く始新世から漸新世 (Oligocene) の初期までの間の 2000 万年間、大気中の CO_2 濃度は 1000–1800 ppm と比較的高い水準が続いていた。その後の約 3300 万年前から 200 万年かけて大気中の CO_2 濃度は約 500 ppm まで低下、漸新世終期の 2300 万年前以降の新第三期 (Neogene) では 150–350 ppm まで低下し、その後は数 100 万年の時間尺度では安定化していた (Pearson and Palmer, 2000; Pagani *et al.*, 2005)。約 3300 万年前以降に見られた約 1000 ppm にも及ぶ大気の CO_2 濃度の低下は、南極大陸の氷河の発達と海水面の低下が鍵となり、海洋における炭酸塩の循環が表層と深層とで分離することによって、炭素が海洋の深層に隔離されたことによると考えられている (Merico *et al.*, 2008)。また、同時期に陸上のイネ科植物などの低 CO_2 濃度に適応した C_4 植物 (4 章を参照) が繁栄したことも CO_2 濃度の安定化に寄与していた可能性が指摘されている (Falkowski *et al.*, 2004)。

PETM 時以外のおおよそ 6000 万–3000 万年前の時期における CO_2 濃度は 1000 から 5000 ppm と非常に高く、かつ、海水の pH も 7.4–8.0 と現代と比較して低かった (Pearson and Palmer, 2000; Zachos *et al.*, 2008)。それにもかかわらず、堆積物中では炭酸カルシウムの殻を有する植物プランクトンが卓越している (Falkowski *et al.*, 2004)。先述したとおり、PETM 以降の 7 万年間に種の絶滅と発生が観察されたことから (Gibbs *et al.*, 2006a)、数万年の時間スケールであれば低 pH の環境に

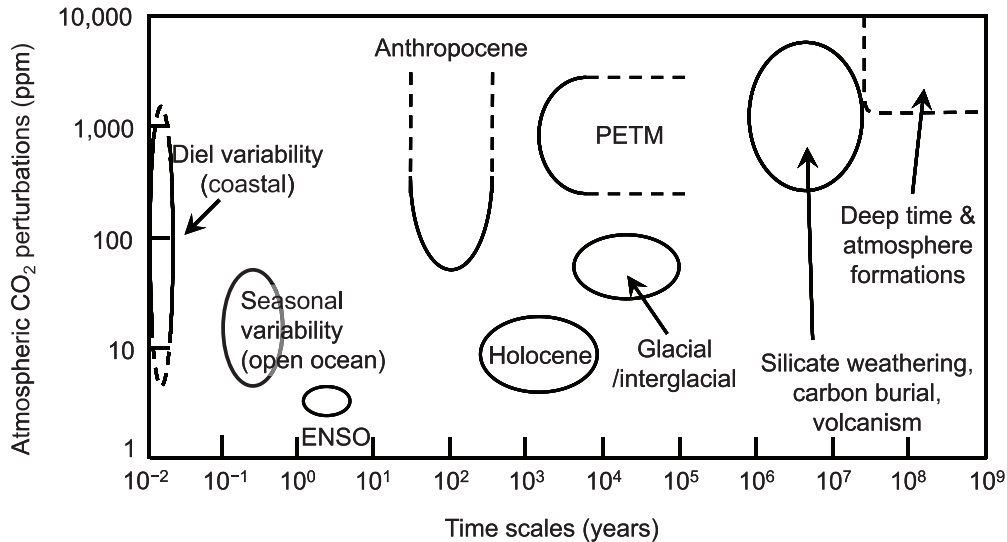


Fig. 2. Schematic diagram of the magnitude of atmospheric CO₂ perturbations against approximate time scales for various climate regimes. X and Y axis are shown in log scale. Solid and dashed lines indicate most probable and estimated values, respectively. The figure is redrawn based on Doney and Schimel (2007) with the addition diel variability in the coastal region according to Cai *et al.*, (2000), Wotton *et al.*, (2008) and Dai *et al.*, (2009). Seasonal variability was revised according to Dore *et al.*, (2009). Abbreviations: PETM, Paleocene-Eocene thermal maximum; ENSO, El-Niño-Southern Oscillation.

においても円石藻類は何らかの適応や進化が可能であり、繁栄できたと考えられる (Ridgwell and Schmidt, 2010)。または、海水中のカルシウム濃度が現在より 1.5 倍程度高いことにより (Horita *et al.*, 2002; Tyrrell and Zeebe, 2004), 円石藻の増殖速度が上昇し、炭酸カルシウムが大量に堆積できた可能性も指摘されている (Stanley *et al.*, 2005; Ries, 2010)。CO₂ 濃度が減少し始めた新第三期 (2300 万年前) 以降では堆積物に占める珪藻類の多様性が上昇していたことが知られており (Rabosky and Sorhannus, 2009), 海洋環境の変化と植物プランクトンの進化との相互関係を解明することは今後の生物海洋学の研究における興味深い課題である。

3.2 第四期 (258 万年前 - 18 世紀)

更新世 (Pleistocene) 後期から完新世 (Holocene) までの約 74 万年前以降の氷期 - 間氷期における大気中の CO₂ 濃度は約 10 万年周期で約 180 - 300 ppm の間で振幅し、気温と極めて高い正の相関を示す (Petit *et al.*, 1999; Sigman and Boyle, 2000; EPICA community

members, 2004)。氷期 - 間氷期において、大気中の CO₂ 濃度の変動による放射強制力の変化が気温を変化させる最も優勢な要因であったことが大気 - 海洋結合型の炭素循環モデルにより定量評価されている (Goodwin *et al.*, 2009)。また、氷期 - 間氷期における CO₂ の収支は火山活動、サンゴなどによる石灰化、地殻変成作用や有機物の酸化による排出と、岩石の風化による固定とが釣り合っていたことが物質循環のモデル計算から示唆されている (Uchikawa *et al.*, 2008; Zeebe and Caldeira, 2008; Elsig *et al.*, 2009)。氷期 - 間氷期における大気中の CO₂ 濃度の変化速度は数万年当り約 100 ppm である (e.g. Petit *et al.*, 1999)。すなわち、地球化学的なプロセスによる大気中の CO₂ 濃度への負のフィードバックは、せいぜい年間数 10 ppb 程度、pH は氷期 - 間氷期の間で約 0.15 ($-1.4 \times 10^{-4} \text{ y}^{-1}$ で減少) 変化するのみであり (Yu *et al.*, 2007), 自然界における CO₂ 濃度並びに pH の振幅や変化速度は次節に記す人類世における変化と比較して遥かに小さく、遅い (Table 1; Fig. 2)。

氷期 - 間氷期における海水の pH ($p\text{CO}_2$) の変化が植物プランクトンの諸過程に影響を及ぼしていた可能性も

考えられるが、報告はほとんどない。氷期-間氷期における海洋の一次生産や植物プランクトン群集組成の変化は、海水の張り出す面積や栄養塩の供給量の変化に依存していたと考えられている (e.g. Jickells *et al.*, 2005; Kohfeld *et al.*, 2005)。大気ダストの多かった氷期では、ダストから溶出するケイ酸の量の増大により中低緯度における珪藻の生産量が上昇し、氷期の CO₂ 濃度を低い水準で安定化させるのに重要な役割を担っていたという、ケイ素仮説がある (Harrison, 2000)。その他、大気ダスト由来の鉄の供給量が増加することにより、南極海において珪藻のケイ素含量が相対的に低くなり (e.g. Takeda, 1998)、未利用のケイ酸が現代よりも多量に低緯度海域へ移送された可能性 (Brzezinski *et al.*, 2002) 並びに海水の張り出しに伴い、高緯度海域における珪藻の生産量が低下することによって未利用のケイ酸が低緯度に運ばれた可能性 (Kienast *et al.*, 2006) がケイ素仮説を支持している。氷期-間氷期における pH の変化がケイ素循環に影響を及ぼしていた可能性に関しては 1 報のみ報告されている。東部赤道域太平洋におけるボトル実験では pH が上昇することによって珪藻からハプト藻の *Phaeocystis* に優占群集が遷移した (Tortell *et al.*, 2002)。pH の上昇によって珪藻以外の藻類へ植物プランクトン群集が遷移すればケイ素仮説の支持につながるようになる。すなわち、10 万年周期の pH の変化によっても植物プランクトンの群集組成や物質循環に影響を受けていた可能性が考えられる。

3.3 人類世 (産業革命以降)

人類活動が地球環境に影響を与えるようになった産業革命期以降の地球史は Anthropocene (本論文では人類世とする) と定義づけられる (Crutzen, 2002; Steffen *et al.*, 2007)。先述の通り、人類活動に伴う CO₂ の排出速度は自然における炭素循環の速度と比較して数オーダー速く (Table 1)、人類が大気中の CO₂ 濃度を上昇させた可能性は非常に高い (Denman *et al.*, 2007)。近年の大気中の CO₂ 濃度は年間約 2 ppm の速度で上昇しており (Doney and Schimel, 2007; Dore *et al.*, 2009)、2010 年における大気中の CO₂ 濃度の平均値は 390 ppm に達している (Tans, 2011)。今後の数 100 年という短い期

間では、CO₂ 濃度の低下に寄与する風化の効果は極めて小さく (Zeebe and Caldeira, 2008)、大気-海洋間の $p\text{CO}_2$ の差に従って海水に CO₂ が溶解する。その結果、産業革命以降における大気中の CO₂ 濃度の増加によって、18 世紀から現代までに約 pH は 8.2 から 8.1 まで低下したと考えられている。近年では、長期観測によって海水の pH は年間 0.0019–0.045 の速度で低下していることが実測されている (Wootton *et al.*, 2008; Dore *et al.*, 2009; Olafsson *et al.*, 2009; Midorikawa *et al.*, 2010; Table 1)。

産業革命以降 2000 年までに人類活動に起因する CO₂ の排出量は約 300 Gt C である (Houghton, 2007)。さらに 2000–2006 年間の排出量は 64 Gt C (Allen *et al.*, 2009; Meinshausen *et al.*, 2009)、2008 年には 9.9 Gt C y⁻¹ であり (Le Quéré *et al.*, 2009)、近年の CO₂ 排出速度は PETM 時の最大値よりも 1 オーダー以上速い (Zeebe *et al.*, 2009)。CO₂ 排出シナリオによって今後の人類活動から排出される CO₂ の量や速度には様々な不確定要素を含むが、現在までと同様に世界経済が発展し続け、人類が化石燃料を活発に使用し続けたとすれば、現在から 200–300 年の間に、5500 万年前の PETM 時 (2000–6840 Gt/10000 年) に匹敵、またはそれ以上の量の CO₂ を放出することになる (Zeebe *et al.*, 2008; Meinshausen *et al.*, 2009)。海洋大循環の時間尺度が 1000–2000 年である一方で、人類世における CO₂ の放出が 100 年のオーダーであるから、CO₂ 濃度の上昇率は海洋表層において高くなる (Caldeira and Wickett, 2003)。一方、過去の地球史における大気中の CO₂ 濃度の変化は約数万から数 100 万年のオーダーで変動してきたため、近年の海洋表層の pH の低下速度は地球史上最も急激な変化であると警告されることが多い (Table 1; e.g. Doney *et al.*, 2009)。さらに、集水域に大都市を有する沿岸域では、人類活動に由来する NO_x や SO_x の排出によって pH の低下速度が加速すると予想されている (Blackford and Gilbert, 2007; Doney *et al.*, 2007)。自然環境では人為起源の CO₂ が付加されたことにより、カルフォルニア北西部沿岸において $p\text{CO}_2$ が 1000 μatm 前後、pH が 7.6–7.7 で Ω_{arg} が 1 以下の深層水が湧昇してきている現象が観察されている (Feely *et al.*, 2008)。さらに夏季の北極海では、海水の溶解と大気 CO₂ の吸

収との相互作用によりすでに海洋表層における Ω_{arg} が1以下となる現象が観察されている (Yamamoto-Kawai *et al.*, 2009)。これらの事実から、アラゴナイトの殻を生成する生物の成長および遺骸の沈降・堆積過程に影響が現れ得る海洋環境はすでに局所的に現れ始めていると考えられる。しかしながら、これらの Ω_{arg} が1以下になり得る海域において、pHの低下が植物プランクトンの動態に影響を与えていることに関する知見は現在のところない。

一方、先述の通り、生産性の高い沿岸域では活発な生物活動に伴うpHの日変動 (<1/日) や季節変動 (<2/半年) がある (Fig. 1; Table 1; Hansen, 2002; Wootton *et al.*, 2008)。この沿岸域におけるpHの変化速度は将来の人類活動に起因する海水のpHの低下速度の最大値 (<0.75/200年; Zeebe *et al.*, 2008) と比較しても遥かに短期間で大きな変化を示す (Table 1, Fig. 1)。この事実は、高い生産性を示す沿岸域の生物群集はpH変化に対する適応能力が高い可能性を示唆している。しかしながら、生息域の違いによってpH変化に対する生物の応答を比較検討した研究はこれまでになく (9章を参照)、実験的に影響を評価する方法および当該海域における生態系の調査が有力な手段である。

4 炭素同化機構

海水の $p\text{CO}_2$ またはpHの変化が植物プランクトンの一次生産および群集組成の変化、ひいては物質循環に及ぼす影響を評価するためには炭素同化機構を理解することが重要になる。近年まで、海洋植物プランクトンは光合成の際に取り込んだ CO_2 を3原子の炭素で構成される有機化合物 (3-ホスホグリセリン酸) に変換する C_3 植物と考えられてきた。 C_3 植物による炭素固定は、カルビン-ベンソン回路において炭素固定反応に係わる唯一の酵素であるリブローズ 1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ (RubisCO) のみによって行われる。RubisCOによる炭素固定は CO_2 のみを基質とするが、 O_2 による阻害も起こるため CO_2 に対する親和性が低い (e.g. Bader *et al.*, 1998)。このため、海水中の CO_2 (aq) および HCO_3^- から化学平衡により解離する CO_2 (aq) を分子拡散によって細胞内に取り込むだけでは植物プランク

トンの増殖速度は CO_2 律速になると考えられた (Riebesell *et al.*, 1993)。分子拡散による基質の摂取は細胞が大型になるほど効率が悪くなるため、海洋酸性化に伴う海水中の CO_2 (aq) 濃度の上昇は炭素固定速度の上昇および大型細胞の植物プランクトンの増殖を促進させる可能性が指摘されていた (Riebesell *et al.*, 1993, 2000)。

そこで、ブリティッシュコロンビア大学の Philippe D. Tortell 博士とその共同研究者は、自然植物プランクトン群集の炭酸 (塩) 取り込み動態に関する研究を行ってきた。彼らは南極海のロス海 (Tortell *et al.*, 2008a, b, 2010)、ベーリング海 (Martin and Tortell, 2006)、および東部亜寒帯北太平洋 (Tortell *et al.*, 2006) において CO_2 (aq) と HCO_3^- の取り込み比率に関する実験を行っている (7章を参照)。その結果、全ての海域において自然植物プランクトン群集が取り込んだDICの内、60–90%が HCO_3^- であることを明らかにした。取りこまれた HCO_3^- は細胞内の炭酸脱水素酵素 (intracellular carbonic anhydrase: iCA) によって CO_2 に変換され、RubisCOに供給されることが考えられた。また、自然環境では、海水中の $p\text{CO}_2$ が低下していた観測点において、細胞外で HCO_3^- を CO_2 に変換する細胞外の炭酸脱水素酵素 (extracellular CA: eCA) の活性が高いことを観測している。eCA活性が高い海域ではしばしば珪藻の優占度が高かったことから、珪藻は高いeCA活性を持つ生物群である可能性が考えられた (Martin and Tortell, 2006; Tortell *et al.*, 2008a, 2010)。

珪藻を用いた室内実験では、 CO_2 (aq) を優先して利用する CO_2 -user (e.g. *Stellarima stellaris*) と HCO_3^- を優先して利用する HCO_3^- -user (e.g. *Nitzschia navis-varingica*) の存在が報告された (Trimborn *et al.*, 2008, 2009)。これらのことから、珪藻は CO_2 (aq) と比較して海水中に豊富に存在する HCO_3^- を摂取することが可能であり、取り込んだ HCO_3^- をiCAによって CO_2 (aq) に変換し、RubisCOのカルボキシラーゼ反応の効率を高める炭素濃縮機構 (carbon concentration mechanisms: CCMs) を進化の上で獲得しているようである (e.g. Bader and Price, 2003; Trimborn *et al.*, 2009)。またRubisCOが集まっていると考えられるタンパク質膜のピレノイドの存在によりiCAによって生成された

CO₂ (aq) が 3 倍程度濃縮されやすいことが同位体でラベルした CO₂ (¹³C¹⁶O¹⁶O, ¹³C¹⁸O¹⁶O, ¹³C¹⁸O¹⁸O) を用いた研究から明らかになっている (Hopkinson *et al.*, 2011)。さらに、フォスフォエノールピルビン酸カルボキシラーゼ (PEPCase) 並びにフォスフォエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ (PEPCKase) によって CO₂ をピルビン酸 (炭素数 3) に付加し、炭素数 4 のオキサロ酢酸に変換する C₄ 植物の特徴を示す珪藻 *Thalassiosira weissflogii* の存在が明らかになってきた (e.g. Roberts *et al.*, 2007)。オキサロ酢酸はリンゴ酸 (炭素数 4) に変換された後、ピルビン酸と CO₂ に分解される。この CO₂ を RubisCO に供給することで C₄ の回路が CCMs 様の振る舞いをする。上記のことから、珪藻の中でも種毎に炭素同化機構を多様に進化させている可能性が考えられる。しかしながら、C₃ および C₄ 機構の何れの炭素固定法においても、海水の pH の低下によって CO₂ (aq) 濃度が上昇すれば分子拡散による CO₂ (aq) の透過量が増大するため、HCO₃⁻ を摂取する割合を減らすことが可能になると考えられる。すなわち、藻類は pH の低下により iCA, eCA, PEPCase およびピレノイドなどの CCMs に関連する酵素系などを構築するための基質やエネルギー投資量を低下させられる可能性がある (Hopkinson *et al.*, 2010)。近年、pH の低下した環境におけるエネルギー投資の減少率に注目が集まっている (Raven, 2010)。Hopkinson *et al.* (2011) によれば、CO₂(aq) が 2 倍 (pCO₂ も 2 倍) に増加した時、CCMs へのエネルギー投資量が節約されることにより、炭素固定に必要なエネルギー量は 3–6% 低下する可能性がある。

円石藻を用いた実験においても珪藻と同様に CO₂ (aq) だけでなく HCO₃⁻ も摂取していることが確認されている (Rost *et al.*, 2003)。しかしながら、円石藻 *Emiliania huxleyi* は珪藻とは異なり、今世紀末までに達する可能性のある CO₂ 濃度 (< 500–1000 ppm) では光合成速度が飽和しないこと、eCA 活性が珪藻と比較して数オーダー低いことから、将来の pCO₂ の上昇により増殖速度が増加し、優占度が高まる可能性が指摘されている (Rost *et al.*, 2003; Shi *et al.*, 2009)。また、生体内で生成される円石藻の円石は生成過程において CO₂ が発生することから、円石は CCMs の一部として考えられることがあった。しかしながら、栄養塩や光強度が十分

に存在する時、増殖速度が速いほど円石の生成量が減少することから、円石の生成と光合成は独立した系列であることが明らかになっている (Shiraiwa, 2003; Leonardos *et al.*, 2009; Reinfelder, 2010)。pH の低下による最大光合成速度または DIC の取り込み速度の上昇は、円石の生成と明瞭な関係性は無いことから (8.1 節を参照)、光合成と円石の生成とが独立した機構であることが確認できる。すなわち、pH の低下によって DIC に対する親和性を低下させる珪藻と異なり (6 章を参照)、円石藻は外部環境の変化によって CCMs を再構築する能力が低いことが推察される。一方、赤道域太平洋沿岸域におけるボトル実験では、150 μatm の低 pCO₂ 環境下 (pH 8.5) において円石藻と同綱の *Phaeocystis* が増加する傾向にあった (Tortell *et al.*, 2002)。これは *Phaeocystis* が低 CO₂ 濃度の環境においても CO₂ の摂取能力が高いことに起因すると考えられる (Rost *et al.*, 2003)。約 3000 万年前の高 CO₂ 環境 (> ~500 ppm; Pagani *et al.*, 2005) ではすでに存在していたと考えられる *Phaeocystis* 属が、約 27 万年前の低 CO₂ 環境 (~200 ppm; Petit *et al.*, 1999) において発生した *E. huxleyi* (Thierstein, 1977; Medlin, 1998) と比較して CO₂ 摂取能力が高いことは、外部環境が炭酸 (塩) の獲得戦略の進化を駆動させていたという説 (Tortell, 2000) と矛盾しているが、これはハプト藻の CO₂ 摂取機構が種の分化と独立して起ったことによるものと考えられる。

二次共生の真核植物プランクトンの中では最も進化年代が古いと考えられている渦鞭毛藻 (~2.4–5.7 億年前; Falkowski *et al.*, 2004) は、その他の藻類と比較して酸素により阻害を受けやすく効率の悪い RubisCO を有すことで知られている (Reinfelder, 2010)。先述の通り、特定の渦鞭毛藻は低 pCO₂ 環境において赤潮を引き起こすため、CO₂ (aq) の取り込み能力が高い可能性が考えられていた (Hinga, 1992; Hansen, 2002)。Rost *et al.* (2006) は *Prorocentrum minimum* および *Heterocapsa triquetra* に HCO₃⁻ を取り込む能力があることを示したが、*Ceratium lineatum* は HCO₃⁻ を取り込んでいないことを示した。また、何れの種も eCA 活性が低いまたはほとんど無いことを定量しており、過去の研究において *Amphidinium carterae* および *Heterocapsa oceanica*

Table 2. The practicality and precautions of each experimental method manipulating carbonate system in seawater (see also Hurd *et al.*, 2009; Rost *et al.*, 2009).

Method	Practicality	Precautions
TA manipulation at constant DIC		
Acid / base additions (typically, HCl / NaOH)	Do not require compressed gas cylinders and any large infrastructure. Simple. Quickly alters pH and $p\text{CO}_2$	Different relationship between $p\text{CO}_2$ and pH compared to the phenomenon in the Anthropocene especially under low temperature. Must use ultra-pure reagents or need purification of the reagent. The added reagents (patch) may affect biocoenosis and biominerals in the bottle.
DIC manipulation at constant TA		
CO_2 adjusted air bubbling	Easy to adjust target $p\text{CO}_2$. The same carbonate chemistry alternation in seawater as in the future high CO_2 world. Can be trace metal free.	Takes a longer time to achieve equilibrium bubbled CO_2 with seawater. Air bubble and strong turbulence may disturb organisms growth and physiology.
Mixture of CO_2 saturated or depleted seawater	Can avoid the negative effect of bubbles. Allows good simulation of future high CO_2 condition.	Difficult to precisely adjust target $p\text{CO}_2$. Large quantity of DIC depleted seawater required to decrease of seawater $p\text{CO}_2$. To what extent CO_2 saturation or depletion remains uncertain during preparation, transportation and/or preservation (for research cruise).
Addition of HCl/ Na_2CO_3 or NaHCO_3	Easy and fast to adjust to target $p\text{CO}_2$. Allows good simulation of future high CO_2 condition	Must use ultra-pure reagents or need purification of the reagent. The added reagents (patch) may affect biocoenosis and biominerals in the bottle.
Other pH buffer	Can keep at target pH	Collapse of carbonate chemistry in seawater. Change in bioavailability of trace metals such as iron. Must use ultra-pure reagents.

の eCA 活性が非常に低かったことと同じ結果であった (Dason *et al.*, 2004)。また、*P. minimum*, *H. triquetra* および *C. lineatum* の 3 種の内 *P. minimum* 以外の種は 8.0 から 9.1 に pH を上昇させても iCA 活性を上昇させることが無かった (Rost *et al.*, 2006)。これらの事実から、pH の変化にかかわらず渦鞭毛藻の DIC 取り込み能力は低いと考えられる (6.3 節; Reinfelder, 2010)。

始生代 (25–40 億年前) に誕生し、藻類の中で進化年代の最も古いシアノバクテリアは、CCMs として DIC の能動的な取り込み、iCA およびカルボキシソームの存在が知られているが、eCA の存在は認められていない (Badger and Price, 2003)。*Synechococcus* や *Trichodesmium* などは HCO_3^- と CO_2 (aq) を能動的に取り込む能力を有するが、*Prochlorococcus* は HCO_3^- のみしか取り込まないようである (Badger and Price, 2003)。取り込まれた DIC は細胞内で HCO_3^- の形態で保持され、カルボキシソーム内に輸送された後、iCA により

CO_2 (aq) に変換されて CO_2 が RubisCO の基質になると考えられている (Badger *et al.*, 1998; Badger and Price, 2003)。細胞内の炭酸塩濃度を高く保つ目的として細胞膜を透過し易い無電荷の CO_2 (aq) ではなく、 HCO_3^- の形態で DIC を保持する戦略は優れており、細胞内に DIC を濃縮する能力は藻類の中でも最も高いと考えられている (Badger and Price, 2003)。シアノバクテリアは大気の CO_2 濃度が高い時代に発生したが、約 13–14 億年前と 5.7–7 億年前に大気中の CO_2 濃度の低下 (<~4000 ppm) および O_2 濃度の上昇が引き金となって CCMs を構築するように進化してきたと考えられている (Ridging, 2006)。

上記のように、植物プランクトンは分類群毎に、場合によっては、属間においても炭素固定機構が異なることが明らかになっている (cf. Reinfelder, 2010)。RubisCO の CO_2 (aq) に対する親和性は、それぞれの植物プランクトン分類群が進化した年代における大気中の

CO₂濃度に反比例して高くなることから、海水中の炭酸系の変化は植物プランクトン動態を考える上で重要な要因になると考えられている (Tortell, 2000; Reinfelder, 2010)。

5. 実験手法

海洋酸性化の実験では、炭酸系の変化により結果の解釈が変わり得る。ここで最も注意しなくてはならないことは、海水の pH の操作方法や植物プランクトンの培養方法の違いによる炭酸系の化学種の組成やΩおよび栄養塩や鉄の濃度の変化である。そこで本章では、炭酸系の操作方法および単離株並びに自然植物プランクトン群集を用いた実験における培養方法に関して紹介し、それぞれの実験手法の利点と注意点について言及する。

5.1 海水の炭酸系の操作方法

海水の $p\text{CO}_2$ 並びに pH を目的の値に操作する手法としては、酸またはアルカリの試薬を添加する方法および CO₂ 濃度を調節した空気を海水に直接エアレーションする方法などが挙げられる (Hurd *et al.*, 2009; Schulz *et al.*, 2009)。何れの実験方法においても pH の低下は $p\text{CO}_2$ の上昇を伴うため (Fig. 4)、本論文では絶対値の論議をしないときはどちらか一方のパラメータの変化について記述することとする。人類世において実際の海洋で起きている (起こりうる) 海洋酸性化は TA の変化がほとんどない上で DIC の濃度が上昇するため、エアレーションによる炭酸系の調整法が最も実際の海水の化学的な条件を模擬していると考えられる (Table 2)。しかしながら、エアレーションによる方法では CO₂ の溶解速度が遅いため平衡状態に至るまでに時間を要するというデメリットがある。一方の試薬の添加による方法では、TA を変化させてしまうが、速やかに目的とする pH になるというメリットがある (Table 2)。その他、試薬添加法では、添加した試薬の近傍、エアレーションでは泡の近傍に存在する生物に与える攪乱を避けることはできない。エアレーションによる炭酸系の操作方法では現代の $p\text{CO}_2$ 環境である対照区においてもエアレーションを行うことで泡や乱流の影響を実験区間で統一するこ

とができるが、試薬並びに CO₂ 飽和海水を添加する方法では操作による影響を均一にすることができない。pH バッファーは pH を目的の値にすることができるが、バッファーの緩衝作用によりその他の炭酸系の操作法と比較して DIC の増加量が大きくなる (Rost *et al.*, 2008)。また、炭酸系の理論が構築された溶液系とは大きく異なるため、炭酸系の計算値は信頼できるものではない。一方では、pH バッファーを用いた培地における炭酸系の計算が可能になれば、エアレーションの方法または試薬添加の方法と併せて実験することで pH の効果と CO₂ の効果を分離することが可能になる。しかしながら、Shi *et al.* (2009) では pH バッファーと鉄が結合することで鉄の生物学的利用性を低下させる可能性を指摘している。近年、pH の低下が海水中の微量元素の生物学的利用性を変化させる明らかになっており (Breitbarth *et al.*, 2009; Millero *et al.*, 2009; Shi *et al.*, 2010)、海水中における微量元素の化学種についても注意を払う必要がある。pH バッファーを効果的に利用するためには、pH バッファーが炭酸系に与える影響や鉄などの微量元素の生物学的利用性に与える影響を明らかにする必要があるため、依然として課題が多い。微量元素の影響を考慮した実験を行う際には少なくとも汚染を避けるために、海水の pH を調整するための試薬には超高純度のもの、または、イオン交換樹脂を使用したり蒸留したりすることで精製した試薬を使用する必要がある。また、エアレーション用の空気は塵などの不純物をあらかじめ除去しなければならない。

次に、試薬添加法と CO₂ 濃度調節済みの空気をエアレーションする方法および水温の違いが炭酸系に及ぼす影響に関して調べるために、計算ソフトの出力値を基に考察を行う (Fig. 4; Lewis and Wallace, 1998)。海水の基準値は、Schulz *et al.* (2009) に倣い、TA は 2350 $\mu\text{mol kg}^{-1}$ 、塩分は 35 とした。水温は 1°C と 25°C で行った。1°C における計算に用いたリン酸塩並びにケイ酸の濃度は、北太平洋亜寒帯の冬季のおおよその濃度を入力値とし、1.5 $\mu\text{mol kg}^{-1}$ 並びに 30 $\mu\text{mol kg}^{-1}$ とし、25°C におけるリン酸塩並びにケイ酸の濃度は北太平洋亜熱帯海域表層の値を参考にして 0 $\mu\text{mol kg}^{-1}$ 並びに 0 $\mu\text{mol kg}^{-1}$ とした。また、炭酸カルシウムを生成する植物プランクトンの代表である円石藻の円石はカルサイトなの

で、 Ω は Ω_{cal} (式 3) の値を示した (Fig. 4)。

水温 25°C で $p\text{CO}_2$ が 480 μatm 以下の時を除き、酸添加による炭酸系の操作はエアレーションによる方法と比較して HCO_3^- の濃度が低くなる (Fig. 4e)。ただし、1500 $\mu\text{mol kg}^{-1}$ 以上の HCO_3^- の濃度範囲では多くの植物プランクトンの増殖速度はおおよそ飽和しているため (e.g. Clark and Flynn, 2000; Rost *et al.*, 2003), 実験方法の違いが炭素同化速度に与える影響は小さいと考えられる。一方で、円石藻による石灰化は、 HCO_3^- を円石の基質とすることが知られており (e.g. Müller *et al.*, 2008), pH が高い時には試験方法の違いが円石の生成能に変化を及ぼすかもしれない。 CO_3^{2-} は pH 操作法の違いによる変化は小さく (Fig. 4d), CO_3^{2-} の濃度に依存的な Ω_{cal} も 25°C で 1200 μatm までの $p\text{CO}_2$ では Ω_{cal} が 2 より大きいため、実験方法の違いによる差は小さい (Fig. 4g)。すなわち、水温が高い時は生成された円石の溶解性にほとんど差は生じないと考えられる。しかしながら、1°C で $p\text{CO}_2$ が 600 μatm 以上のとき、試薬による pH の操作法の Ω_{cal} がエアレーションによる値と比較して 0.2–0.3 低くなり、約 1000 μatm 以上では試薬による pH の操作法の Ω_{cal} のみが 1 以下となる。また、水温 1°C, $p\text{CO}_2$ が 1000 μatm のとき、試薬添加法の pH はエアレーションによる方法と比較して約 0.05 低くなる (Fig. 4c)。このとき、pH の 0.05 の変化は $p\text{CO}_2$ にして約 100 μatm の変化に相当する。このように、実験方法の違いによって CO_2 濃度と pH の関係性が変化するため、文献値を比較する際には注意を要する。さらには、文献によっては海水の化学組成に関する情報が欠如していることが多く、炭酸系や pH を計算できないために研究成果の相互比較が困難である。研究成果の相互比較を可能とするために、ヨーロッパの研究者が中心になって最適な実験方法に関して web 上で情報提供を行っている (EPOCA: <http://www.epoca-project.eu/index.php/Home/Guide-to-OA-Research/>)。また、正確な方法による実験は結果の総合的な理解を可能にするだけでなく、今後、生物地球化学循環を考慮したモデル (e.g. Moor and Braucher, 2008) 等による海洋酸性化の影響評価を行うためのデータセットを構築するためにも必須条件である。

5.2 培養方法

自然プランクトン群集を用いた実験は 100–30000 L のメソコスム実験 (Table 3) と 2 L から最大約 10 L 程度の培養容器を用いたボトル実験 (Table 4) とに大別できる。室内実験では 100 mL 前後の試験管やフラスコから 4 L 程度のプラスチック容器が用いられることが多い。ボトル実験は小型であるため研究船を利用することで目的の海域における試料を用いた実験が可能であるが、容量が少ないために測定項目並びに実験期間に制約が生じる。一方、メソコスム実験は大容量の利点を生かして多項目測定並びに中長期的な実験が可能であるが、実験システムが巨大で移動が難しいため、基本的には沿岸域の定点でしか実験が行えない (Table 3)。ボトル実験ではプランクトンの個体 (細胞) 数密度および化学的な環境を一定に保つために、pH を調節したろ過海水を用いて試験中のプランクトンを含む海水を希釈し続ける連続培養法と、ろ過海水による希釈を行わず、採取した海水をそのまま培養し続ける回分 (バッチ) 培養法がある (Table 4)。両者の中間的な培養方法として半連続培養法がある。半連続培養法の英文表記には semi-continuous, continuous batch 並びに semi-continuous batch 等があり、試験中の海水を毎日一定の割合で希釈する方法が semi-continuous 法、バッチ培養を行った群集を数日毎にろ過海水で希釈する方法が後者の 2 表記に相当することが多いようだが、本論文では両方法とも半連続培養法と表すこととする。

ろ過をすることでほぼ無生物の海水を用いてボトル内の自然群集を希釈しながら行う、連続・半連続培養法では生物量や外部環境を一定に保つことが可能となり、比較的長期的な試験が可能とされる (Hutchins *et al.*, 2003)。しかしながら、実験装置の規模が大きくなること、細胞サイズが大きく増殖速度の遅い種が排除されやすいこと、希釈用のろ過海水がバクテリアの汚染を受けやすいことがデメリットとして挙げられる (Pickell *et al.*, 2009; Feng *et al.*, 2010)。バクテリアの汚染を避けることができ、採集した海水の鉄濃度が溶解度以下であれば、連続・半連続培養法は鉄の生物学的利用性を自然の状態から変化させにくいというメリットが生じる。しかしながら、実験システムが大きく複雑であることから、

Table 3. Comparison of incubation methodology and brief results of mesocosm experiments.

Region	Examined $p\text{CO}_2$ (μatm)/pH	Nutrients (μM) Initial/added	Mesozoo plankton	Method	Result	Ref. No.
Korean coast	250/~8.45 400/~8.3 750/~8.0	N : 0.2/23 P : 0.2/0.9 Si: 10 /not add.	Eliminated by 60 μm	~150 L container (dia. 53 cm, depth 80 cm). $x\text{CO}_2$ adjusted air bubbling. Nutrients added at 8 day of incubation due to N depletion. Incubation lasted for 14 d.	<i>Skeletonema costatum</i> and <i>Nitzschia</i> spp. dominated. Growth rate of <i>S. costatum</i> increased due to increase in $p\text{CO}_2$.	1
Norwegian coast (PeECE project)						
PeECE I	190/~8.3 410/~8.0 710/~7.8	N : ~0/15 P : ~0/0.5 Si: n.d. /not add.	Not eliminate	11,000 L bag (depth 4.5 m). $x\text{CO}_2$ adjusted air bubbling for 4 d prior to incubation. Incubation lasted for 19 d.	Decrease in PIC production due to increase in $p\text{CO}_2$. No change in phytoplankton community composition.	2
PeECE II	190/n.d. 370/n.d. 700/n.d.	N: n.d./8.6 P: n.d./0.38 Si: n.d./12	Not eliminate	20,000 L bag (depth 9.5 m). Different $x\text{CO}_2$ air bubbling for each enclosure. Made pycnocline at 5 m by freshwater addition. 19 d incubation.	Dominated small flagellates in 190 ppm, <i>E. huxleyi</i> in 370 ppm, and Prasinophyceae in 700 ppm enclosures.	3,4
PeECE III	350/8.15 700/7.85 1050/7.65	N: ~0/16 P: ~0/0.8 Si : 3 /not add.	Not eliminate	27,000 L (dia. 2 m, depth 9.5 m). Bubbling. Made pycnocline at 5.7 m by the addition of 80 L freshwater. Incubation lasted for 24 d.	Only <i>Synechococcus</i> abundance decreased due to increase in $p\text{CO}_2$. Other divisions may increase by the increase in $p\text{CO}_2$. Carbon consumption relative to N and P increased with increase in $p\text{CO}_2$.	5,6,7

References. 1: Kim *et al.*, 2006; 2: Engel *et al.*, 2005; 3: Engel *et al.*, 2008; 4: Grossart *et al.*, 2006; 5: Bellerby *et al.*, 2008; 6: Paulino *et al.*, 2008; 7: Schulz *et al.*, 2008.

実際には鉄の汚染が起こりやすいというデメリットがある (Pickell *et al.*, 2009)。さらに、外洋域における実験では鉄を添加することが多いが (Table 4)、添加された鉄の内、溶解度を越えた鉄はろ過海水中で酸化され水酸化物となって粒子化する (e.g. Kuma *et al.*, 1996)。このため、鉄はろ過海水とは別の系列で連続的に添加する必要があり、一層複雑な実験システムを構築しなくてはならない。一方、バッチ培養法は先述の連続・半連続培養法と比較して実験装置が小規模であること、操作が簡易であること、および実験系が閉鎖的なので、微量元素の汚染を避けられることが特徴として挙げられる。しかしながら、ボトル内の生物群集は生物量の増加に伴って栄養塩などの資源が減少すると共に、系内の溶存鉄の濃度並びに生物学的利用性が経時的に変化し得る (e.g.

Poorvin *et al.*, 2004; Rijkenberg *et al.*, 2008)。このため、バッチ培養法ではボトル内における植物プランクトンの生物量並びに栄養塩の濃度の変化に伴い、生物の応答が変化することは避けられない (e.g. Kim *et al.*, 2008)。上述のような特徴から、連続・半連続培養法は栄養塩等が生物生産を律速しており、pH の日・季節変動の小さい外洋域の生態系における影響評価実験において有効だと考えられる。一方、バッチ方法およびメソコム実験はブルーム期のような大増殖過程に pH の変化が及ぼす影響を評価するのに有効な方法と考えられる (LaRoche *et al.*, 2010)。

一方では、先述の通り沿岸域では pH の日・季節変動を示すことが知られている (Table 1)。しかしながら、植物プランクトンを用いた実験では日変動や季節変動を

考慮して pH を操作した報告はない。日変動に関する研究としては、例えば、現代の値として pH 8.1 に ± 0.1 の日変動を模擬した系列と将来予測される値の pH 7.9 に ± 0.1 の日変動を模擬した系列とを比較し、さらに pH 8.2, 8.1, 8.0, 7.9 および 7.8 の一定の値に操作した系列とを比較することで、平均値が影響を与えるのか、または最低（高）値の値が何らかの影響の発現の鍵となっているのかを明らかにできる可能性がある。対象とする植物プランクトンの生息域または単離用の海水を採集した海域における pH の日・季節変動を考慮して操作する方法も有効だと考えられる。植物プランクトンの培養実験では明期に光合成によって pH が上昇するため、暗期に pH を低下させる操作を行うことになる。この方法により、ごく短期間の pH の変化に対する植物プランクトンの応答を解明することが可能になる。

長期的な pH の低下による影響に関しては、室内実験において 100 日間の円石藻の半連続培養 (Müller *et al.*, 2010) および 1000 世代の緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* の半連続培養 (Collins and Bell, 2004 : 1050 ppm CO₂, pH 並びに TA, DIC の値は不明) の報告があり、それぞれ 30–50 日および 600 世代にわたり徐々に pH を低下 (バブリングする空気の CO₂ 濃度を緩やかに上昇) させている。*C. reinhardtii* の増殖速度は 1.0–1.4 程度であるから (e.g. Wurtz *et al.*, 1977), 1000 世代はおおよそ 1 年間に相当する。高 CO₂ 環境において 1000 世代培養された *C. reinhardtii* は CO₂ 濃度の変化に対する競争的適応度を低下させた株が出現した (Collins and Bell, 2004)。Müller *et al.* (2010) においても *Emiliania huxleyi* および *Coccolithus braarudii* の粒状無機炭素 (PIC) と POC の比は $p\text{CO}_2$ の高低に拘わらず経時的に低下しており、実験期間とともに円石の生成能が低下したことが伺える。これらの結果は、長期間、一定の環境において世代時間の短い生物を培養することにより、収斂進化が起こる可能性を示している。自然環境における競争的適応度の変化は生態学的な勝者と敗者を生む要因であるから、長期間の培養実験においても注意深い研究が必要である (e.g. Collins and Bell, 2004; Hoffmann and Sgrò, 2011)。

5.2.1 単離培養株を用いた実験法

植物プランクトンの単離培養株を用いた研究は、ウィルス、原核生物、真核の原生生物や甲殻類などが混在する自然プランクトン群集を用いた試験と異なり、環境変化に対する純粋な生物応答を抽出できる点において有用な手法である。その一方で、実験室内における単離培養株は一定の水温や光量等の環境条件下において保管されており、環境変化に対する競争的適合性が低下している可能性が指摘されている (e.g. Collins and Bell, 2004; Lakeman *et al.*, 2009)。また、一般的な培地には自然の海洋環境と比較して栄養塩や微量元素が数オーダー高い濃度で添加されているため、植物プランクトンの栄養塩等の取り込み能が低下する可能性があるとともに、培養容器内の植物プランクトンは自然ではあり得ない程高い細胞数密度で生息することとなる。極めて高い細胞数密度の定常期を迎えた培養株は栄養塩または CO₂ 制限状態 (高 pH 環境) になっていると考えられ、細胞は生理的に強いストレスを受けている可能性がある。そのため、維持培養において定常期にある単離培養株は実験に用いてはならない (cf. Lakeman *et al.*, 2009; LaRoche *et al.*, 2010)。これらの培養株を維持している環境における影響を減らすための努力として、実験前に実験と同じ環境において植物プランクトンを適応させる必要がある。

現在、pH 環境に順応させる期間に関して、短期間暴露したことによる“応答”なのか、ある程度長期間暴露した後の“適応”なのか、報告値の再現性に対して盛んに論議が行われている (Zondervan, 2007; Riebesell *et al.*, 2008a; Iglesias-Rodriguez *et al.*, 2008a; Casareto *et al.*, 2009)。Barcelos e Ramos *et al.* (2010) 並びに Müller *et al.* (2010) は同じ *E. huxleyi* 株を用いて、それぞれ異なる実験期間における $p\text{CO}_2$ 環境の変化による応答の変化を報告している。 $p\text{CO}_2$ が 190–410 μatm (pH 8.1–8.4) から 750–1600 μatm (pH 7.5–7.8) に上昇したとき、*E. huxleyi* は 24–26 時間と 100 日間との実験期間において同じ増殖速度を示した。しかしながら、14 時間 (Barcelos e Ramos *et al.*, 2010) までと約 80 日目以降 (Müller *et al.*, 2010) では $p\text{CO}_2$ の増加に伴い PIC : POC を低下させたが、24–26 時間後では

$p\text{CO}_2$ の違いによる PIC : POC の変化は見られなかった。すなわち、短期間曝露による応答と長期間曝露による適応は異なる結果をもたらす可能性が高いと言える。このことから、適応後の実験値を得るためには、適応前の細胞が分析の際に検出されないように、実験と同じ環境条件下においてあらかじめ培養株を順応させる必要がある (LaRoche *et al.*, 2010)。LaRoche *et al.* (2010) に従えば、実験前の培養における適応期間は 5 世代以上とし、実験では 5–10 世代を経た細胞を分析に供することで、培養初期の細胞は 0.1–1.5% 以下に希釈される計算となる。また、培養実験では光合成、呼吸並びに石灰化などの生物活動の全てが海水の炭酸系を変化させるため、一定の pH 環境下における植物プランクトンの応答を観察する場合には培養容器内のバイオマスをなるべく低くして実験を行う必要がある (Shi *et al.*, 2009)。

単離培養株の使用の際にも注意すべき点がある。一般的に培養株は高細胞数密度で維持されるため、高 pH の環境に適応している可能性がある。すなわち、単離後の培養の履歴によって、同じ培養株を用いて同じ実験を行っても結果が異なる可能性がある (cf. Collins and Bell, 2004)。しかしながら、これまで生物学の理論の多くは長期的に培養されているモデル生物によって確立されている。例えば、珪藻において初めて全塩基配列が解読された *Thalassiosira pseudonana* CCMP1335 は 1958 年に単離培養株が確立されている (Armbrust *et al.*, 2004)。すなわち、モデル生物は生物学的な研究の対象としては極めて重要であるが、自然環境の変化に対する適応・応答性に関して言及するための研究材料としては適していないのかも知れない。著者の研究においてモデル藻類以外を用いる時は、目的となる藻類の単離から 1–2 年以内に実験を遂行するように努めている (e.g. Sugie and Kuma, 2008; Sugie *et al.*, 2010)。Lakeman *et al.* (2009) 並びに LaRoche *et al.* (2010) は単離直後に増殖してきた細胞並びに実験の試料となる細胞の塩基配列を読むこと、または将来の遺伝子分析・解析ために保管し、実験結果の要因分析と再現性を確保することを推奨している。

将来の海洋酸性化の現象が顕在化した環境を想定した実験を行う時は、数時間程度から数週間の短期的なバッチ培養法や連続・半連続培養法による実験から、数カ月

にも及ぶ長期的な連続・半連続培養法による実験の結果を比較することが有力な方法の一つであると考えられる。また、海洋酸性化による影響が種内でもしばしば異なるため (7 章を参照)、種間だけでなく種内の偏差を把握することも極めて重要である (cf. Lakeman *et al.*, 2009)。さらには、海洋酸性化が自然環境に及ぼす影響に関して実験する際の培養株は可能な限り新しく単離された株を用いることが望ましい。凍結保存が可能な培養株は、維持培養による変質を最小限にすることが可能である (Lakeman *et al.*, 2009)。休眠胞子を形成する藻類、特に珪藻では単離培養株を作出した後に窒素の枯渇等により休眠させることで、少なくとも数年にわたり保管が可能となる。珪藻の休眠胞子は実験前に発芽させることで実験時における細胞の状態を一定に保つことができる。また、論文を執筆する際は、培養株のための海水試料を採集した場所、採水または単離した日時、株の維持管理環境などの履歴を明記する必要がある。

5.2.2 自然プランクトン群集を用いた実験法

自然環境で起こり得る現象を把握するためには海水成分並びにプランクトン群集の状態をできる限り変化させることなく pH を操作して実験を行うことが重要である。しかしながら、自然プランクトン群集を用いた研究では植物プランクトンの増殖過程における pH の変化の影響を把握するために、栄養塩または鉄を添加することで環境中の不確定な要因を pH のみとしていることが多い (Tables 3, 4)。自然の海洋環境では年間の大半が栄養塩または鉄をはじめとした微量元素が植物プランクトンの増殖の制限因子となっているため (e.g. Moore and Braucher, 2008; Saito *et al.*, 2008a), pH の低下と制限因子との相互作用を考慮した実験系が必要である。pH 変化並びに制限因子の双方の影響を明らかにするためには、pH を変化させるとともに、制限因子の添加および無添加の 2 系列におけるプランクトン群集の応答を比較することが望ましい。また、自然プランクトン群集を用いた実験では適応期間を設けることが難しく、多くの研究では短期間の環境変化に対する応答に相当する結果を海洋酸性化の影響評価としている。自然群集に連続培養法を応用したとしても、適応させる間に自然の状態

Table 4. Comparison of incubation methodology and results of bottle experiments. Abbreviations. n.d.: no data available, FSW: filtered seawater, DIC: dissolved inorganic carbon, V_{\max} : maximum uptake rate of DIC, K_s : half saturation constant for DIC, eCA: extracellular carbonic anhydrase.

Region	Examined $p\text{CO}_2$ (μatm) /pH	Addition of Fe (nM), N, P Si (μM)	Mesozoo plankton	Method	Result	Ref. No.
Equatorial Pacific (coastal)	150/8.5 750/7.9	No	n.d.	Exchanged ~90% of seawater at 3 and 8 day of incubation using 0.45 μm FSW in 4 L bottles, i.e., semi-continuous culture. $x\text{CO}_2$ controlled air was bubbled during 11 days of incubation.	<i>Phaeocystis</i> increased under low- $p\text{CO}_2$ condition white diatoms increased under high- $p\text{CO}_2$ condition.	1
Southern Ocean (RossSea)	100/n.d. 380/n.d. 800/n.d.	FeCl ₃ : 1	Not eliminate	Same semi-continuous incubation system described in ref. No. 1 but used 0.2 μm FSW. Experiments lasted for 10 to 18 days.	<i>Phaeocystis</i> increased under low $p\text{CO}_2$. <i>Chaetoceros</i> become dominate relative to <i>Pseudo-nitzschia</i> with the increase in $p\text{CO}_2$.	2
	100/n.d. 380/n.d. 800/n.d.	FeCl ₂ : 1	Not eliminate	Same as ref. No. 2 for semi-continuous system and incubated for 8 days.	No detectable community shift due to $p\text{CO}_2$ variation	3
	100/n.d. 380/n.d. 800/n.d.	Fe ³⁺ : 1	Not eliminate	Same as described in ref. No. 2. Incubation period not available.	Increase in V_{\max} of DIC under high $p\text{CO}_2$, but constant K_s . Diatoms seems to have high eCA activity.	4
	380/8.13 760/7.85	FeCl ₃ : 1/No	200 μm mesh	First 5 days batch incubation with bubbling, and continuous incubation for subsequent 13 days using 2.7 L bottles. 40% of FSW exchanged per day.	No detectable change in nutrient stoichiometry. <i>Chaetoceros</i> increased relative to <i>Cylindrotheca</i> . Haptophyceae decreased under low-light and high $p\text{CO}_2$.	5
Bering Sea	150/n.d. 750/n.d.	Fe ³⁺ : 5	n.d.	Same as described in ref. No. 1. Incubation period not available.	No noteworthy results obtained in terms of primary production, nutrient drawdown, calcification, phytoplankton community composition.	6

から変化することは避けられない (e.g. Feng *et al.*, 2010)。このことから、自然群集を用いた実験系の理解を向上させるためには、先述の通り、室内実験において短期間と長期間の pH の変化に対する応答性を比較することで自然群集を用いた実験結果の解釈を向上させることが重要だと考えられる。その他、培養タンク (ボトル) 内のバイオマスの増減に伴う pH の変化に関しては単離培養株における注意点と同じである。

自然プランクトン群集を用いた実験を行う際は、pH の変化以外にも群集組成を変化させる要因がある。例えば、自然海水を実験装置に採取する際に、しばしばメッシュを用いて大型動物プランクトンは除去される (Tables 3, 4)。しかしながら、カイアシ類等のメソ動物プランクトンを培養容器内から除去すれば、栄養カスケードの効果により群集内の捕食-被食のバランスが変化し、生態系の構造は自然の状態から変化する (e.g. Zöllner

Table 4. Continued

Region	Examined $p\text{CO}_2$ (μatm) /pH	Addition of Fe (nM), N, P Si(μM)	Mesozoo plankton	Method	Result	Ref. No.
Bering Sea	370/n.d. 750/n.d.	FeCl ₃ : 0.5/1 N : 4 P : 1 Si : 8	Not eliminate	Bubbling for the first 3 days of batch incubation. Continuous incubation for subsequent 10 days using 2.5 L bottles. 40% of seawater exchanged daily by 0.2 μm FSW.	Decrease in diatom abundance under high $p\text{CO}_2$ and high $p\text{CO}_2$ -high temperature conditions (+4.7°C).	7
North Atlantic	390/8.05 690/7.85	N : 5 P: 0.31	200 μm mesh	Bubbling for the first 3 days of batch incubation, and continuous culture for subsequent 14 days using 2.7 L bottle. 50% of seawater exchanged daily by 0.2 μm FSW.	<i>Pseudo-nitzschia</i> increased relative to <i>Cylindrotheca</i> under high $p\text{CO}_2$ condition. Calcium carbonate production decreased under high- $p\text{CO}_2$ high-temp. (+4°C) condition.	8
Eastern subarctic North Pacific	120-165/ 8.39-8.5 760-1204/ 7.58-7.77	Fe ¹ : 2/No	Not eliminate	For 3.5 to 5.5 days batch incubations using 4 L LDPE cubitanors. $p\text{CO}_2$ manipulations were done by acid-base additions.	Primary production increased under high CO_2 and Fe-limited condition. Photosynthetic proteins and CCMs were down-regulated at high CO_2 , attributing to energy saving or decreased respi respiration.	9
Eastern subarctic North Pacific	~250/8.2 ~800/7.75	No	n.d.	Either $x\text{CO}_2$ controlled air bubbling or HCl or NaOH addition. After 1.5 to 9 days of batch incubations, 6 to 9 hours of ¹⁴ C uptake was measured for POC and PIC productions.	POC production and calcification rates, and calcite-to-POC ratio were decreased with increase in $p\text{CO}_2$.	10
Okhotsk Sea	150/8.40 280/8.18 480/7.97 590/7.90	No	243 μm mesh	14 days batch incubation using 9 L PC bottles. $p\text{CO}_2$ manipulations were done by bubbling of $x\text{CO}_2$ controlled air.	Diatom dominance and DOM production decreased with increase in $p\text{CO}_2$.	11

References. 1: Tortell *et al.*, 2002; 2: Tortell *et al.*, 2008a; 3: Tortell *et al.*, 2008b; 4: Tortell *et al.*, 2010; 5: Feng *et al.*, 2010; 6: Martin and Tortell 2006; 7: Hare *et al.*, 2007; 8: Feng *et al.*, 2009; 9: Hopkinson *et al.*, 2010; 10: Riebesell *et al.*, 2000; 11: Yoshimura *et al.*, 2010.

*1: Chemical formation of Fe is not described in the reference.

et al., 2009)。メソ動物プランクトンを除去した場合、その餌サイズである珪藻や繊毛虫への捕食圧が低下するため、珪藻が増殖し易く、繊毛虫の餌であるナノ・ピコプランクトンの優占度が低下し易いと考えられる。しかしながら、数リットル程度のボトル実験ではメソ動物プランクトンの捕食圧がボトル間で不均一になりやすいため、あらかじめ除去するのが一般的である。メソ動物プ

ランクトンの効果を明らかにするためには、通常通りメソ動物プランクトンを除去した実験系に加え、メソ動物プランクトンを一旦除去し、ボトル間で均一になるように選別した後、再度添加する実験法が有効である。一方では、大容量のメソコスモ実験では動物プランクトンを含めた評価が可能となり、自然環境に近い条件で実験が行えることが大きなメリットである。また、メソコスモ

Table 5. Effect of the increase in $p\text{CO}_2$ against present value ($\sim 380 \mu\text{atm}$) on primary productivity or maximum carbon fixation/uptake rate (PP, P_{max} or V_{max}) and carbon uptake affinity (photosynthetic efficiency: α or half saturation constants: K_s for DIC), and elemental compositions (POC : N and POC : P). pH is total hydrogen scale unless special instruction. The increase of α and the decrease of K_s represent the increase of affinity for DIC, and vice versa. Left to right values in the elemental compositions represent the change from present $p\text{CO}_2$ ($\sim 380 \mu\text{atm}$) to the highest $p\text{CO}_2$ examined. n.d.: no data available or not determined; accri.: accrimation period; exp.: experimental period.

Species and strain code	Method	Highest $p\text{CO}_2$ (μatm)	Low-est pH	Day of incubation accri./exp.	PP, P_{max} or V_{max} (%)	C-uptake affinity	POC : N	POC : P	Ref. No.
BACILLARIOPHYCEAE									
<i>Asterionellopsis glacialis</i> (AWI)	Acid/base	$\sim 1000^{*1}$	7.8^{*8}	$> 5/4$	n.d.	n.d.	$8.8 \rightarrow 9.0$	constant at ~ 105	1
<i>Attheya</i> sp. (CCMP207)	$x\text{CO}_2$ air bubbling	~ 670	7.9	n.d./28-56	20% increase constant	n.d.	constant at ~ 7 constant at ~ 7	$150 \rightarrow 250$ constant at ~ 120	2^{*2}
<i>Coscinodiscus wailesii</i> (AWI)	Acid/base	$\sim 800^{*1}$	7.8^{*8}	$> 5/4$	n.d.	n.d.	$8.8 \rightarrow 8.3$	$76 \rightarrow 81$	1
<i>Eucampia zodiacus</i> (North Sea)	$x\text{CO}_2$ air bubbling	800	7.9^{*8}	$3/\ll 1$	9% increase	K_s increase	n.d.	n.d.	3
<i>Nitzschia navis-varingica</i> (VHL987)	Acid/base	~ 800	7.8^{*8}	$7/\ll 1$	constant	K_s increase	n.d.	n.d.	5
<i>Phaeodactylum tricornutum</i> (AWI)	Acid/base	$\sim 900^{*1}$	7.8^{*8}	$> 5/4$	n.d.	n.d.	$6.6 \rightarrow 6.5$	constant at 73	1
<i>P. tricornutum</i> (CCAP1052/1A)	$x\text{CO}_2$ air bubbling	1800	7.6^{*8}	$2/\ll 1$	constant	K_s increase	n.d.	n.d.	4
<i>Pseudo-nitzschia multiseries</i> (OKPm013-2)	Acid/base	~ 800	7.9^{*8}	$7/\ll 1$	constant	K_s increase	n.d.	n.d.	5

の深さを確保することで沈降粒子や光量の鉛直勾配の調査が可能になることは、ボトルによる実験と比較して大きなメリットとして挙げられる。その他、添加する栄養塩の量や窒素、リン、ケイ素の比によっても培養により増殖してくる群集が変わるため、実験結果と自然界で起こり得ることとの違いには注意を要する (7章を参照)。しかしながら、ある事象を解釈するための実験を行う際は海洋と比較して圧倒的に小型である何らかの容器内に海水を閉じ込めて行わなければならない。このとき、容器の効果によって種間競争に不均衡が生じるため

(Naeem, 2009)、自然海洋環境で起こり得る現象へと考察を進める時には、培養実験の結果には常に何らかのバイアスがかかっていることを念頭に置く必要がある。

6. 単種植物プランクトン培養試験

これまでに、海洋生態系において重要な分類群である、珪藻、ハプト藻、渦鞭毛藻、ラフィド藻およびシアノバクテリアの単離培養株を用いた研究が行われてきた (Table 5)。以下ではそれぞれの植物プランクトン分類

Table 5. Continued

Species and strain code	Method	Highest $p\text{CO}_2$ (μatm)	Lowest pH	Day of incubation accri./exp.	PP, P_{max} or V_{max} (%)	C-uptake affinity	POC : N	POC : P	Ref. No.
<i>P. multiseriis</i> (CCMP2708)	xCO ₂ air bubbling	~730	7.95	n.d./~35	5–20% increase	α constant	constant at ~8.5	~85 → 99	6
<i>Skeletonema costatum</i> (AWI)	Acid/base	~800 ^{*1}	7.8 ^{*8}	> 5/4	n.d.	n.d.	constant at 6.1	69 → 72–82	1, 7
<i>S. costatum</i> (CCMP1332)	xCO ₂ air bubbling	800	7.9 ^{*8}	3/≪≪ 1	20% increase	K_s increase	n.d.	n.d.	8
<i>S. costatum</i> (North Sea)	xCO ₂ air bubbling	1800	7.4 ^{*9}	3/≪≪ 1	constant	K_s increase	n.d.	n.d.	9
<i>Stellarima stellaris</i> (Denmark)	Acid/base	~800	7.9 ^{*8}	7/≪≪ 1	constant	K_s increase	n.d.	n.d.	5
<i>Thalassionema nitzschioides</i> (North Sea)	xCO ₂ air bubbling	800	7.9 ^{*8}	3/≪≪ 1	constant	K_s increase	n.d.	n.d.	8
<i>Thalassiosira punctigera</i> (AWI)	Acid/base	~900 ^{*1}	7.8 ^{*8}	> 5/4	n.d.	n.d.	7.4 → 7.2	constant at 35	1
<i>Thalassiosira weissflogii</i> (AWI)	Acid/base	~800 ^{*1}	7.8 ^{*8}	> 5/4	n.d.	n.d.	constant at 8.1	63 → 60	1
<i>T. weissflogii</i> (CCMP1336)	xCO ₂ air bubbling	770	7.81	11/6 11/6	n.d.	n.d.	5.7 → 5.5 constant at 5.5	96 → 88 80 → 82	10 ^{*3}
<i>T. weissflogii</i>	xCO ₂ air bubbling	1800	7.6 ^{*8}	2/≪≪ 1	small increase	K_s increase	n.d.	n.d.	4
<i>Thalassiosira pseudonana</i> (CCMP1335)	xCO ₂ air bubbling	800	7.9 ^{*8}	3/≪≪ 1	constant	K_s decrease	n.d.	n.d.	8

群に対する pH の低下の影響に関して順に述べる。

6.1 珪藻への影響

珪藻は全海洋の一次生産の約 40%を生産し、中層以深への炭素輸送量の 50%以上を担っていると考えられ、海洋生態系並びに物質循環の鍵となる生物群である (Smetacek, 1999; Martin-Jézéquel *et al.*, 2000; Tréguer and Pondaven, 2000; Sarthou *et al.*, 2005)。すなわち、海水の pH の低下に対して珪藻が何らかの応答を示せば海洋生態系および物質循環に大きな影響を与

え得る。まず、 $p\text{CO}_2$ の上昇による最大光合成速度の変化を見ると、調べられた 10 種 12 株のうち 5 株で上昇したが、上昇率は高くとも約 20%であり、その他の株では光合成速度に変化は見られなかった (Table 5)。また、調べられた珪藻種は $p\text{CO}_2$ の上昇により DIC に対する親和性を低下させており (Table 5)、さらに増殖速度の変化も小さかった。このことは、CCMs へのエネルギー投資量を低下させた結果だと考えられる (Hopkinson *et al.*, 2010, 2011)。または、増殖速度の項目において数%のエネルギー投資率の違い (4 章: Hopkinson *et al.*, 2011) を、高感度に定量化できていない、もしくは

Table 5. Continued

Species and strain code	Method	Highest $p\text{CO}_2$ (μatm)	Low-est pH	Day of incubation accri./exp.	PP, P_{max} or V_{max} (%)	C-uptake affinity	POC : N	POC : P	Ref. No.
DINOPHYCEAE									
<i>Prorocentrum minimum</i> (CCMP2233)	xCO_2 air bubbling	750	7.7 ^{*9}	n.d./> 10	3–43% increase	α increase	~7.4 → ~7.0 constant at 6.5	constant at 134 85 → 154	11 ^{*4}
<i>Scrippsiella trochoidea</i> (AWD)	Acid/base	~900 ^{*1}	7.8 ^{*8}	> 5/4	n.d.	n.d.	constant at ~9	constant at ~100	1
RAPHIDOPHYCEAE									
<i>Heterosigma akashiwo</i> (CCMP2393)	xCO_2 air bubbling	750	7.7 ^{*9}	n.d./> 10	~60% increase	α increase	7.0 → 7.8 constant at 7.9	107 → 116 129 → 167	11 ^{*4}
PRYMNESIOPHYCEAE									
<i>Coccolithus braarudii</i> (RCC1200)	Acid/base	930	7.6 ^{*8}	35/35	n.d.	n.d.	constant at 10	n.d.	12
<i>Emiliana huxleyi</i> (CCMP371)	xCO_2 air bubbling	750	7.9	3/> 6	~20% increase	α increase	6.1 → 7.0 5.8 → 6.7	91 → 124 82 → 109	13 ^{*5}
<i>E. huxleyi</i> (Isolated during PeECE III)	Acid/base	1150	7.6 ^{*8}	~60/~40	n.d.	n.d.	constant at 8.5	n.d.	12
<i>E. huxleyi</i> (PML B92/II)	xCO_2 air bubbling	1800	7.4 ^{*9}	3/<< 1	~10% decrease	constant	n.d.	n.d.	9
<i>Phaeocystis globosa</i> (North Sea)	xCO_2 air bubbling	1800	7.4 ^{*9}	3/<< 1	~7% increase	K_s increase	n.d.	n.d.	9

論議の対象としていないことが原因の1つとも考えられ、再現性の高い結果が要求される。

pHの低下によって光合成速度が上昇する傾向にあった種は沿岸性で大增殖を引き起こす *Skeletonema costatum* (e.g. Itakura, 2000) や *Pseudo-nitzschia mutiseries* (e.g. Schnetzer et al., 2007) であった (Trimborn et al., 2008, 2009)。これらの種は CO_2 と HCO_3^- との取り込み比を外部環境によって変える能力を持つか、または、取り込み比が約1:1であり、pHの日・季節変動が大きい沿岸域に生息し、優占するために、炭酸(塩)の摂取機構を外部環境に応じて変化させ

られることは大きなメリットだと考えられる (Trimborn et al., 2008, 2009)。近年の報告では、鉄律速および鉄が豊富な環境下における珪藻 *Thalassiosira weissflogii* は海水の $p\text{CO}_2$ が $100 \mu\text{atm}$ (pH ~8.55) から $750 \mu\text{atm}$ (pH ~7.88) に上昇した時、細胞表面のpHも海水と同等の値に低下し、細胞外に排出される溶存有機物(リンゴ酸)量の増加並びに生体内酵素(PEPCase)活性の低下が観察されている (Milligan et al., 2009)。すなわち、 $p\text{CO}_2$ の上昇により生体内に供給される $\text{CO}_2(\text{aq})$ が上昇することで、 C_4 の炭素固定回路へのエネルギー投資を減少させていた可能性が考えられる。

Table 5. Continued

Species and strain code	Method	Highest $p\text{CO}_2$ (μatm)	Lowest pH	Day of incubation accri./exp.	PP, P_{max} or V_{max} (%)	C-uptake affinity	POC : N	POC : P	Ref. No.
<i>Pleurochrysis carterae</i>	CO ₂ -saturated seawater	1200	7.7 ^{*8}	0/7	~40% increase	n.d.	constant	n.d.	14
CYANOBACTERIA									
<i>Crocospaera watsonii</i> ^{*6} (WH8501)	xCO ₂ air bubbling	750	7.9	n.d./~20	25–40% increase	α increase	6.9 → 7.3 6.3 → 6.5	130 → 140 101 → 104	15 ^{*3}
<i>Nodularia spumigena</i> ^{*6} (IOW-2000/1)	Acid/base	740	7.95	20/7	n.d.	n.d.	6.1 → 7.0	constant at 170	16
<i>Prochlorococcus marinus</i> (CCMP1986)	xCO ₂ air bubbling	750	7.8 ^{*9}	> 14/> 5	constant	constant	constant at 6.2	107 → 117	17 ^{*5}
					constant	constant	constant at 6.2	108 → 113	
<i>Synechococcus</i> sp. (CCMP1334)	xCO ₂ air bubbling	750	7.8 ^{*9}	> 14/> 5	60% increase	α increase constant	5.7 → 5.2 5.2 → 4.9	112 → 130 94 → 114	17 ^{*5}
<i>Trichodesmium erythraeum</i> (GBR) ^{*6}	xCO ₂ air bubbling	750	7.69	n.d./~15	30–55% increase	α increase	constant at 4.9	85 → 95 107 → 118	18 ^{*7}
<i>T. erythraeum</i> (IMS101) ^{*6}	xCO ₂ air bubbling	750	7.69	n.d./~15	80–110% increase	α increase	5.1 → 5.2 5.1 → 4.7	90 → 99 105 → 96	18 ^{*7}
<i>T. erythraeum</i> (IMS101) ^{*6}	Acid/base	850	7.8	~60/~6	n.d.	n.d.	constant at ~5.2	82 → 124	19
<i>T. erythraeum</i> (IMS101) ^{*6}	xCO ₂ air bubbling	~900	7.8 ^{*9}	n.d./45–60	n.d.	n.d.	constant at 6.5 6.5 → 7.0 ^{*10}	scattered	20, 21

これらのことは、将来の沿岸域では $p\text{CO}_2$ の上昇により光合成速度が上昇することによって珪藻ブルームの発達速度が速くなる可能性があり、高次捕食者にとっては餌生物との遭遇期間が短くなり得る。すなわち、海水の pH の低下は間接的に高次栄養段階へのエネルギーの転送にまで影響を及ぼす可能性を秘めている。しかしながら、実験が行われたほぼ全ての種が温帯から亜熱帯の沿岸域に生息する種であり、pH の低下に対する外洋性および亜寒帯から極域に生息する珪藻種の応答に関する知見は著しく不足している (9 章を参照)。

CCMs の鍵となる役割をもつ酵素の 1 つである CA

は亜鉛、コバルトおよびカドミウムを補因子とすることが知られている (Price and Morel, 1990; Morel *et al.*, 1994; Xu *et al.*, 2008)。そこで King *et al.* (2011) は pH が 8.14 ($p\text{CO}_2$: ~380 μatm) から 7.9 (同 : ~670 μatm) に低下した環境における鉄、コバルト、亜鉛およびカドミウムの要求量に関する研究を行った。バイオマスの指標としてのリンと、それぞれの金属の比は pH の低下と共に減少し、少量の鉄、コバルト、亜鉛並びにカドミウムで増殖することを示した。すなわち、彼らの研究で用いた珪藻種 (*Attheya* sp.) は CA の量を減らすことで微量元素の要求量を低下させていたと考えられ

Table 5. Continued

References. 1: Burkhardt *et al.*, 1999; 2: King *et al.*, 2011; 3: Trimborn *et al.*, 2009; 4: Burkhardt *et al.*, 2001; 5: Trimborn *et al.*, 2008; 6: Sun *et al.*, 2011; 7: Burkhardt *et al.*, 1997; 8: Trimborn *et al.*, 2009; 9: Rost *et al.*, 2003; 10: Sugie unpublished data; 11: Fu *et al.*, 2008a; 12: Müller *et al.*, 2010; 13: Feng *et al.*, 2008; 14: Casareto *et al.*, 2009; 15: Fu *et al.*, 2008b; 16: Czerny *et al.*, 2009; 17: Fu *et al.*, 2007; 18: Hutchins *et al.*, 2007; 19: Barcelos e Ramos *et al.*, 2007; 20: Levitan *et al.*, 2007; 21: Levitan *et al.*, 2010.

Abbreviations of the strain code. AWI: Alfred Wegener Institute; CCAP: The Culture Collection of Algae and Protozoa; CCMP: The Provasoli-Guillard National Center for Culture of Marine Phytoplankton; GBR: Great Barrier Reef; IOW: Institut für Ostseeforschung Warnemünde; OKPm: Okkiray Bay, Iwate Prefecture, Japan; PML: Plymouth Marine Laboratory; RCC: The Roscoff Culture Collection; VHL: Ha Long Bay, Vietnam; WH: Woods Hole Oceanographic Institution. IMS cannot yet to be defined (CCMP office, personal communication).

*1: $p\text{CO}_2$ is estimated using $\text{DIC}=2100 \mu\text{mol kg}^{-1}$

*2: Upper and lower case represent the data under vitamin B₁₂ replete and limited conditions, respectively.

*3: Upper and lower case represent the data under Fe-replete and Fe-limited conditions, respectively.

*4: Upper and lower case represent the data under 20°C and 24°C cultivations, respectively

*5: Data obtained under high-light condition. Upper and lower case represent the data under 20°C and 24°C cultivations, respectively

*6: Diazotrophic species

*7: Data used under P-replete cultivations. Upper and lower case represent the data under 25°C and 29°C cultivations, respectively

*8: Measured with NBS scale.

*9: Estimated by author using medium composition, concentration of bubbled air CO₂ and DIC, etc because of the lack of data.

*10: Upper and lower case represent the data reported Levitan *et al.*, (2010) and Levitan *et al.*, (2007), respectively.

る (King *et al.*, 2011)。上記の研究から、pH の変化は DIC を同化する過程に影響を及ぼし、その結果、細胞の微量元素組成をも変化させることが明らかになりつつある。

珪藻は被殻の構成のためにケイ素を必須元素とし、珪藻によるケイ素の取り込みと被殻の溶解の動態は海洋のケイ素循環を駆動させている (e.g. Tréguer and Pondaven, 2000; Sarthou *et al.*, 2005)。珪藻の動態を理解する上でケイ素動態の把握は必須であるにもかかわらず、pH の変化がケイ素動態に及ぼす影響に関する報告は少ない。750 μatm と 100 μatm 、それぞれの $p\text{CO}_2$ 環境において増殖した *T. weissflogii* は、高 $p\text{CO}_2$ において増殖した時の方が、ケイ酸被殻の溶解速度および細胞内からのケイ素の流出速度が、それぞれ約 5 倍および約 2.4 倍早くなることが報告されている (Milligan *et al.*, 2004)。ケイ素の溶出率が高いことは表層で生産された粒子の有機炭素：ケイ素比 (POC : Si) が高くなることを意味する。このことは、有機炭素を下方輸送させる効果が高い生物群である珪藻による炭素固定量の増加、ひいては大気中の CO₂ 濃度を抑制する効果があると言える (8.1 節を参照)。

Pseudo-nitzschia 属の数種および *Nitzschia navis-varingica* などの羽状目珪藻の一部の種は神経毒性のアミノ酸であるドゥモイ酸 (Domoic acid: DA) を生産し、生態系並びに水産業に影響を与える。*P. multiseriata* は、pH の上昇に伴う CO₂ 制限が引き金となって DA を生産する可能性が指摘されている (Lundholm *et al.*, 2004)。しかしながら、バッチ培養における *P. multiseriata* は HCO₃⁻ を効率よく摂取できることが明らかとなり、高 pH が直接 DA 生産の引き金とはならないこと並びに低 pH (7.9) の環境下では DA 生産量が低下することが報告された (Trimborn *et al.*, 2008)。その一方では、鉄律速によって DA 生産が上昇する報告もあり (Wells *et al.*, 2005)、もし、pH の低下によって鉄の生物学的利用性が低下することがあれば (Shi *et al.*, 2010; 9.2 節を参照)、DA 生産量が上昇する可能性も考えられる。さらに、Sun *et al.* (2011) は、半連続培養における *P. multiseriata* は pH の低下により DA 生産量を増加させることを報告している。同様に渦鞭毛藻の *Karlodinium veneficum* においても低 pH の環境において細胞毒であるカルロトキシンの生産量が増加したことが報告され (Fu *et al.*, 2010)、海洋酸性化に伴う有

Table 6. Effect of the increase in $p\text{CO}_2$ on calcification by coccolithophores from $\sim 380 \mu\text{atm}$ to the highest $p\text{CO}_2$ examined. pH is total hydrogen scale unless special instruction. accri.: accrimation period; exp.: experimental period; n.d.: no data available.

Species	Strain code	PAR ($\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$), L/D cyde	Temp. ($^{\circ}\text{C}$)	Nutrients	Methods	Highest $p\text{CO}_2$ (μatm)	Lowest pH	Day of incubation accri./exp.	POC production rate	PIC/POC	Ref. No.
<i>Emiliana huxleyi</i>	CAWPO6	150 (12 : 12-h)	19	replete	xCO_2 air bubbling	790	~ 7.8	$\sim 9/1.5-3$	increase $\sim 100\%$	constant** ²	1* ¹
		50 (12 : 12-h)	20	replete	xCO_2 air bubbling	750	~ 7.9	3/>6	constant	constant	2
		50 (12 : 12-h)	24	replete	xCO_2 air bubbling	750	~ 7.9	3/>6	constant	constant	2
		400 (12 : 12-h)	20	replete	xCO_2 air bubbling	750	~ 7.9	3/>6	constant	decrease 58%	2
		400 (12 : 12-h)	24	replete	xCO_2 air bubbling	750	~ 7.9	3/>6	likely decrease	decrease 50%	2
	CCMP371	300 (16 : 8-h)	15	replete	xCO_2 air bubbling	706	$\sim 7.8^{*4}$	> 5/4	constant	constant	3
	Ch24-90	150 (24 : 0-h)	20	replete	xCO_2 air bubbling	750	7.8	n.d/4-5	increase 35%	increase 6%	4
	PLY219	150 (24 : 0-h)	20	replete	Acid/base	730	7.8	n.d/4-5	increase 35%	increase 6%	4
	PML B92/11	150 (24 : 0-h)	15	replete	Acid/base	800	~ 7.8	6/6	increase $\sim 10\%$	decrease $\sim 15\%^{*3}$	5, 6
TW1	570 (24 : 0-h)	17	N-limit	Acid/base	707	7.82	0/16	decrease $\sim 15\%$	constant** ²	7	

害赤潮藻類による毒生産にも注目が集まっている (6.3 節参照)。しかしながら、pH の変化に対する *P. multiseriis* の DA 生産に関する結果は Lundholm *et al.* (2004) および Trimborn *et al.* (2008) と Sun *et al.* (2011) とは逆の傾向にある。現状では実験方法の違いや細胞の生理状態さらには株の違いによって DA 生産性に違いが生じたと結論付けられている (Sun *et al.*, 2011)。DA 生産性の鍵となる要因は主にリン欠乏であるが (e.g. Hagström *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2011), DA 生産に複合的な影響を与えるその他の要因は現状では不明と言える。今後は、pH の変化に対する種内や種間の毒生産性の違いおよび鉄濃度と pH の両要因が変化することによる DA 生産量の変化を明らかにすると共に、DA 生産機構を解明することも重要な課題である。

6.2 ハプト藻への影響

実験に用いられたハプト藻 3 種 4 株の内の全てが pH の低下により最大光合成速度または DIC の最大取り込み速度を 7-40% 増加させており、珪藻と比較して増加率が高い傾向が見られた (Table 5)。珪藻は約 $1000-2000 \mu\text{mol kg}^{-1}$ の DIC で取り込み速度が飽和するが (Burkhardt *et al.*, 2001; Rost *et al.*, 2003; Trimborn *et al.*, 2009), 円石藻 *Emiliana huxleyi* は約 $4000 \mu\text{mol kg}^{-1}$ の高い濃度の DIC 条件下においても炭素の取り込み速度が飽和しないことから (Rost *et al.*, 2003), 円石藻の光合成速度や DIC の取り込み速度は pH の影響を受けやすいと言える。しかしながら、過去の報告値からは円石藻の DIC の取り込み能と pH の変化との間に

Table 6. Continued.

Species	Strain code	PAR ($\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$), L/D cycle	Temp. ($^{\circ}\text{C}$)	Nutrients	Methods	Highest $p\text{CO}_2$ (μatm)	Lowest pH	Day of incubation accri./exp.	POC production rate	PIC/POC	Ref. No.
<i>E. huxleyi</i>	AC481	150 (14 : 10-h)	13	replete	xCO ₂ air bubbling	740	7.6-7.8	6/6	increase ~90%	decrease ~60%	8
		150 (14 : 10-h)	18	replete	xCO ₂ air bubbling	740	7.6-7.8	6/6	likely decrease	constant* ²	8
	Isolated during PeECEIII	150 (14 : 10-h)	15	replete	Acid/base	1591	7.47	0/~1	decrease ~15%	decrease ~40%	9
		140 (14 : 10-h)	16	replete	Acid/base	1150	~7.6* ⁴	~60/~40	decrease ~10%* ³	decrease ~40%* ³	10
	RCC1212	400 (16 : 8-h)	20	replete	Acid/base	1200	7.77* ⁴	~9/n.d	decrease 10%	increase 10%	11
	RCC1216	400 (16 : 8-h)	17	replete	Acid/base	770	7.71	~9/n.d	constant	decrease 30%	12
		150 (14 : 10-h)	17	replete	xCO ₂ air bubbling	915	7.84	n.d/8	constant	constant	11
	RCC1238	400 (16 : 8-h)	20	replete	Acid/base	1096	7.83* ⁴	~6/n.d.	decrease 17%	decrease 12%* ²	11
	RCC1256	400 (16 : 8-h)	17	replete	Acid/base	1200	7.81	~7/n.d	decrease 4%	decrease 30%	13
	<i>Pleurochrysis carterae</i>		400 (15 : 9-h)	21-24	n.d.	CO ₂ -saturated seawater	1200	7.7* ⁴	0/7	constant	constant

明瞭な傾向は見られなかった (Table 5)。これらは、円石藻は細胞外の DIC 濃度に応じて CCMs を再構築する能力が低いこと、並びに細胞外の CO_{2(aq)} 濃度の上昇により細胞内への DIC の流入量が増加した結果と捉えることができる。

海水の pH の低下は Ω を低下させるため、海洋酸性化実験の中で炭酸カルシウムの殻 (=円石) を生成する円石藻の単離培養に関する報告は多い (Table 6)。特に、pH の低下による円石の生成量の変化や奇形に関して精力的に研究が行われている。一般的に、円石の生成は細胞分裂周期の G1 期に起こると考えられており、続く S 期に至るまで円石を作り続ける (Müller *et al.*, 2008)。G1 期を延長させると考えられるリン、亜鉛および光律速によって円石の生成量は増大し、増殖にとって良好な

環境下では円石の生成量は少なくなる (Schulz *et al.*, 2004; Zondervan, 2007; Müller *et al.*, 2008)。一方で、円石の奇形は pH の変化の影響として特有な現象と言える。円石の形態は種の判断基準でもあることから遺伝的に決定されていると考えられるため、数週間程度の実験であれば、円石の奇形は pH の変化によってその生成に関わる遺伝情報が変異したことが原因と考えるよりは、生成過程における細胞内の pH の変化や細胞外で溶解する可能性の方が高いと考えられている (Zondervan, 2007; Richier *et al.*, 2011)。しかしながら、細胞外における円石の溶解を論議する際は、培地の炭酸カルシウムの飽和度についても留意して検討すべきである (下記参照)。

低 pH 環境において増殖した円石藻は円石の生成量を

Table 6. Continued.

Species	Strain code	PAR ($\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$), L/D cyde	Temp. ($^{\circ}\text{C}$)	Nutrients	Methods	Highest $p\text{CO}_2$ (μatm)	Lowest pH	Day of incubation accri./exp.	POC production rate	PIC/POC	Ref. No.
<i>Gephyrocapsa oceanica</i>	PC7/1	150 (18 : 6-h)	15	replete	Acid/base	850	~7.8	6/6	increase ~30%	decrease ~40% ^{*3}	5,6
<i>Calcidiscus leptoporus</i>	AC365	350 (16 : 8-h)	20	replete	Acid/base	920	~7.86 ^{*4}	> 12/n.d.	constant	decrease ~30% ^{*3}	14
<i>Coccolithus pelagicus</i>	AC400	350 (16 : 8-h)	17	replete	Acid/base	915	~7.81 ^{*4}	> 12/n.d.	constant	constant	14
<i>Coccolithus braarudii</i>	RCC1200	140 (14 : 10-h)	16	replete	Acid/base	930	~7.6 ^{*4}	35/35	decrease ~45% ^{*3}	decrease 70% ^{*3}	10

References. 1: Iglesias-Rodriguez *et al.*, 2008b; 2: Feng *et al.*, 2008; 3: Buitenhuis *et al.*, 1999; 4: Shi *et al.*, 2009; 5: Riebesell *et al.*, 2000; 6: Zondervan *et al.*, 2001; 7: De Bodt *et al.*, 2010; 8: Sciandra *et al.*, 2003; 9: Barcelos e Ramos *et al.*, 2010; 10: Müller *et al.*, 2010; 11: Langer *et al.*, 2006; 12: Richier *et al.*, 2011; 13: Casareto *et al.*, 2009; 14 Langer *et al.*, 2009.

Abbreviation of the strain code. AC and TW: CODENET culture collection, The Natural History Museum, LONDON; CAWPO: The Plymouth Culture Collection of Marine Algae; Ch: North Sea laboratory culture collection; PC: Portuguese shelf laboratory culture. CCMP, PLY and RCC are listed in the legend of Table 5.

*1: The same effect detected in *E. huxleyi* 61/12/4 was observed in *E. huxleyi* CAWPO6 (data not described in Iglesias-Rodriguez *et al.*, 2008b).

*2: Slightly increase in the rate of coccolith malformation.

*3: Relative change was calculated from cell division rate and carbon cell quotas.

*4: Measured with NBS scale.

減少させ (e.g. Riebesell *et al.*, 2000; Riebesell, 2004; Feng *et al.*, 2008), さらには, 奇形の円石が観察された (e.g. Riebesell *et al.*, 2000; Langer *et al.*, 2006)。Riebesell *et al.* (2000) の報告は, 海洋酸性化が円石藻に劇的な影響を与えることを最初に印象付けた。しかしながら, その後の研究では, pH が約 8.1–8.2 (250–400 $\mu\text{atm } p\text{CO}_2$) から 7.7–7.8 (750–1200 $\mu\text{atm } p\text{CO}_2$) へ低下することによって, 円石の形態にほとんど変化が認められない種 (株) が存在することも明らかになった (Langer *et al.*, 2006; Casareto *et al.*, 2009)。さらに, *E. huxleyi* は種内においても株 (クローン) によって pH の低下に対する円石の生成量の応答性が異なり, 円石の奇形率の増加および生成量の低下を示す株から, 生成量の増加を示す株まで存在する (Iglesias-Rodriguez *et al.*, 2008b; Shi *et al.*, 2009; Table 6)。これらの違いは, 種内の僅かな遺伝的な形質の違いが pH の変化に対する応答・適応性に差異を生じさせたものと考えられてい

る (Langer *et al.*, 2009)。また, Table 6 に示した報告値の解析からは円石の生成と水温, 光強度, $p\text{CO}_2$ との関連性は見られず, さらには炭酸系の調整方法並びに培養日数や実験前の適応期間の長さによって実験結果が左右されている可能性も見出せなかった (cf. Hoppe *et al.* 2011)。円石藻の培養が行われた 13–24 $^{\circ}\text{C}$ の範囲では (Table 6), 1900–3000 μatm 以上の $p\text{CO}_2$ で Ω_{cal} が 1 以下となることから, 過去の研究で行われた $p\text{CO}_2$ の範囲内 (<1600 μatm) では, 円石の奇形は細胞外における溶解が主要因ではなく, 細胞内における円石の生成過程に何らかの影響が出た株 (種) が存在した結果と考えられる。

堆積物の解析から, 18 世紀後半から 21 世紀初頭の期間における円石藻 (*Coccolithus pelagicus pelagicus*, *Calcidiscus leptoporus*, *Oolithotus fragilis*, *Helicosphaera carteri*, *Gephyrocapsa caribbeanica*, *Gephyrocapsa muelleriae*, *Gephyrocapsa oceanica*, *E. huxleyi*)

の円石のサイズおよび重量は、大気中の CO₂ 濃度が 260 ppm から 370 ppm に増加しているにもかかわらず増加傾向にあることが報告されている (Iglesias-Rodriguez *et al.*, 2008b; Grelaud *et al.*, 2009)。しかしながら、円石藻の単離培養株を用いた実験からは堆積物中における円石の変化を説明するのに十分な傾向はほとんど得られていない (Table 6)。円石藻による円石の生成能の変化や形態の変化が海洋の炭素循環や沈降粒子束に及ぼす影響に関しては、pH の変化だけでなく、水温、光強度や栄養塩濃度の変化との関連性が重要である (Zondervan, 2007; Iglesias-Rodriguez *et al.*, 2008b; Grelaud *et al.*, 2009)。さらに自然環境においては珪藻などとの種間競争に関して慎重な検討が必要である (e.g. Cermeño *et al.*, 2008)。

6.3 渦鞭毛藻およびラフィド藻への影響

Fu *et al.* (2008a) は実験室の空気 (375 μ atm CO₂ と仮定している) と 750 μ atm CO₂ の空気をバブリングしたことによる渦鞭毛藻 *Prorocentrum minimum* とラフィド藻 *Heterosigma akashiwo* の成長への影響に関して調査した。培地の組成や炭酸系の測定値の記載が無いため、正確な pH の変化は不明であるが、0.1–0.2 の pH の低下によって *H. akashiwo* の増殖速度は 33% 上昇した一方で、*P. minimum* の増殖速度は有意な変化を示さなかったことを報告している (Fu *et al.*, 2008a)。また、Berge *et al.* (2010) は渦鞭毛藻 *P. minimum* に加えて *Heterocapsa triquetra*, *K. veneficum* および *Prorocentrum micans* の増殖速度を調査し、pH を 7.5 (約 1100 μ atm *p*CO₂) まで低下させても増殖速度が変化しないことを報告している。正確な pH 並びに *p*CO₂ の値の記載は無いが Hansen (2002) も pH 7.5 前後において渦鞭毛藻 *Ceratium lineatum*, *H. triquetra* および *P. minimum* の増殖速度が pH 8 前後の時とほとんど変化が無いこと、Hwang and Lu (2000) は pH を 8.5 から 7.5 に低下させた環境における *Alexandrium minutum* の増殖速度と細胞あたりの麻痺性貝毒のゴニオトキシンの生産量に変化が無いことを報告している。一方では、8.0 から 7.9 への pH の低下により *K. veneficum* の増殖速度および細胞毒であるカルロトキシ

ンの生産量が増加した報告もある (Fu *et al.*, 2010)。先述したとおりであるが、有害赤潮藻類の成長に対する pH の影響は高 pH 環境下におけるその他の藻類との炭酸塩の摂取をめぐる競争に関する研究が多く、また pH の測定に関してもガラス電極による値であり正確さに欠ける (pH の測定法に関しては Saito *et al.*, 2008b 並びに Martz *et al.*, 2010 を参照されたい)。報告された値の絶対値の信頼性が低いことは非常に大きな問題であるが (5.1 節)、傾向としては pH の低下によって渦鞭毛藻の増殖速度はあまり上昇しないと考えられる。一方のラフィド藻 *H. akashiwo* は pH の低下によって増殖速度を上昇させており、海洋酸性化の環境では渦鞭毛藻と比較して神経毒のプレヴェトキシンを生産する *H. akashiwo* (Wang, 2008) の優占度が上昇する可能性がある (cf. Fu *et al.*, 2008a)。

6.4 シアノバクテリアへの影響

単独性のシアノバクテリアに対する pH の低下の影響に関する研究では、*Synechococcus* および *Prochlorococcus* を用いた報告がある (Fu *et al.*, 2007)。*Synechococcus* は約 0.2 の pH の低下により増殖速度、最大光合成速度、細胞当りの炭素と窒素の量を増加させた。一方の *Prochlorococcus* は何れの分析項目においても pH の低下に伴う変化は見られなかった (Table 5; Fu *et al.*, 2007)。4 章に記述したとおり、*Synechococcus* は細胞外の CO₂ (aq) を能動的に摂取するチャンネルを有すが、*Prochlorococcus* はそれを持たないことが知られている (Badger and Price, 2003)。すなわち、炭酸系の変化に対応可能な溶存無機炭素の取り込みサイトの有無が *Synechococcus* と *Prochlorococcus* の応答性に違いを生じさせたと考えられる。その結果、将来の低 pH 環境では、両属のシアノバクテリアの競争において *Synechococcus* が優占し易くなることが考えられた (Fu *et al.*, 2007)。

溶存無機窒素以外の栄養塩並びに微量元素が増殖を制限していないとき、窒素固定シアノバクテリアの *Trichodesmium* は *p*CO₂ が約 400 μ atm (pH ~8.2) から 750–900 μ atm (pH ~7.8–7.9) に上昇することによってクロロフィル a 当りの窒素固定速度が最大で約 2 倍

に高まることが報告された (Barcelos e Ramos *et al.*, 2007; Hutchins *et al.*, 2007; Levitan *et al.*, 2007)。低 pH の環境における単細胞性窒素固定シアノバクテリアの *Crocospaera* は鉄の制限を受けていない時のみ炭素量当りの窒素固定速度を上昇させることが明らかになった (Fu *et al.*, 2008b)。しかしながら, Fu *et al.* (2008b) の報告では Fe-EDTA 錯体から解離する溶存無機態の鉄の pH 依存性が考慮されておらず (cf. Sunda and Huntsman, 2003), 高鉄濃度または低鉄濃度の, それぞれの実験区内における溶存無機態の鉄濃度は pH の変化により約 20 倍の違いがある。今後は鉄の化学形態を考慮し, 鉄濃度と pH が共に変化した環境下における窒素固定速度の変化に関して研究を推進する必要がある。一方, 同一細胞内で光合成と窒素固定を行う *Trichodesmium* や *Crocospaera* とは異なり, 異型細胞において窒素固定を行う *Nodularia spumigena* は pH の低下に伴い有意に窒素固定速度を低下させていることが観察された (Czerny *et al.*, 2009)。Czerny *et al.* (2009) は光合成を行う細胞と異型細胞とのエネルギー輸送など, 細胞間の連携過程において pH の低下が悪影響を及ぼしていた可能性を推察している。これらの結果から, pH の低下に伴う窒素固定速度の変化は種や窒素固定の方法により異なる可能性が高い。*Trichodesmium* は $p\text{CO}_2$ が 750–900 μatm (pH ~7.7) に上昇した時, 窒素固定速度以外に増殖速度および光合成速度を, それぞれ最大で約 2 倍および 2.3 倍に増加させることが観察された (Hutchins *et al.*, 2007; Levitan *et al.*, 2007)。この時, 細胞の POC : N 比がほとんど変化していないことから, 窒素固定を含む全ての代謝過程が CO_2 律速になっていると共に, 炭素と窒素に関わる代謝過程の連係性が非常に高いことが推察される。*N. spumigena* は pH の低下により増殖速度を低下させており, 窒素固定速度と同様に種により pH の低下に対する応答が *Trichodesmium* や *Crocospaera* とは全く異なる。また, これらの窒素固定シアノバクテリアはそれぞれ生息域が異なることが知られている (Ploug, 2008; Westberry and Siegel, 2006; Saito *et al.*, 2011)。すなわち, 窒素固定シアノバクテリアの優占度や窒素固定の量, ひいては栄養塩の循環過程の, 現代から将来にかけての変化の傾向は空間的に大きく異なる可能性が考えら

れる (8.2 節参照)。

7. 自然プランクトン群集に対する影響

過去に行われた pH の変化による自然プランクトン群集の応答に関しては, 韓国の沿岸 (Kim *et al.*, 2006, 2008) およびノルウェー沿岸 (e.g. Riebesell *et al.*, 2008b) においてメソコスム実験が実施されており (Table 3), 小型のボトルを用いた実験は, 赤道域太平洋沿岸域 (Tortell *et al.*, 2002), ベーリング海の沿岸域および外洋域 (Martin and Tortell, 2006; Hare *et al.*, 2007), 北大西洋 (Feng *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2009; Rose *et al.*, 2009), オホーツク海 (Yoshimura *et al.*, 2010), 東部亜寒帯北太平洋 (Tortell *et al.*, 2006; Hopkinson *et al.*, 2010) および南極海ロス海 (Tortell *et al.*, 2008a, b, 2010; Feng *et al.*, 2010) における報告がある (Table 4, Fig. 3)。pH 低下が自然植物プランクトン群集に及ぼす影響に関しては珪藻またはハプト藻 (円石藻) に関する報告以外には少ないため, 以下では pH 低下が珪藻とハプト藻に及ぼす影響に関して記載した。続いて気候変化と関連の深い生物起源の微量ガス (DMS , CH_3I 等) の生成に pH の低下が及ぼす影響に関する報告について取り上げた。

7.1 珪藻への影響

自然群集を用いた実験では pH を低下させたことによってしばしば優占種の変化が見られた。南極海及び赤道北太平洋の沿岸域において行われた半連続培養法によるボトル実験では, バブリングした空気中の CO_2 濃度を 100–150 ppm から 800 ppm に上昇させたとき, *Pseudonitzschia* から大型の群体を形成する *Chaetoceros* spp. (subgenus *Hyalochaete*) に優占種が変化した (Tortell *et al.*, 2002, 2008a)。同様に Feng *et al.* (2010) は南極海において 8.13 から 7.85 に pH を低下させた連続培養によって単独性の *Cylindrotheca closterium* に対する群体形成種の *Chaetoceros socialis* の比率が上昇することを見出した (Feng *et al.*, 2010)。さらに, 韓国沿岸で行われたメソコスム実験では, 0.3 程度の pH の低下によって群体を形成する種の *Skeletonema costatum* の

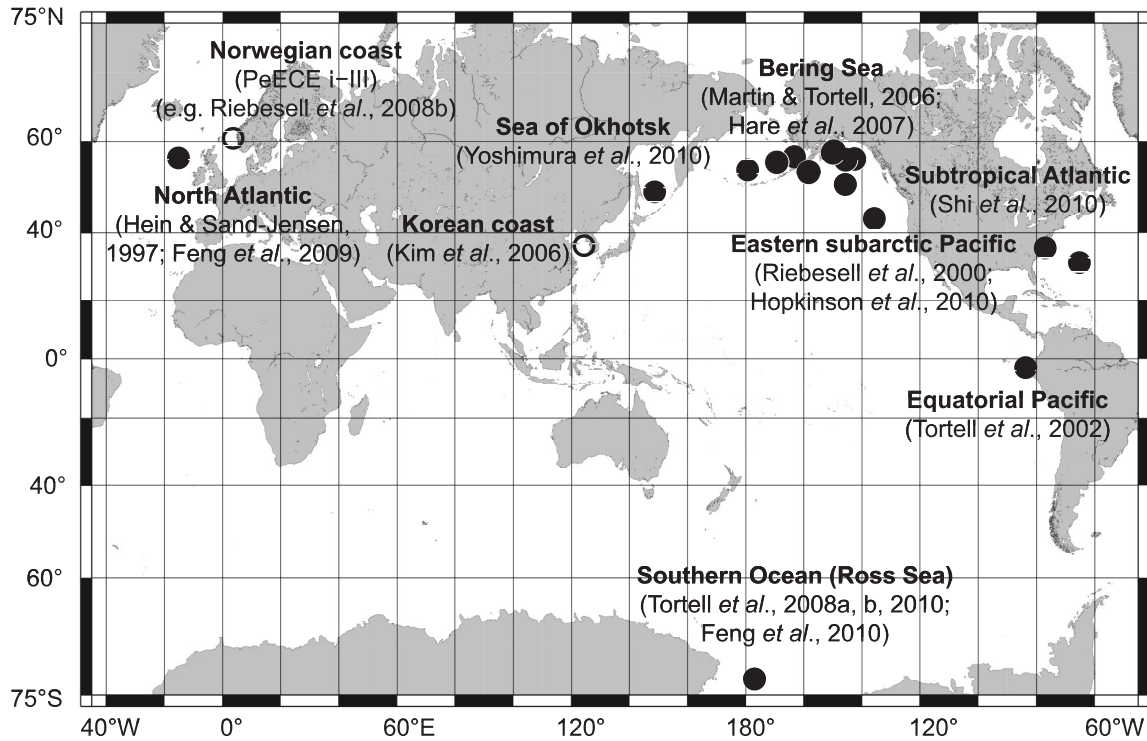


Fig. 3. Map of the sites and references where $p\text{CO}_2$ manipulation experiments have examined on phytoplankton process. Filled and open circles represent < 10 L bottle incubations and mesocosm experiments, respectively. The $p\text{CO}_2$ manipulation study sites where only primary production or only enzyme activity measurements were carried out, have been eliminated to avoid over-complication.

純増殖速度が上昇した一方で、*Nitzschia* の純増殖速度は、pH の変化 (7.9–8.3) にかかわらず一定であった (Kim *et al.*, 2006)。群体の形成は粒子の見かけのサイズを増大させることで炭素の下方輸送効率を上昇させる要因となるから、将来の低 pH の環境において固定された炭素は現代よりも多量に海洋の中深層に移送される可能性がある。

外洋域において行われた実験では、pH が 8.1 から 7.8 に低下した時、珪藻の *Pseudo-nitzschia* spp. の細胞数が増加し、珪藻の細胞数密度の増加率がその他の藻類の増加率と比較して高くなった (連続培養法; Feng *et al.*, 2009)。しかしながら、プランクトン群集全体の Si : POC 比には変化が見られず、*Pseudo-nitzschia* spp. と比較して炭素量当りのケイ素含量の高い珪藻種の増殖が抑制された可能性があった (Feng *et al.*, 2009)。近年、Sun *et al.* (2011) は単離培養株を用いた半連続培養により、8.2 から 8.0 に pH が低下するにつれて *Pseudo-*

nitzschia multiseriis の細胞あたりのケイ素含量が有意に低下することを示し、Feng *et al.* (2009) の結果に珪藻細胞あたりのケイ素含量の低下が寄与していた可能性も考えられる。一方では、縁辺海の高緯域において行われたボトル実験では 0.2–0.5 の pH の低下によって、珪藻の優占率が低下したことも報告されている (連続培養法: Hare *et al.*, 2007; バッチ培養法: Yoshimura *et al.*, 2010)。

上記の報告から、沿岸域の植物プランクトン群集は、pH 8.1–8.5 から 0.2–0.5 の pH の低下によって群体を形成する珪藻の優占度が上昇する可能性が見いだせる。一方、外洋域や縁辺海の高緯域では珪藻の優占度が低下した結果が 2 例 (Hare *et al.*, 2007; Yoshimura *et al.*, 2010)、上昇した結果が 1 例 (Feng *et al.*, 2009) であり、pH が低下した環境における外洋域の珪藻動態の解明に関してはさらなる調査が必要である。

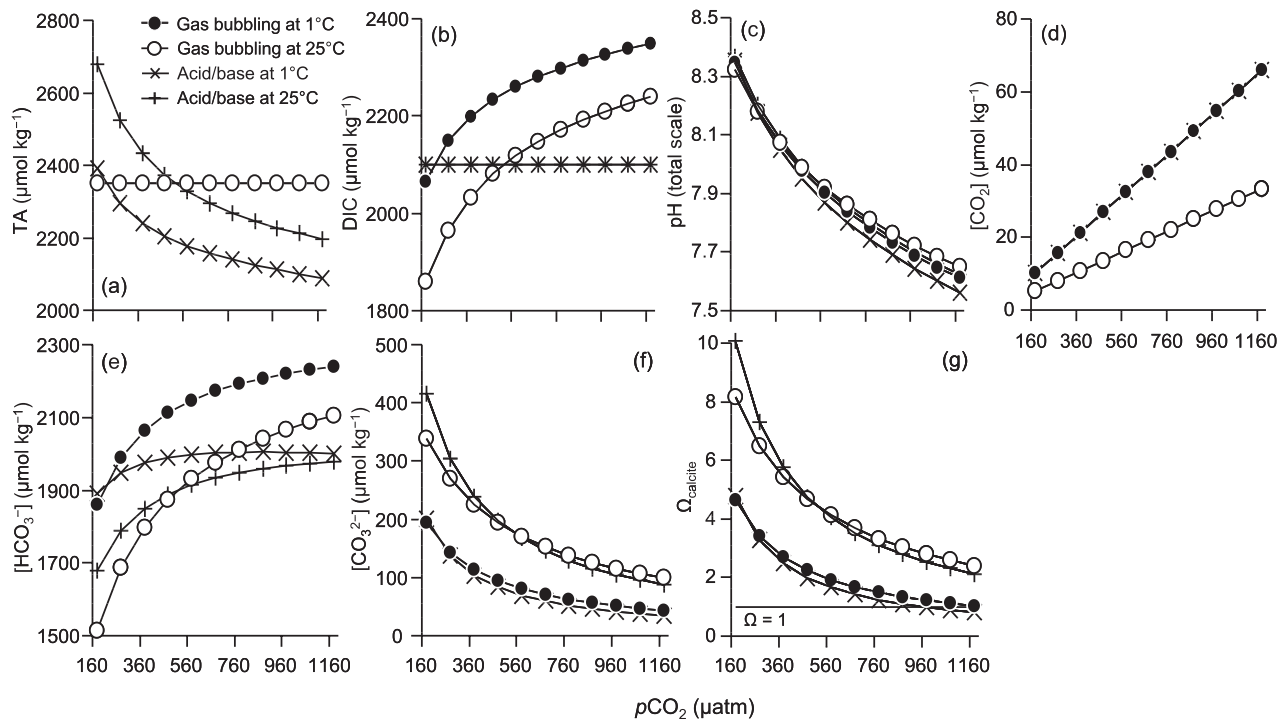


Fig. 4. Comparison of the seawater carbonate system in response to acid/base addition or $x\text{CO}_2$ adjusted air bubbling under low (1°C) and high temperature (25°C). (a) total alkalinity (TA), (b) dissolved inorganic carbon (DIC), (c) pH, (d) $[\text{CO}_2(\text{aq})]$, (e) $[\text{HCO}_3^-]$, (f) $[\text{CO}_3^{2-}]$, and (g) Ω_{calcite} .

7.2 ハプト藻への影響

北大西洋における植物プランクトンブルームの終焉期にはしばしば *Emiliania huxleyi* の優占が確認されている (e.g. Head *et al.*, 1998; Cermeño *et al.*, 2008)。そこで、ノルウェー沿岸において *E. huxleyi* の増殖過程に対する pH の低下の影響を明らかにするための評価実験が行われた (PeECE: Pelagic Ecosystem CO_2 Enrichment study; Riebesell *et al.*, 2008b)。PeECE I および III のメソコスム実験では *E. huxleyi* への pH の影響を把握するために硝酸とリンが添加されており、ケイ素は添加されていない (Engel *et al.*, 2005; Paulino *et al.*, 2008)。すなわち、珪藻の生物量はメソコスム内 (沿岸海水) に元々存在していたケイ酸濃度に依存するため、自然環境における群集組成と比較して実験期間中における珪藻の優占度は低下する。PeECE I では、高 $p\text{CO}_2$ (約 710 μatm) タンク内の pH は *E. huxleyi* の優占する植物プランクトンの増殖によって 7.8 から 8.0–8.1 ま

で上昇し、 $p\text{CO}_2$ は約 350 μatm まで低下した。この時、 Ω_{cal} は 1.8–2.0 であったにもかかわらず、高 $p\text{CO}_2$ の環境に暴露された *E. huxleyi* 群集が生産した円石のサイズおよび重量は低下していた (Engel *et al.*, 2005)。このように、pH の低下が円石の生成過程に影響を及ぼしていたことが室内実験並びにボトル実験と同様にメソコスム実験においても確認された。一方の PeECE III では、pH が 8.1–8.2 から 7.6–7.9 に低下、 Ω_{cal} が 3–4 から 1–2 に低下したが、炭酸カルシウムの生成に変化が無いだけでなく (Bellerby *et al.*, 2008)、円石藻の細胞数は増加する傾向にあった (Paulino *et al.*, 2008)。6.2 節に記述したように、pH の低下に対する円石の生成量の応答は株によって異なっており、優占していた *E. huxleyi* の種内の遺伝子型の違いによって、PeECE I と III では結果が異なった可能性がある。

ベーリング海 (連続培養: Hare *et al.*, 2007)、東部亜寒帯北太平洋 (バッチ培養: Hopkinson *et al.*, 2010)、南極海のロス海 (連続培養: Feng *et al.*, 2010)、赤道域

太平洋 (Tortell *et al.*, 2002) および亜寒帯北大西洋 (連続培養: Feng *et al.*, 2009) において, pH の変化に加えて, 鉄の有無, 光強度の強弱並びに水温の高低の操作を含めた合計 9 回, 18 の設定の実験が行われ, 光合成補助色素を指標とした植物プランクトン群集組成の変化について調べられた。ハプト植物門の指標色素である 19'-hexanoyloxyfucoxanthin (19'-Hex) の濃度または優占度は, pH の低下により 2 実験設定で増加, 7 実験設定で減少し, 9 実験設定では変化が見られなかった。また, 赤道域太平洋の沿岸域において行われたボトル実験では, 750 μatm に $p\text{CO}_2$ が上昇したことにより *Phaeocystis* sp. の優占度が低下する傾向が観察されている (Tortell *et al.*, 2002)。さらには 19'-Hex の濃度が増加した 2 実験設定 (ベーリング海海盆域および亜寒帯北大西洋; Hare *et al.*, 2007; Feng *et al.*, 2009) では pH を低下させるとともに 4°C 昇温させた実験であり, 鉄添加の有無, 光量の強弱に関わらず pH の低下のみではハプト植物門の優占度は変化しない, もしくは減少する傾向を見出すことができた。先述したとおり PeECE III のメソコスムでは, pH の低下によりハプト植物門の *E. huxleyi* の細胞数の増加が見られた (Paulino *et al.*, 2008)。このとき, 成層化させていたメソコスム内は実験期間を通して 2.5°C 程度昇温しており (Schulz *et al.*, 2008), PeECE III において *E. huxleyi* の優占度が上昇した要因は pH の低下と昇温の相乗効果であった可能性が考えられる。

7.3 生物起源の微量ガス生産への影響

ジメチルスルフィド (DMS) やヨードメタン (CH_3I) 等のメチル化ハロゲンは植物プランクトンによる生産を起点とする生物起源の微量ガスとして知られている。DMS は植物プランクトンの生体内におけるジメチルスルフォニオプロピオナート (DMSP) を前駆体とする。DMSP は植物プランクトンの細胞死や被食により生体外に放出され, 生物・非生物的に酸化されることで DMS に変化する (Sunda *et al.*, 2002; Ayers and Caine, 2007)。DMS を始めとするメチル化ハロゲンは大気に放出された後に雲の凝結核となることから, 植物プランクトンが間接的に雲を形成し, アルベドを増加さ

せて気候を制御しているという仮説 (CLAW 仮説; Charlson *et al.*, 1987) がある。気候変動と CLAW 仮説との関係性を解明するために, 植物プランクトンによる微量ガスの生産性や自然環境における DMS の濃度に関して精力的に研究が行われている (Ayers and Caine, 2007; Lana *et al.*, 2011)。

海洋酸性化の研究においても, pH の低下が微量ガスの生産に及ぼす影響に関して調べられている。PeECE III のメソコスム実験では pH が 8.1–8.2 から 7.6–7.9 に低下したことで実験期間中の DMS 並びにヨウ化クロロメチル (CH_2ClI) 生産量が, それぞれ約 40% および約 60% 増加した (Wingenter *et al.*, 2007; Vogt, *et al.*, 2008)。一方, PeECE III の翌年に行われたメソコスム実験では 8.1 から 7.8 への pH の低下により DMS および CH_3I を含むメチル化ハロゲン 5 種類の生産量が減少した (Hopkins *et al.*, 2010)。さらには北大西洋で行われたボトル実験では pH の低下による DMS 生産量に有意な変化は見られず (Lee *et al.*, 2009), pH の変化が微量ガス生産に及ぼす影響に関する統一的な見解は得られていない。

DMS の前駆体である植物プランクトン細胞内の DMSP は浸透圧調整, 細胞の凍結防止, 忌避作用並びに抗酸化作用があると考えられており (cf. Sunda *et al.*, 2002), 植物プランクトンが栄養塩の枯渇などのストレス状態になると生産量が増加する (Sunda *et al.*, 2002; Kasamatsu *et al.*, 2004)。pH 9 以上で増殖速度が炭酸 (塩) 律速となる環境 (Chen and Durbin, 1994) において *Thalassiosira pseudonana* の DMSP 生産量の増加が観察されているが (Sunda *et al.*, 2002), 低 pH の環境において単離培養株を用いた研究は過去に無く, pH の低下による DMS の生産性に関する知見の蓄積が望まれる。さらには, ウィルス感染や動物プランクトンの捕食に伴う DMSP の放出過程および環境水中に放出された DMSP が DMS に変換される過程などが pH の変化に影響を受けるかどうかを明らかにすることが将来の海洋環境における DMS 生産量を予測する上で重要な課題である (Wingenter *et al.*, 2007)。植物プランクトンの生体内における DMS (P) 以外のメチル化ハロゲンの機能に関してはほとんど調べられておらず, 植物プランクトンによるメチル化ハロゲンの生産に pH の変化

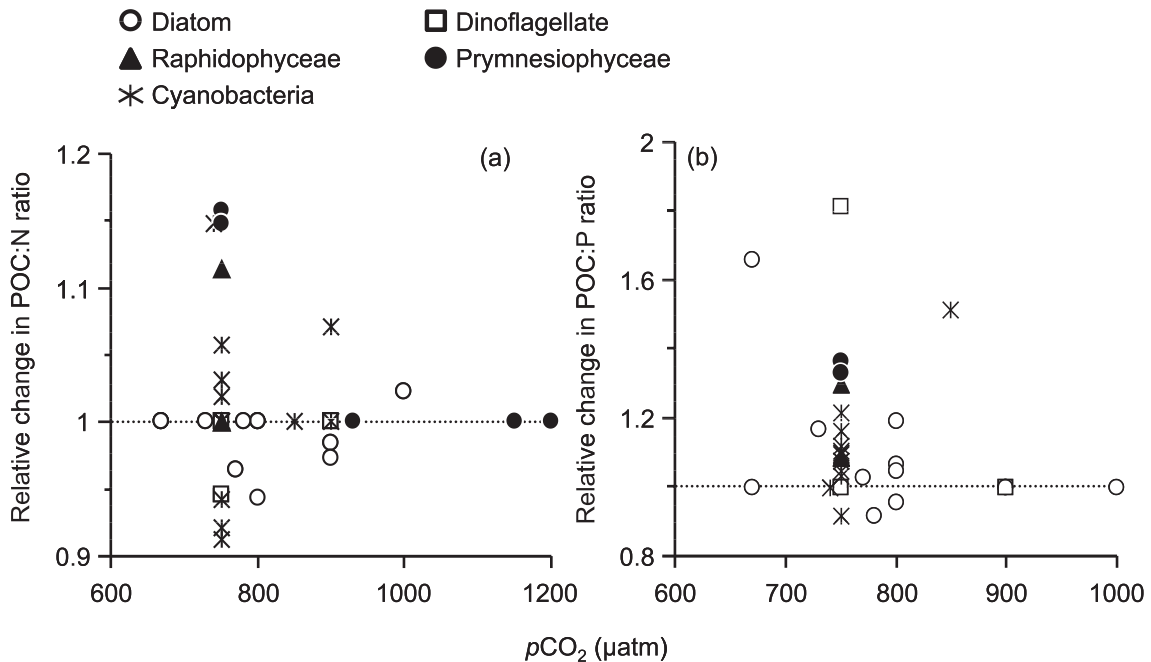


Fig. 5. Relative change in (a) POC : N and (b) POC : P ratio due to the increase in $p\text{CO}_2$ from the current value of 380–400 μatm (Table 5).

が与える影響に関しては今後の研究の発展が求められる。

8. 物質循環に及ぼす影響

8.1 炭素循環

自然プランクトン群集を用いたメソコスム実験並びにボトル実験では、 $p\text{CO}_2$ が現代の 2–3 倍に上昇したことに伴い、植物プランクトンの炭素固定速度は 10–40% 上昇した (Hein and Sand-Jensen, 1997; Riebesell *et al.*, 2007; Bellerby *et al.*, 2008)。室内実験では *Trichodesmium* の炭素固定速度が約 2 倍になることが明らかになっており (Hutchins *et al.*, 2007)、珪藻と渦鞭毛藻を除く多くの植物プランクトンは $p\text{CO}_2$ の上昇に伴い最大炭素固定速度を上昇させていた (7 章; Table 5)。しかしながら、炭素固定速度が上昇する現象のみでは生物ポンプによる炭素の移送量を変化させる要因になるとは限らず、POC : N や POC : P などの生元素の組成比が海洋の生物ポンプの 11 Gt C (Fig. 1) の変化に関わる重要な指標となる。

分類群毎に見ると、珪藻、渦鞭毛藻並びにシアノバク

テリアは pH の低下に伴う POC : N 比に変化が見られない株が多く、僅かに減少する株も見られた (Fig. 5a, Table 5)。一方、ハプト藻およびラフィド藻の POC : N 比は変化を示さないか、または上昇する傾向を示した (Fig. 5a, Table 5)。これら室内の培養株で得られた傾向は、自然プランクトン群集中で *Skeletonema costatum* が優占していた実験において、pH の低下が POC : N 比に影響を与えなかったこと (Kim *et al.*, 2006) 並びに *Emiliana huxleyi* が優占していた PeECE III の実験において高 $p\text{CO}_2$ 実験区の POC : N 比が上昇していた結果 (Riebesell *et al.*, 2007) と同調的である (Table 5)。Table 5 に示した全植物プランクトンの POC : N 比の変化率は平均で約 1% 上昇するのみであり、 $p\text{CO}_2$ の上昇によって変化しない傾向が強いと考えられる。すなわち、窒素律速の海域において粒子として固定される炭素の総量はあまり変化しないと考えられる。一方では、全ての分類群において低 pH 環境における POC : P 比は対照区 (pH ~8.1, $p\text{CO}_2$ ~380 μatm) と比較して上昇する傾向が見られ、平均して 14% の上昇が観察された (Fig. 5b)。すなわち、海洋酸性化が顕在化した環境では単位バイオマス当りのリンの含量が低下する

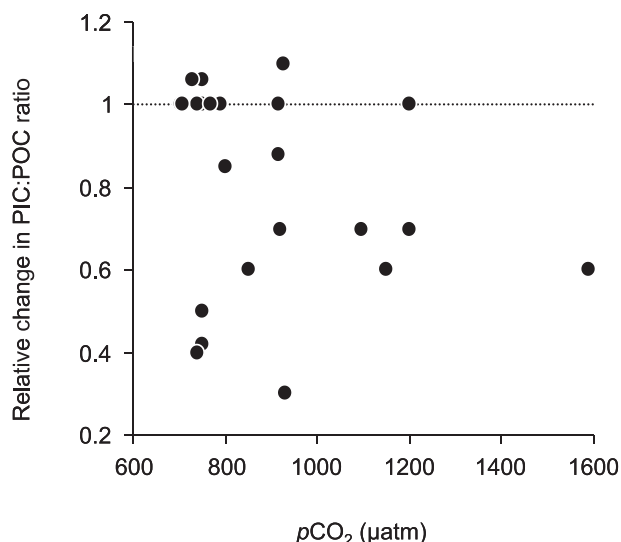


Fig. 6. Relative change in PIC : POC ratio due to the increase in $p\text{CO}_2$ from the current value of 380–400 μatm (Table 6).

傾向があることから、将来の $p\text{CO}_2$ の上昇によってリン律速の海域では炭素固定量が增大する可能性があると言える。

PeECE III のメソコスム実験では、円石藻が優占するプランクトン群集（粒子）並びに溶存有機物を含めた C : N 比は 380 μatm CO_2 における 6.6 から 1000 μatm における 8.0 まで上昇し、窒素に対して炭素を固定する効率が増した (Riebesell *et al.*, 2007)。しかしながら、円石藻の単離培養株を用いた実験では POC : N 比が PeECE III と同等に上昇することはなく (Table 5)、粒子態のみの動態では整合性が無い。PeECE III において C : N 比が増した要因は、一般的に C : N 比が高い溶存有機物 (e.g. Hopkinson and Vallino, 2005) の効果を考慮していることに起因すると考えられる。今後は、単離培養株を用いた実験においても pH の変化が溶存有機物動態に与える影響の知見を蓄積する必要がある (9.3 節を参照)。もし、炭素含有率の高い生物粒子が効率よく海洋深層に沈降することが可能だと仮定すると、1850 年から 2100 年までに約 116 Gt C を余分に吸収できる計算となり、大気中の CO_2 濃度を約 58 ppm 減少させる効果が指摘された (Riebesell *et al.*, 2007)。しかしながら、表層における有機炭素生成量の増大は従属栄養生物による分解・呼吸量の増大をもたらすと考えられる

ため、1800 年から 2100 年までの間に大気中の CO_2 を吸収する量は 46 Gt C 程度 (約 23 ppm) に縮小する可能性がモデルによる計算から示唆されている (Mater and McNeil, 2009)。さらに、従属栄養生物の呼吸量の増大は沿岸域や湧昇域などの高生産性海域における無酸素または貧酸素域の拡大をもたらす得る (Hofmann and Schellnhuber, 2009)。海水中の溶存酸素の有無は、動物の生残のみならず、脱窒やアナモックスが起こる海域の拡大による生物に利用可能な窒素の減少や (e.g. Deutsch *et al.*, 2007), CO_2 よりも温室効果が非常に高い N_2O の生産量の増大にも繋がるため (e.g. Codispoti, 2010), 海洋酸性化による影響を考察する際には間接影響も含めた多角的な視点が必要である。

円石の生成は海洋表層の炭素循環過程において重要な要因であり、1 分子の炭酸カルシウムが生成されると 1 分子の CO_2 が放出される。すなわち、円石藻の光合成による大気–海洋間の CO_2 の収支は円石と有機炭素との生成量の比によって左右される。多くの研究では PIC : POC を測定しており (Table 6), 溶存有機物として排出された炭素の量は加味されていない。しかしながら、PIC : POC は炭素固定効率を考える上で唯一の有用な指標であるため、本論文ではその変化率について抽出してまとめた (Fig. 6)。 $p\text{CO}_2$ が現代の約 380 μatm から 700–1600 μatm まで増加することによる PIC : POC 比の変化率は、10% 増加する種 (株) から 70% 減少する種 (株) まで見られたが $p\text{CO}_2$ との相関関係は見られなかった (Fig. 6, Table 6)。これまでの報告値を平均すると、 $p\text{CO}_2$ の上昇によって PIC : POC 比は約 20% 減少すると見積ることができる (Table 6)。すなわち、pH の低下によって固定される有機炭素の割合が増加する傾向にあり、海洋表層における CO_2 の吸収量は増大する可能性がある。2100 年に大気中の CO_2 濃度が 1150 ppm に増加したと仮定したときのモデル計算では、pH が約 7.7 まで低下したことに伴う炭酸カルシウムの生成量の低下および溶解により、5.4–25.7 Gt C (0.59–1.26 Gt C/year) が海洋に吸収されるという試算がある (Ridgwell *et al.*, 2009)。一方で、炭酸カルシウムなどの無機粒子は炭素を下方輸送する際に沈降粒子の比重を高めて沈降速度を大きくする要因であるとのバラスト仮説が有力であり (Passow and De La Rocha, 2006; De

La Rocha *et al.*, 2008), 無機粒子の生産量の減少は生物ポンプを弱める可能性がある (e.g. Buitenhuis *et al.*, 2001)。しかしながら, Ridgwell *et al.* (2009) にまとめられたモデルには pH の低下によるバラスト効果の変化は考慮して計算されていない。また, 炭酸カルシウムと同様に珪藻被殻は無機粒子のバラストであるから (Passow and De La Rocha, 2006; De La Rocha *et al.*, 2008), Milligan *et al.* (2004) により報告された珪藻被殻の溶解速度の上昇は (6.1 節), 移出生産の量を低下させ得る。特に, 珪藻の優占率が高い高緯度の海域における生物ポンプの効果を弱め (e.g. Buesseler *et al.*, 2007), 大気中の CO₂ 濃度に対する正のフィードバックの要因となり得る。

上述のように, 単離培養株や自然プランクトン群集を用いた実験において, pH の低下による生元素組成比は種毎または実験毎に異なるものの, 平均像としては POC:P 比が増加し, PIC:POC 比が減少することが本論文における解析から明らかになってきた。栄養塩が豊富な環境において, 植物プランクトンによる炭素と栄養塩の利用比は Redfield 比 (Redfield *et al.*, 1963) で一定の関係にあるのではなく, pH の低下によって変化したという事実は極めて興味深い (Arrigo *et al.*, 2007)。すなわち, 栄養塩の滞留時間は数万年のオーダーであるから (e.g. 藤永, 2005), 過去の地球史に見られたような長期的な高 pCO₂ (低 pH) 環境が将来の海洋環境にも見られれば (e.g. Ridgwell and Schmid, 2010), 中層以深の栄養塩の組成が Redfield 比から変化することとなり, その他の微量元素との濃度比等の関係性も変化すると考えられる (King *et al.*, 2011)。海水の化学組成の変化は, 生体の微量元素の濃度比, すなわち生体内の酵素の補因子の変化 (Quigg *et al.*, 2003; Falkowski *et al.*, 2008) および炭素固定のための酵素系の進化の動力源となる (Tortell, 2000; Morel, 2008)。人類世における海洋環境変化が植物プランクトン並びに物質循環に与える影響に関しては, 室内および洋上における実験を重ね, 物質循環にかかわる項目の測定のみならず生理学並びに分子生物学的手法を用いることで変化の要因やメカニズムを解明することが望まれる。

8.2 窒素循環

海水の pH の低下により *Trichodesmium* の窒素固定速度が上昇したことから, 表層への新生窒素栄養塩の供給量が年間 30–43 Tg 増大する可能性が指摘されている (Barcelos e Ramos *et al.*, 2007; Hutchins *et al.*, 2007; Fu *et al.*, 2008b)。pH の低下による POC:N 比 (一定) と POC:P 比 (上昇) の変化から, 将来の植物プランクトン粒子の N:P 比は上昇すると考えられる。このことから, 窒素固定が活発ではない亜寒帯から極域では, 窒素栄養塩と比較してリン酸塩が残存しやすい傾向があると言える。pH の低下による利用可能なリン酸塩の量の増大と窒素固定の増大との相乗効果により, 海洋への新生窒素の流入量は過去に推定された量からさらに増大する可能性を秘めている。しかしながら, 窒素固定はリン酸塩を必要とする。今日においても窒素固定シアノバクテリアが生息する亜熱帯北太平洋においてリン酸塩の枯渇はしばしば観察されている (e.g. Hashihama *et al.*, 2010)。海洋大循環の時間尺度から考えると, pH の低下した環境において残存すると考えられるリン酸塩が窒素固定の行われる海域において利用可能になるには, 少なくとも数百年の時間を要するものと考えられる。すなわち, 現在の海洋環境において窒素固定シアノバクテリアの優占がしばしば観察される海域 (e.g. 東部熱帯太平洋: Westberry and Siegel, 2006) では, 数十から百年の時間尺度で起こる pH の低下に伴う窒素固定量の増大により, リン酸塩が枯渇し易くなる可能性が高い。その結果, 植物プランクトン群集の優占種も生物学的利用性の低い化学形態の有機リン (e.g. ホスホン酸: phosphonate) を利用できる *Trichodesmium* (Dyhrman *et al.*, 2006) の様な種に遷移するかもしれない。一方, ヘテロシストで窒素固定を行う *Nodularia spumigena* は pH の低下に伴い窒素固定速度を低下させることも判っている (Czerny *et al.*, 2009)。これらのことから, *Nodularia* のブルームが発生する海域 (e.g. バルト海: Ploug, 2008) と *Trichodesmium* や *Crocospaera* が生息する海域 (e.g. 亜熱帯北太平洋: Westberry and Siegel, 2006; Saito *et al.*, 2011) とでは, 将来, pH が低下することにより変化する窒素固定量が全く異なる可能性がある。

Hutchins *et al.* (2009) は定性的ではあるが、pH の低下した環境における窒素循環に関して示唆に富む考察をしている。概略は以下のようなものである。将来の pH の低下した環境では窒素固定の増加によって海洋表層にアンモニア態の窒素が供給されることになる。また、pH の低下は硝酸菌や亜硝酸菌による硝化速度を低下させる可能性があり、アンモニア態窒素の滞留時間が長くなる。脱窒の基質となる窒素源は硝酸態であるから、硝化速度の低下は脱窒量の減少を伴う可能性もある。上記のように pH の低下によって窒素固定量が増加し、将来の海洋表層におけるアンモニアと硝酸塩の存在比が上昇する。その結果、硝酸塩を利用する珪藻の増殖が抑制され、再生栄養塩を利用する小型の植物プランクトンの割合が増加するかも知れない。植物プランクトン群集の粒径が小さくなることはエネルギー転送効率の低下をもたらすため、漁獲量に悪影響を及ぼす可能性がある (cf. Hutchins *et al.*, 2009)。近年、Beman *et al.* (2011) は、自然海洋環境において約 0.1 の pH の低下に伴い硝化速度が 8–38% 低下することを報告した。今後は pH の変化による脱窒やアナモックスの速度の変化に関する研究成果並びにアンモニア：硝酸塩の存在比の変化を定量化することが望まれる。

一般的に窒素固定には多量の鉄が必要であるにもかかわらず (Raven, 1988)、海洋表層の鉄を初めとした微量元素の濃度は生物生産を律速する程度に低い (e.g. Moore and Braucher, 2008; Saito *et al.*, 2008a)。この事実、pH が低下した将来の海洋環境においても鉄律速のため窒素固定速度が劇的に増加しないことを間接的に示している (Falkowski, 1997)。また、pH が低下した環境において鉄の生物学的利用性が低下することがあれば (Shi *et al.*, 2010; 9.2 節を参照)、窒素固定量が増大する可能性はさらに低くなる。しかしながら、近年の報告によれば、*Crocospaera* は光合成で利用する鉄と窒素固定 (夜間のみに行う) に用いる鉄とを昼夜で再利用することで、鉄要求量を予想される量の 40% 程度に低下させていたり (Saito *et al.*, 2011)、鉄を含む光合成系 II が欠落し、酸素発生型の光合成を行わない窒素固定シアノバクテリアが発見されたりと (Zehr *et al.*, 2008)、窒素固定量は過去に想定されていた程、利用可能な鉄の濃度に制御されない可能性も考えられる。今後

は窒素固定シアノバクテリアの鉄に対する親和性や要求量に関してさらなる研究を行うことで、窒素循環過程に対する理解を高度化させることが望まれる。

9. 今後の解明すべき研究課題

9.1 植物プランクトンの生理生態と海洋酸性化

過去の地球史の中で生物並びに物質循環に劇的な変化をもたらした気候変動と比較して、現代の大気中の CO₂ 濃度の上昇速度 (≈ pH の低下速度) は 1 桁以上速い (Table 1)。急速に進行する海水の pH の低下は海洋表層並びに沿岸域において顕著に表れ、植物プランクトンを始めとした海洋表層の生産者へ深刻な影響を与える可能性が指摘されている (Doney *et al.*, 2009)。一方では、浅海域などの独立および従属栄養性生物の生物活動が活発な海域における pH の変動幅並びに変化速度は将来想定される変化より遥かに大きい (Table 1)、高い生物生産を維持している。すなわち、底生性、沿岸性または外洋性など、様々な生態系に生息している生物は群集毎に海水の pH の低下による影響または耐性が異なることが想定される。例えば、底生性や沿岸性の種は pH の変動に対する適応能が高い可能性がある。近年の報告によれば、沿岸域に生息する渦鞭毛藻、珪藻、ハプト藻、クリプト藻およびシアノバクテリアの増殖速度は少なくとも pH 7.8 から 8.2 の間 (20°C であれば pCO₂ は約 380 から 1100 μatm) では高い増殖速度を維持することができ、最大で pH 5.5 (*Alexandrium minutum*) から 9.5 (*Rhodomonas marina*) の範囲 (pCO₂ は約 3 μatm から約 50,000 μatm) において増殖に何の影響も見られない種が存在する (Berge *et al.*, 2010)。ただし、将来の沿岸環境では現在より pH が低下した状態から、生物活動による大きな振幅が加わることになり、現代の海洋環境と比較して低 pH によるストレスが大きくなる可能性がある。また、沿岸域における植物プランクトンの多くは一時性または臨時性プランクトンであるにもかかわらず (e.g. Fryxell, 1983; Ichinomiya *et al.*, 2008)、pH の低下に対する影響に関して生活史を考慮した研究例は過去に無く、正確な pH の操作方法に基づく研究成果が望まれる。

外洋域で行われることが多いボトル実験の結果に対する解釈や報告値に関する理解を深化させるためには外洋性の植物プランクトンの単離培養株を用いた実験を行い、自然プランクトン群集の動態を検証する必要がある。しかしながら、外洋性の植物プランクトンの単離培養に関する知見は乏しく、このことは海洋酸性化の研究のみならず外洋性の植物プランクトンの生理生態を解明する上においても慢性的な問題点であるが、外洋域における pH の低下が生態系の構造や物質循環過程に与える影響を理解する上でも重要な課題である。さらに、これまでの海洋酸性化の研究では温帯から熱帯に生息する植物プランクトンが用いられており、亜寒帯から極域に生息する種を用いた報告がない (Table 5)。今後は、沿岸や外洋域、亜寒帯や極域を生息域とする種や、終生、一時性、臨時性プランクトンや底生微細藻類などの生活史や生活環境の異なる様々な植物プランクトンを用いて知見を蓄積することが望ましい。特に、有機物が豊富な堆積物の pH は 7.5 から 7 以下になることもあり (Ku *et al.*, 1999; Cai *et al.*, 2000)、世界中の沿岸域は低 pH 環境のホットスポットと考えることができる。そこで、海水 (pH ~8) と堆積物との境界、時には堆積物の中に生息する底生微細藻類が pH の変化に対してどのような機構により生存を可能としているのかを明らかにすることは、pH の変化に対する植物プランクトンの応答能を理解する上で鍵となる課題と考えられる。

9.2 海洋酸性化の環境下における微量元素の利用性

海水の pH の低下は海水中的無機化学過程、その中でも炭酸塩の濃度の変化に伴い、無機錯体の構成比が変わる (Millero *et al.*, 2009)。特に鉄の生物学的利用性の変化について注目が集まっている。海水中的 pH の低下は鉄の生物学的利用性の鍵となる有機配位子と鉄との錯形成の安定度を上昇させ、藻類にとって鉄が利用しにくくなる可能性が指摘されている (Sunda and Huntsman, 2003; Shi *et al.*, 2010)。植物プランクトンの中でも珪藻は比較的細胞が大型であるから、一般的に鉄要求量が高く鉄欠乏に陥りやすいことはよく知られている (e.g. de Baar *et al.*, 2005; Boyd *et al.*, 2007)。pH の低下によって鉄との錯形成の安定度が上昇する配位子は、

錯体から鉄が解離する際に H^+ を放出する官能基を有するものと考えられる (Shi *et al.*, 2010)。

一方では、海水の pH の低下は溶解度の低い 3 価の鉄 ($< \sim 0.1 \text{ nmol L}^{-1}$; Kuma *et al.*, 1996) と比較して溶解度の高い 2 価鉄 (数 $\mu\text{mol L}^{-1}$; Stumm and Morgan, 1996) の酸化速度を低下させ、生物にとって利用可能な鉄の濃度を高める可能性も指摘されている (Breitbarth *et al.*, 2009; Millero *et al.*, 2009)。例えば、pH が 8.1 から 7.8 に低下した時、水温 25°C 、塩分 35 の海水における 2 価鉄の半減期は 1–2 分から 4–8 分に延びる (Millero *et al.*, 1987; Santana-Casiano *et al.*, 2005)。しかしながら、この数分 (4 倍) に及ぶ鉄の形態の変化が植物プランクトンにどのような影響があるのかは不明である。

pH の低下によって 2 価鉄の酸化速度が遅くなること (Millero *et al.*, 1987; Breitbarth *et al.*, 2009)、鉄-有機リガンド錯体の安定度の上昇すること (Shi *et al.*, 2010) は鉄の生物学的利用性という側面において、植物プランクトンに正反対の影響を及ぼす。両過程が将来の海洋環境に及ぼす影響に関して考慮する際、2 価鉄の濃度の定量、植物プランクトンにとっての 2 価鉄の重要性の把握、並びに 3 価鉄と錯形成をしていると考えられる有機配位子の化学形態、自然環境中における動態や官能基の構造の解明および pH の変化による錯安定度の変化を明らかにすることが今後の重要な課題である。鉄の生物学的利用性に関しても、何れの形態の鉄がどの分類群の植物プランクトンにとって利用性が高いのかを明らかにする必要があると考えられる (Hutchins *et al.*, 1999; Hassler and Schoemann, 2009; Hassler *et al.*, 2011)。さらに、鉄だけでなく銅、亜鉛およびマンガンなどは植物プランクトンにとっての必須元素であるが (6.1 節を参照)、植物プランクトンの生理生態に与える影響に関する知見は少なく、将来の pH の変化との複合的な影響に関しては今後の研究の進展に期待するところが大きい (cf. Millero *et al.*, 2009)。

9.3 海洋酸性化の環境下における物質循環

将来の低 pH-高 $p\text{CO}_2$ の環境下における植物プランクトンの生元素組成比は種や群集によって異なるものの、

POC:P比およびN:P比が上昇する傾向にあることが予想される (Fig. 5b)。しかしながら、上記までに示した元素組成比の文献値は粒子態のみであり、海洋の炭素循環において重要な要因の一つであるにも関わらず溶存有機物に関する報告例は非常に少ない。植物プランクトンの増殖に伴う溶存有機物の生産に関する報告は、(1) 3系列の内2系列のメソコスムにおいて $p\text{CO}_2$ の上昇に伴い DOC の生産量が增大したという定性的な報告 (Engel *et al.*, 2004), (2) $p\text{CO}_2$ の異なるメソコスム内の発色団含有溶存有機物 (CDOM) の生産量に違いが見られない報告 (Rochelle-Newall *et al.*, 2004), および (3) 栄養塩が枯渇した環境において $p\text{CO}_2$ の上昇に伴い DOC の生産量が低下した報告 (Yoshimura *et al.*, 2010) の3報しかない。その他、海水の pH の低下により細胞外の有機物 (特に TEP: transparent exopolymer particles) の性質、さらには TEP を介した粒子の沈降速度が低下する可能性が指摘されている (Mari, 2008)。今後も無機栄養塩動態のみならず、pH の低下が細胞外に排出された有機物に与える影響を考慮した研究を組み立てる必要がある。

シアノバクテリアの単離培養株を用いた実験では pH の低下に伴い窒素固定速度が上昇する種と低下する種が観察されている。しかしながら、自然プランクトン群集に見られる窒素固定シアノバクテリアの窒素固定能が pH に依存した報告は無い。これまでの研究報告は、*Trichodesmium* の1種2株、*Crocospaera* 1株および *Nodularia* 1株の合計3種4株についてしか行われていない。pH の低下に対する窒素固定生物の応答の傾向をより確かなものとするためには、自然プランクトン群集および既に確立された株以外の新たな単離培養株を作成し (cf. Lakeman *et al.*, 2009), 種内並びに種間における pH の応答性に関して実験を重ね、海洋酸性化が窒素循環過程に及ぼす影響の知見を蓄積する必要がある。また、鉄を始めとした微量元素の濃度や生物学的利用性と pH の変化が窒素固定速度に及ぼす影響についても把握し、窒素循環過程の理解を深化させる必要がある。

本総説では取り扱わなかったが、微生物食物網は古典的な食物網と同等の炭素フラックスを駆動させているにもかかわらず (e.g. Azam and Malfatti, 2007), 海水の pH の低下がウィルスやバクテリア並びに繊毛虫など

の微生物食物網を構成する生物群に与える影響に関してはほとんど明らかになっていない (Suffrian *et al.*, 2008; Tanaka *et al.*, 2008; Rose *et al.* 2009)。近年、海水の pH の低下に伴い、バクテリアが細胞外に放出する酵素のうちロイシンアミノペプチターゼやリパーゼの活性の低下や (Yamada and Suzumura, 2010), 中層におけるバクテリアとアーキアの群集組成比が変化することが報告されている (Yamada *et al.*, 2010)。このことにより、海水の pH の低下によって栄養塩の再生速度が低下する可能性が指摘されている。その一方では、pH の低下によりプロテアーゼ活性が上昇した可能性を示した報告もある (Grossart *et al.*, 2006)。海洋酸性化が微生物食物網を構成する生物群並びに物質循環過程に与える影響を解明することは大きな課題である (cf. Liu *et al.*, 2010)。

海洋酸性化が海洋生態系に与える影響に関して将来の予測をするためには、生態系モデルによる計算が有力な手法である。海水の pH 低下に起因する群体を形成する珪藻への遷移、生元素組成比の変化、PIC 生成量の低下並びに窒素固定、炭素固定速度の上昇などは将来の海洋表層における物質循環過程を変化させる要因であることが明らかになりつつある。このことから、海洋酸性化の影響を調べるためのモデルでは、これまでの計算に用いられていた生物地球化学的過程のパラメータの値や計算過程を変更する必要があるかも知れない。また、過去の海洋酸性化が植物プランクトンに及ぼす影響に関する報告の多くは栄養塩並びに微量元素が十分に存在する条件下で行われている。自然の海洋環境を考慮し、さらには生態系モデルに提供するような、より適正なパラメータを実験的に求めるには、pH の低下と共に光、栄養塩並びに鉄などの微量元素が植物プランクトンの増殖を律速している環境下においても研究を重ねて知見を蓄積する必要がある。そのために、今後は炭酸系の制御を目的としない培養実験においても、pH および炭酸系に関わる項目を水温や栄養塩濃度のように必須の項目として測定することにより、現代における pH と植物プランクトンとの関係性に関する参照値として利用可能になるかもしれない。繰り返しになるが、このとき、炭酸系の計算に必要な十分な項目を測定することで報告値の相互比較を可能にさせることにも留意しなくてはならない。また、地

球システムを理解し、より正確な将来予測を行うためには、pHの低下による栄養塩動態の変化だけでなく、貧酸素による脱窒やN₂O生産の強化などの副次的な影響についても探究する必要があると考える。

10. おわりに

現世の植物プランクトンを用いた実験において1500 μatm までの $p\text{CO}_2$ の環境下において死滅したという報告はこれまでに無い。このことから明らかのように、サンゴ礁（諏訪ら, 2010）や軟体動物（Fabry *et al.*, 2008）と異なり将来起こるであろう海洋酸性化の現象による植物プランクトンの応答が生態系の構造を著しく損傷させるという懸念はほとんど無いと考えられる（cf. Joint *et al.*, 2011）。しかしながら、本論文における解析によりpHの低下は炭素、窒素並びにリンの循環を通じて生態系の基盤を変化させる可能性が明らかになってきた。一方では、依然として解明すべき多くの課題が残されており、今後も正確な実験法に基づく精力的な研究と知見の蓄積が必要である。また、単離培養株や自然群集を用いた実験により導き出された傾向を、生態系モデルが組み込まれた地球システムモデルのパラメータとして入力することが可能であれば、将来の海洋酸性化の影響を評価することが可能になる。また、本稿では報告数が少なかったこと、不確実要因が多いことおよび論旨の複雑さを避けるため、地球温暖化と海洋酸性化の複合影響に関しては極力論議しなかったが、将来を予測するためには重要な課題であることは言うまでも無い。今後、人類がどれ程のCO₂を排出することが許容されるのかを検討する上でも、海洋酸性化が海洋生態系に与える影響をできる限り正確に把握するための持続的な努力が望まれる。

謝 辞

2名の査読者には多くの時間を割いて頂き、多角的な視点から多くの有益な意見を頂いた。電力中央研究所の仲敷憲和博士、吉田義勝博士、津旨大輔博士および今村正裕博士には、本稿の制作にあたり貴重な助言をして頂いた。熊本県立大学の一宮睦雄博士には休眠胞子を形成する珪藻類の株の保存と発芽の方法に関してお教え頂い

た。京都大学の諏訪僚太博士からはpHの日変動を模擬した実験方法に関して貴重な情報を提供して頂いた。南カルフォルニア大学のD. A. Hutchins博士および天津大学のJ. Sun博士からはFeng *et al.* (2010)の改訂された実験値を開示して頂いた。皆様に心より感謝申し上げます。本研究は（財）電力中央研究所の研究費ならびに科学研究費補助金（22681004）の助成を受けたものである。

References

- Allen, M. R., D. J. Frame, C. Huntingford, C. D. Jones, J. A. Lowe, M. Meinshausen, and N. Meinshausen (2009): Warming caused by cumulative carbon emissions towards the trillionth tonne. *Nature*, **458**, 1163–1166.
- Anderson, L. A., and J. L. Sarmiento (1994): Redfield ratios of remineralization determined by nutrient data analysis. *Glob. Biogeochem. Cy.*, **8**, 65–80.
- Armbrust, E. V., J. A. Berges, C. Bowler, B. R. Green, D. Martinez, N. H. Putnam, S. G. Zhou, A. E. Allen, K. E. Apt, M. Bechner, M. A. Brzezinski, B. K. Chaal, A. Chiovitti, A. K. Davis, M. S. Demarest, J. C. Detter, T. Glavina, D. Goodstein, M. Z. Hadi, U. Hellsten, M. Hildebrand, B. D. Jenkins, J. Jurka, V. V. Kapitonov, N. Kröger, W. W. Y. Lau, T. W. Lane, F. W. Larimer, J. C. Lippmeier, S. Lucas, M. Medina, A. Montsant, M. Obornik, M. S. Parker, B. Palenik, G. J. Pazour, P. M. Richardson, T. A. Rynearson, M. A. Saito, D. C. Schwartz, K. Thamatrakoln, K. Valentin, A. Vardi, F. P. Wilkerson, and D. S. Rokhsar (2004): The genome of the diatom *Thalassiosira pseudonana*: ecology, evolution, and metabolism. *Science*, **306**, 79–86.
- Arrigo, K. R. (2007): Marine manipulations. *Nature*, **450**, 491–492.
- Atkins, W. R. G. (1922): The hydrogen ion concentration of sea water in its biological relations. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, **12**, 717–771.
- Ayers, G. P., and J. M. Cainey (2007): The CLAW hypothesis: a review of the major developments. *Environ. Chem.*, **4**, 366–374.
- Azam, F., and F. Malfatti (2007): Microbial structuring of marine ecosystems. *Nat. Rev. Microbiol.*, **5**, 782–791.
- Badger, M. R., and G. D. Price (2003): CO₂ concentrating mechanisms in cyanobacteria: molecular components, their diversity and evolution. *J. Exp. Bot.*, **54**, 609–622.
- Badger, M. R., T. J. Andrews, S. M. Whitney, M. Ludwig, D. C. Yellowlees, W. Leggat, and G. D. Price (1998): The diversity and coevolution of Rubisco, plastids, pyrenoids, and chloroplast-based CO₂ concentrating mechanisms in algae. *Can. J. Bot.*, **76**, 1052–1071.
- Barcelos e Ramos, J., H. Biswas, K. G. Schulz, J. LaRoche, and U. Riebesell (2007): Effect of rising atmospheric carbon dioxide on the marine nitrogen fixer *Trichodesmium*. *Glob. Biogeochem. Cy.*, **21**, GB2028, doi : 10.1029/2006GB002898.
- Barcelos e Ramos, J., M. N. Müller, and U. Riebesell (2010): Short-term response of the coccolithophore *Emiliania huxleyi* to an

- abrupt change in seawater carbon dioxide concentrations. *Biogeoscience*, **7**, 177–186.
- Bellerby, R. G. J., K. G. Schulz, U. Riebesell, C. Neill, G. Nondal, E. Heegaard, T. Johannessen, and K. R. Brown (2008): Marine ecosystem community carbon and nutrient uptake stoichiometry under varying ocean acidification during the PeECE III experiment. *Biogeosciences*, **5**, 1517–1527.
- Beman, J. M., C. E. Chow, A. L. King, Y. Feng, J. A. Fuhrman, A. Andersson, N. R. Bates, B. N. Popp, and D. A. Hutchins (2011): Global declines in oceanic nitrification rates as a consequence of ocean acidification. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 208–213.
- Berge, T., N. Daugbjerg, B. B. Andersen, and P. J. Hansen (2010): Effect of lowered pH on marine phytoplankton growth rates. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **416**, 79–91.
- Blackford, J. C., and F. J. Gilbert (2007): pH variability and CO₂ induced acidification in the North Sea. *J. Mar. Sys.*, **64**, 229–241.
- Boyd, P. W., T. Jickells, C. S. Law, S. Blain, E. A. Boyle, K. O. Buesseler, K. H. Coale, J. J. Cullen, H. J. W. de Baar, M. Follows, M. Harvey, C. Lancelot, M. Levasseur, N. P. J. Owens, R. Pollard, B. B. Rivkin, J. Sarmient, V. Schoemann, V. Smetacek, S. Takeda, A. Tsuda, S. Turner, and A. J. Watson (2007): Mesoscale iron enrichment experiments 1993–2005: Synthesis and future directions. *Science*, **315**, 612–616.
- Breitbarth, E., R. J. Bellerby, C. C. Neil, M. V. Ardelan, M. Meyerhöfer, E. Zöllner, P. L. Croot, and U. Riebesell (2009): Ocean acidification affects iron speciation in seawater. *Biogeosciences*, **6**, 6781–6802.
- Browman, H. I. (2008): Effects of ocean acidification on marine ecosystems. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **373**, 199–201.
- Brzezinski, M. A., C. J. Pride, V. M. Franck, D. M. Sigman, J. L. Sarmiento, K. Matsumoto, N. Gruber, G. H. Rau, and K. H. Coale (2002): A switch from Si (OH)₄ to NO₃⁻ depletion in the glacial Southern Ocean. *Geophys. Res. Lett.*, **29**, doi10.1029/2001GL014349.
- Buch, K., H. W. Harvey, H. Wattenberg, and S. Gripenberg (1932): Über das Kohlensäuresystem im Meerwasser: Bericht über die Untersuchung einer Arbeitskommission. *Rapports et Procès-Verbaux des Reunions, Conseil Permanent International pour l'Exploration de la Mer*, **79**, 1–70.
- Buesseler, K. O., C. H. Lamborg, P. W. Boyd, P. J. Lam, T. W. Trull, R. R. Bidigare, J. K. B. Bishop, K. L. Casciotti, F. Dehairs, M. Elskens, M. Honda, D. M. Karl, D. A. Siegel, M. W. Silver, D. K. Steinberg, J. Valdes, B. Van Mooy, and S. Wilson (2007): Revisiting carbon flux through the ocean's twilight zone. *Science*, **316**, 567–570.
- Buitenhuis, E. T., P. van der Wal, and H. J. W. de Baar (2001): Blooms of *Emiliania huxleyi* are sinks of atmospheric carbon dioxide: A field mesocosm study derived simulation. *Glob. Biogeochem. Cy.*, **15**, 577–587.
- Burkhardt, S., and U. Riebesell (1997): CO₂ availability affects elemental composition (C : N : P) of the marine diatom *Skeletonema costatum*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **155**, 67–76.
- Burkhardt, S., I. Zondervan, and U. Riebesell (1999): Effect of CO₂ concentration on C : N : P ratio in marine phytoplankton: A species comparison. *Limnol. Oceanogr.*, **44**, 683–690.
- Burkhardt, S., G. Amoroso, U. Riebesell, and D. Sttemeyer (2001): CO₂ and HCO₃⁻ uptake in marine diatoms acclimated to different CO₂ concentrations. *Limnol. Oceanogr.*, **46**, 1378–1391.
- Cai, W. J., P. Zhao, and Y. Wang (2000): pH and pCO₂ microelectrode measurements and the diffusive behavior of carbon dioxide species in coastal marine sediments. *Mar. Chem.*, **70**, 133–148.
- Caldeira, K., and M. E. Wickett (2003): Anthropogenic carbon and ocean pH. *Nature*, **425**, 365.
- Casareto, B. E., M. P. Niraula, H. Fujimura, and Y. Suzuki (2009): Effects of carbon dioxide on the coccolithophorid *Pleurochrysis carterae* in incubation experiments. *Aquat. Biol.*, **7**, 59–70.
- Cermeño, P., S. Dutkiewicz, R. P. Harris, M. Follows, O. Schofield, and P. G. Falkowski (2008): The role of nutricline depth in regulating the ocean carbon cycle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 20344–20349.
- Charlson, R. J., J. E. Lovelock, M. O. Andreae, and S. G. Warren (1987): Oceanic phytoplankton, atmospheric sulfur, cloud albedo and climate. *Nature*, **326**, 655–661.
- Chen, C. Y., and E. G. Durbin (1994): Effect of pH on the growth and carbon uptake of marine phytoplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **109**, 83–94.
- Clark, D. R., and K. J. Flynn (2000): The relationship between the dissolved inorganic carbon concentration and growth rate in marine phytoplankton. *Proc. R. Soc. Lond. B*, **267**, 953–959.
- Collins, S., and G. Bell (2004): Phenotypic consequences of 1,000 generations of selection at elevated CO₂ in a green alga. *Nature*, **431**, 566–569.
- Cooley, S. R., H. L. Kite-Powell, and S. C. Doney (2009): Ocean acidification's potential to alter global marine ecosystem services. *Oceanography*, **22**, 172–181.
- Crutzen, P. J. (2002): Geology of mankind. *Nature*, **415**, 23.
- Czerny, J., J. Barcelos e Ramos, and U. Riebesell (2009): Influence of elevated CO₂ concentration on cell division and nitrogen fixation rates in the bloom-forming cyanobacterium *Nodularia spumigena*. *Biogeosciences*, **6**, 1865–1875.
- Codispoti, L. A. (2010): Interesting times for marine N₂ O. *Science*, **327**, 1339–1340.
- Dai, M., Z. Lu, W. Zhai, B. Chen, Z. Cao, K. Zhou, W. J. Cai, and C. T. A. Chen (2009): Diurnal variations of surface seawater pCO₂ in contrasting coastal environment. *Limnol. Oceanogr.*, **54**, 735–745.
- Dason, J.S., I. E. Huertas, and B. Colman (2004): Source of inorganic carbon for photosynthesis in two marine dinoflagellates. *J. Phycol.*, **40**, 285–292.
- De Baar, H. J. W., P. W. Boyd, K. H. Coale, M. R. Landry, A. Tsuda, P. Assmy, D. C. E. Bakker, Y. Bozec, R. T. Barber, M. A. Brzezinski, K. O. Buesseler, M. Boyé, P. L. Croot, F. Gervais, Y. Gorbunov, P. J. Harrison, W. T. Hiscock, P. Laan, C. Lancelot, C. S. Law, M. Levasseur, A. Marchetti, F. J. Millero, J. Nishioka, Y. Nojiri, T. van Oijen, U. Riebesell, M. J. A. Rijkenberg, H. Saito, S. Takeda, K. R. Timmermans, M. J. W. Veldhuis, A. M. Waite, and C. S. Wong (2005): Synthesis of iron fertilization experiments: From the Iron Age in the Age of Enlightenment. *J. Geophys. Res.*, **110**, C09S16, doi : 10.1029/2004JC002601.
- De Bodt, C., N. Van Oostende, J. Harlay, K. Sabbe, and L. Chou (2010): Individual and interacting effects of pCO₂ and temperature on *Emiliania huxleyi* calcification: study of the calcite production, the coccolith morphology and the coccosphere size. *Biogeosciences*, **7**, 1401–1412.

- De La Rocha, C. L., N. Nowald, and U. Passow (2008): Interactions between diatom aggregates, minerals, particulate organic carbon, and dissolved organic matter: Further implications for the ballast hypothesis. *Glob. Biogeochem. Cy.*, **22**, GB4005, doi : 10.1029/2007GB003156.
- Denman, K. L., G. Brasseur, A. Chidthaisong, P. Ciais, P. M. Cox, R. E. Dickinson, D. Hauglustaine, C. Heinze, E. Holland, D. Jacob, U. Lohmann, S. Ramachandran, P. L. da Silva Dias, S. C. Wofsy, and X. Zhang (2007): Couplings between changes in the climate system and biogeochemistry. In: *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, [Solomon, S., D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K. B. Averyt, M. Tignor, H. L. Miller (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, U.S.A.
- Deutsch, C., J. L. Sarmiento, D. M. Sigman, N. Gruber, and J. P. Dunne (2007): Spatial coupling of nitrogen inputs and losses in the ocean. *Nature*, **445**, 163–167.
- Dickson, A. G., and F. J. Millero (1987): A comparison of the equilibrium constants for the dissociation of carbonic acid in seawater media. *Deep-Sea Res.*, **34**, 1733–1743.
- Doney, S. C., and D. S. Schimel (2007): Carbon and climate system coupling on timescales from the Precambrian to the Anthropocene. *Annu. Rev. Environ. Resour.*, **32**, 31–66.
- Doney, S. C., N. Mahowald, I. Lima, R. A. Feely, F. T. Mackenzie, J. F. Lamarque, and P. J. Rasch (2007): Impact of anthropogenic atmospheric nitrogen and sulfur deposition on ocean acidification and the inorganic carbon system. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **104**, 14580–14585.
- Doney, S. C., V. J. Fabry, R. A. Feely, and J. A. Kleypas (2009): Ocean acidification: The other CO₂ problem. *Ann. Rev. Mar. Sci.*, **1**, 169–192.
- Dore, J. E., R. Lukas, D. W. Sadler, M. J. Church, and D. M. Karl (2009): Physical and biogeochemical modulation of ocean acidification in the central North Pacific. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **106**, 12235–12240.
- Dyrman, S. T., P. D. Chappell, S. T. Haley, J. W. Moffett, E. D. Orchard, J. B. Waterbury, and E. A. Webb (2006): Phosphonate utilization by the globally important marine diazotroph *Trichodesmium*. *Nature*, **439**, 68–71.
- Elsig, J., J. Schmitt, D. Leuenberger, R. Schneider, M. Eyer, M. Leuenberger, F. Joos, H. Fischer, and F. Stocker (2009): Stable isotope constraints on Holocene carbon cycle changes from an Antarctic ice core. *Nature*, **461**, 507–510.
- Engel, A., B. Delille, S. Jacquet, U. Riebesell, E. Rchelle-Newall, A. Terbruggen, and I. Zondervan (2004): Transparent exopolymer particles and dissolved organic carbon production by *Emiliania huxleyi* exposed to different CO₂ concentrations: a mesocosm experiment. *Aquat. Microbiol. Ecol.*, **34**, 93–104.
- Engel, A., I. Zondervan, K. Aerts, L. Beaufort, A. Benthien, L. Chou, B. Delille, J. P. Gattuso, J. Harlay, C. Heemann, L. Hoffmann, S. Jacquet, J. Nejstgaard, M. D. Pizay, E. Rochelle-Newall, U. Schneider, A. Terbruggen, and U. Riebesell (2005): Testing the direct effect of CO₂ concentration on a bloom of the coccolithophorid *Emiliania huxleyi* in mesocosm experiment. *Limnol. Oceanogr.*, **50**, 493–507.
- Engel, A., K. G. Schulz, U. Riebesell, R. Ballerby, B. Delille, and M. Schartau (2008): Effects of CO₂ on particle size distribution and phytoplankton abundance during a mesocosm bloom experiment (PeECE II). *Biogeosciences*, **5**, 509–521.
- EPICA community members (2004): Eight glacial cycles from an Antarctic ice core. *Nature*, **429**, 623–628.
- European Project on Ocean Acidification. Guide to best practices in ocean acidification research and data reporting. <http://www.epoca-project.eu/index.php/Home/Guide-to-OA-Research/>
- Fabry, V. J., B. A. Seibel, R. A. Feely, and J. C. Orr (2008): Impacts of ocean acidification on marine fauna and ecosystem process. *ICES J. Mar. Sci.*, **65**, 414–432.
- Falkowski, P. G. (1997): Evolution of the nitrogen cycle and its influence on the biological sequestration of CO₂ in the ocean. *Nature*, **387**, 272–275.
- Falkowski, P. G., M. E. Katz, A. H. Knoll, A. Quigg, J. A. Raven, O. Schofield, and F. J. R. Taylor (2004): The evolution of modern eukaryotic phytoplankton. *Science*, **305**, 354–360.
- Falkowski, P. G., T. Fenchel, and E. F. Delong (2008): The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles. *Science*, **320**, 1034–1039.
- Feely, R. A., C. L. Sabine, J. M. Hernandez-Ayon, D. Ianson, and B. Hales (2008): Evidence for upwelling of corrosive "acidified" water onto the continental shelf. *Science*, **320**, 1490–1492.
- Feng, Y., M. E. Warner, Y. Zhang, J. Sun, F. -X. Fu, J. M. Rose, and D. A. Hutchins (2008): Interactive effects of increased pCO₂, temperature and irradiance on the marine coccolithophore *Emiliania huxleyi* (Prymnesiophyceae). *Eur. J. Phycol.*, **43**, 87–98.
- Feng, Y., C. E. Hare, K. Leblanc, J. M. Rose, Y. Zhang, G. R. DiTullio, P. A. Lee, S. W. Wilhelm, J. M. Rowe, J. Sun, N. Nemcek, C. Gueguen, U. Passow, I. Benner, C. Brown, and D. A. Hutchins (2009): Effects of increased pCO₂ and temperature on the North Atlantic spring bloom. I. The phytoplankton community and biogeochemical response. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **388**, 13–25.
- Feng, Y., C. E. Hare, J. M. Rose, S. M. Handy, G. R. DiTullio, P. A. Lee, W. O. Smith Jr., J. Peloquin, S. Tozzi, J. Sun, Y. Zhang, R. B. Dunbar, M. C. Long, B. Sohst, M. Lohan, and D. A. Hutchins (2010) Interactive effects of iron, irradiance and CO₂ on Ross Sea phytoplankton. *Deep-Sea Res. I*, **57**, 368–383.
- Fryxell, G. A. (1983): Survival strategies of the algae. Cambridge Univ. Press, pp. 144.
- Fu, F. X., M. E. Warner, Y. Zhang, Y. Feng, and D. A. Hutchins (2007) : Effects of increased temperature and CO₂ on photosynthesis, growth, and elemental ratios in marine *Synechococcus* and *Prochlorococcus* (Cyanobacteria). *J. Phycol.*, **43**, 485–496.
- Fu, F. X., Y. Zhang, M. E. Warner, Y. Feng, J. Sun, and D. A. Hutchins (2008a): A comparison of future increased CO₂ and temperature effects on sympatric *Heterosigma akashiwo* and *Prorocentrum minimum*. *Harmful Algae*, **7**, 76–90.
- Fu, F. X., M. R. Mulholland, N. S. Garcia, A. Beck, P. W. Bernhardt, M. E. Warner, S. A. Sanudo-Wilhelmy, and D. A. Hutchins (2008 b): Interactions between changing pCO₂, N₂ fixation, and Fe limitation in the marine unicellular cyanobacterium *Crocospaera*. *Limnol. Oceanogr.*, **53**, 2472–2484.
- Fu, F. X., A. R. Place, N. S. Garcia, and D. A. Hutchins (2010): CO₂ and phosphate availability control the toxicity of the dinoflagellate

- Karolodinium veneficum*. *Aquat. Microbial. Ecol.*, **59**, 55–65.
- 藤永太郎 (2005): 海と湖の化学 微量元素で探る. 宗林由樹・一色健司編, 京都大学学術出版会.
- Gibbs, S. J., P. R. Bown, J. A. Sessa, T. J. Bralmo, and P. A. Wilson (2006a): Nannoplankton extinction and origination across the Paleocene-Eocene Thermal Maximum. *Science*, **314**, 1770–1773.
- Gibbs, S. J., T. J. Bralow, P. R. Bown, J. C. Zachos, and L. M. Bybell (2006b): Shelf and open-ocean calcareous phytoplankton assemblages across the Paleocene-Eocene Thermal Maximum: Implications for global productivity gradients. *Geology*, **34**, 233–236.
- Goldman, J. C., and M. R. Shapiro (1973): Carbon dioxide and pH: Effect on species succession of algae. *Science*, **182**, 306–307.
- Goodwin, P., R. G. Williams, A. Ridgwell, and M. J. Follows (2009): Climate sensitivity to the carbon cycle modulated by past and future changes in ocean chemistry. *Nat. Geosci.*, **2**, 145–150.
- Grelaud, M., A. Schimmelmann, and L. Beaufort (2009): Coccolithophore response to climate and surface hydrography in Santa Barbara, California, AD 1917–2004. *Biogeosciences*, **6**, 2025–2039.
- Grossart, H. P., M. Allgaier, U. Passow, and U. Riebesell (2006): Testing the effect of CO₂ concentration on the dynamics of marine heterotrophic bacterioplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **51**, 1–11.
- Hagström, J. A., E. Granéli, M. O. P. Moreira, and C. Odebrecht (2011): Domoic acid production and elemental composition of two *Pseudo-nitzschia multiseriata* strains, from the NW and SW Atlantic Ocean, growing in phosphorus- or nitrogen-limited chemostat cultures. *J. Plankton Res.*, **33**, 297–308.
- Hansen, P. J. (2002): Effect of high pH on the growth and survival of marine phytoplankton: implications for species succession. *Aquat. Microbial. Ecol.*, **28**, 279–288.
- Hare, C. E., K. Leblanc, G. R. DiTullio, R. M. Kudela, Y. Zhang, P. A. Lee, S. Riseman, and D. A. Hutchins (2007): Consequences of increased temperature and CO₂ for phytoplankton community structure in the Bering Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **352**, 9–16.
- Harrison, K. G. (2000): Role of increased marine silica input on paleo-pCO₂ levels. *Paleoceanography*, **15**, 292–298.
- Hashihama, F., M. Sato, S. Takeda, J. Kanda, and K. Furuya (2010): Mesoscale decrease of surface phosphate and associated phytoplankton dynamics in the vicinity of the subtropical South Pacific islands. *Deep-Sea Res. I*, **57**, 338–350.
- Hassler, C. S., and V. Schoemann (2009): Bioavailability of organically bound Fe to model phytoplankton of the Southern Ocean. *Biogeosciences*, **6**, 2281–2296.
- Hassler, C. S., V. Schoemann, C. M. Nichols, E. C. V. Butler, and P. W. Boyd (2011): Saccharides enhance iron bioavailability to Southern Ocean phytoplankton. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 1076–1081.
- Head, R. N., D. W. Crawford, J. E. Egge, R. P. Harris, S. Kristiansen, D. J. Lesley, E. Marañón, D. Pond, and D. A. Purdie (1998): The hydrography and biology of a bloom of the coccolithophorid *Emiliania huxleyi* in the northern North Sea. *J. Sea Res.*, **39**, 255–266.
- Hein, M., and K. Sand-Jensen (1997): CO₂ increases oceanic primary production. *Nature*, **388**, 526–527.
- Henderson, L. J., and E. J. Cohn (1916): The equilibrium between acids and bases in sea water. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **2**, 618–622.
- Hinga, K. R. (1992): Co-occurrence of dinoflagellate blooms and high pH in marine enclosures. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **86**, 181–187.
- Hoffmann, A. A., and C. M. Sgrò (2011): Climate change and evolutionary adaptation. *Nature*, **470**, 479–485.
- Hofmann, M., and H. -J. Schellnhuber (2009): Oceanic acidification affects marine carbon pump and triggers extended marine oxygen holes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 3017–3022.
- Hopkins, F. E., S. M. Turner, P. D. Nightingale, M. Steinke, D. Bakker, and P. S. Liss (2010): Ocean acidification and marine trace gas emissions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 760–765.
- Hopkinson, C. S., and J. J. Vallino (2005): Efficient export to the deep ocean through dissolved organic matter. *Nature*, **433**, 142–145.
- Hopkinson, B. M., Y. Xu, D. Shi, P. J. McGinn, and F. M. M. Morel (2010): The effect of CO₂ on the photosynthetic physiology of phytoplankton in the Gulf of Alaska. *Limnol. Oceanogr.*, **55**, 2011–2024.
- Hopkinson, B. M., C. L. Dupont, A. E. Allen, and F. M. M. Morel (2011): Efficiency of the CO₂-concentration mechanism of diatoms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 3830–3837.
- Hoppe, C. J. M., G. Langer, and B. Rost (2011): *Emiliania huxleyi* shows identical responses to elevated pCO₂ in TA and DIC manipulations. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **406**, 54–62.
- Horita, J., H. Zimmermann, and H. D. Holland (2002): Chemical evolution of seawater during the Phanerozoic: Implications from the record of marine evaporites. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **66**, 3733–3756.
- Houghton, R. A. (2007): Balancing the global carbon budget. *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.*, **35**, 313–347.
- Hurd, C. L., C. D. Hepburn, K. I. Currie, J. A. Raven, and K. A. Hunter (2009): Testing the effects of ocean acidification on algal metabolism: Considerations for experimental designs. *J. Phycol.*, **45**, 1236–1251.
- Hutchins, D. A., A. E. Witter, A. Bulter, and G. W. Luther III (1999): Competition among marine phytoplankton for different chelated iron species. *Nature*, **400**, 858–861.
- Hutchins, D. A., F. Pustizzi, C. E. Hare, and G. R. DiTullio (2003): A shipboard natural community continuous culture system for ecologically relevant low-level nutrient enrichment experiment. *Limnol. Oceanogr.: Methods*, **1**, 82–91.
- Hutchins, D. A., F. X. Fu, Y. Zhang, M. E. Warner, Y. Feng, K. Portune, P. W. Bernhardt, and M. R. Mulholland (2007): CO₂ control of *Trichodesmium* N₂ fixation, photosynthesis, growth rates, and elemental ratios: Implications for past, present, and future ocean biogeochemistry. *Limnol. Oceanogr.*, **52**, 1293–1304.
- Hutchins, D. A., M. R. Mulholland, and F. X. Fu (2009): Nutrient cycles and marine microbes in a CO₂-enriched ocean. *Oceanography*, **22**, 128–145.
- Hwang, D. F., and Y. H. Lu (2000): Influence of environmental and nutritional factors on growth, toxicity, and toxin profile of dinoflagellate *Alexandrium minutum*. *Toxicon*, **38**, 1491–1503.
- Ichinomiya, M., M. Nakamachi, M. Fukuchi, and A. Taniguchi (2008): Population dynamics of an ice-associated diatom, *Thalassiosira australis* Peragallo, under fast ice near Syowa Station, East Antarctica, during austral summer. *Polar Biol.*, **31**, 1051–1058.
- Iglesias-Rodríguez, M. D., E. T. Buitenhuis, J. A. Raven, O. Schofield, A. J. Poulton, S. Gibbs, P. R. Halloran, and H. J. W. de Baar (2008a): Response to comment on “phytoplankton calcification in a high-CO₂ world”. *Science*, **322**, 1466c,

- Iglesias-Rodriguez, M. D., P. R. Halloran, R. E. M. Rickaby, I. R. Hall, E. Colmenero-Hidalgo, J. R. Gittins, D. R. H. Green, T. Tyrrell, S. J. Gibbs, P. von Dassow, E. Rehm, E. V. Armbrust, and K. P. Boessenkool (2008b): Phytoplankton calcification in a high-CO₂ world. *Science*, **320**, 336–340.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (2009): Chairman's vision paper. AR5 Scoping Meeting, Venice, Italy, 13–17, July.
- Itakura, S. (2000): Physiological ecology of the resting stage cells of coastal planktonic diatoms. *Bull. Fish. Environ. Inland Sea*, **2**, 67–130. (in Japanese with English abstract).
- Jickells, T. D., Z. S. An, K. K. Andersen, A. R. Baker, G. Bergametti, N. Brooks, J. J. Cao, P. W. Boyd, R. A. Duce, K. A. Hunter, H. Kawahata, N. Kubilay, J. LaRoche, P. S. Liss, N. Mahowald, J. M. Prospero, A. J. Ridgwell, I. Tegen, and R. Torres (2005): Global iron connections between desert dust, ocean biogeochemistry, and climate. *Science*, **308**, 67–71.
- Joint, I., S. C. Doney, and D. M. Karl (2011): Will ocean acidification affect marine microbes? *ISME J.*, **5**, 1–7.
- Kasamatsu, N., T. Hirano, S. Kudoh, T. Odate, and M. Fukuchi (2004): Dimethylsulfoniopropionate production by psychrophilic diatom isolates. *J. Phycol.*, **40**, 874–878.
- Kienast, S. S., M. Kienast, S. Jaccard, S. E. Calvert, and R. Francois (2006): Testing the silica leakage hypothesis with sedimentary opal records from the eastern equatorial Pacific over the last 150 kysr. *Geophys. Res. Lett.*, **33**, L15607, doi : 10.1029/2006GL26651.
- Kim, J. M., K. Lee, K. Shin, J. H. Kang, H. W. Lee, M. Kim, P. G. Jang, and M. C. Jang (2006): The effect of seawater CO₂ concentration on growth of a natural phytoplankton assemblage in controlled mesocosm experiment. *Limnol. Oceanogr.*, **51**, 1629–1636.
- Kim, J. M., K. Shin, K. Lee, and B. K. Park (2008): In situ ecosystem-based carbon dioxide perturbation experiments: Design and performance evaluation of a mesocosm facility. *Limnol. Oceanogr.: Methods*, **6**, 208–217.
- King, A. L., S. A. Sañudo-Wilhelmy, K. Leblanc, D. A. Hutchins, and F. Fu (2011): CO₂ and vitamin B₁₂ interactions determine bioactive trace metal requirements of a subarctic Pacific diatom. *ISME J.*, **1**–9.
- Kobari, T., A. Shinada, and A. Tsuda (2003): Functional roles of interzonal migrating mesozooplankton in the western subarctic Pacific. *Progr. Oceanogr.*, **57**, 279–298.
- Kohfeld, K. E., C. Le Quéré, S. P. Harrison, and R. E. Anderson (2005): Role of marine biology in glacial-interglacial CO₂ cycles. *Science*, **308**, 74–78.
- Ku, T. C. W., L. M. Walter, M. L. Coleman, R. E. Blake, and A. M. Martini (1999): Coupling between sulfur recycling and syndepositional carbonate dissolution: Evidence from oxygen and sulfur isotope composition of pore water sulfate, South Florida Platform, U.S.A. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **63**, 2529–2546.
- Kuma, K., J. Nishioka, and K. Matsunaga (1996): Controls on iron (III) hydroxide solubility in seawater: The influence of pH and natural organic chelators. *Limnol. Oceanogr.*, **41**, 396–407.
- Kuss, J., and B. Schneider (2004): Chemical enhancement of the CO₂ gas exchange at a smooth seawater surface. *Mar. Chem.*, **91**, 165–174.
- Lakeman, M. B., P. von Dassow, and R. A. Cattolico (2009): The strain concept in phytoplankton ecology. *Harmful Algae*, **8**, 746–758.
- Lana, A., T. G. Bell, R. Simó, S. M. Vallina, J. Ballabrera-Poy, A. J. Kettle, J. Dachs, L. Bopp, E. S. Saltzman, J. Stefels, J. E. Johnson, and P. S. Liss (2011): An updated climatology of surface dimethylsulfide concentrations and emission fluxes in the global ocean. *Glob. Biogeochem. Cy.*, **25**, GB1004, doi : 10.1029/2010GB003850.
- Langer, G., M. Geisen, K. H. Baumann, J. Kläs, U. Riebesell, S. Thoms, and J. R. Young (2006): Species-specific responses of calcifying algae to changing seawater carbonate chemistry. *Geochem. Geophys. Geosys.*, **7**, Q090006, doi : 10.1029/2005GC001227.
- Langer, G., G. Nehrke, I. Probert, J. Ly, and P. Ziveri (2009): Strain-specific responses on *Emiliania huxleyi* to changing seawater carbonate chemistry. *Biogeosciences*, **6**, 2637–2646.
- LaRoche, J., B. Rost, and A. Engel (2010): Bioassays, batch culture and chemostat experimentation, p. 81–94. In *Guide to best practices for ocean acidification research and data reporting*, edited by U. Riebesell, V. J. Fabry, L. Hansson, and J. P. Gattuso, European Union, Luxembourg.
- Lee, K., and F. J. Millero (1995): Thermodynamic studies of the carbonate system in seawater. *Deep-Sea Res. I*, **42**, 2035–2061.
- Lee, P. A., J. R. Rudisill, A. R. Neeley, J. M. Maucher, D. A. Hutchins, Y. Feng, C. E. Hare, K. Leblanc, J. M. Rose, S. W. Wilhelm, J. M. Rowe, and G. R. DiTullio (2009): Effects of increased pCO₂ and temperature on the North Atlantic spring bloom. III. Dimethylsulfoniopropionate. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **388**, 41–49.
- Leonardos, N., B. Read, B. Thake, and J. R. Young (2009): No mechanistic dependence of photosynthesis on calcification in the coccolithophorid *Emiliania huxleyi* (Haptophyta). *J. Phycol.*, **45**, 1046–1051.
- Le Quéré, C., M. R. Raupach, J. G. Canadell, G. Marland, L. Bopp, P. Ciais, T. J. Conway, S. C. Doney, R. A. Feely, P. Foster, P. Friedlingstein, K. Gurney, R. A. Houghton, J. I. House, C. Huntingford, P. E. Levy, M. R. Lomas, J. Majkut, N. Metzl, J. P. Ometto, G. P. Peters, I. C. Prentice, J. T. Randerson, S. W. Running, J. L. Sarmiento, U. Schuster, S. Sitch, T. Takahashi, N. Viovy, G. R. van der Werf, and F. I. Woodward (2009): Trends in the sources and sinks of carbon dioxide. *Nature Geosci.*, **2**, 831–836.
- Levitan, O., G. Rosenberg, I. Setlik, E. Setlikova, J. Grigel, J. Klepetar, O. Prasil, and I. Berman-Frank (2007): Elevated CO₂ enhances nitrogen fixation and growth in the marine cyanobacteria *Trichodesmium*. *Glob. Change Biol.*, **13**, 531–538.
- Levitan, O., C. M. Brown, S. Sudhaus, D. Campbell, J. LaRoche, and I. Berman-Frank (2010): Regulation of nitrogen metabolism in the marine diazotroph *Trichodesmium* IMS101 under varying temperatures and atmospheric CO₂ concentrations. *Environ. Microbiol.*, **12**, 1899–1912.
- Lewis, E., and D. W. R. Wallance (1998): Program developed for CO₂ system calculations. ORNL/CDAC–105. Carbon dioxide information analysis center, Oak Ridge National Laboratory, U. S.
- Liu, J., M. G. Weinbauer, C. Maier, M. Dai, and J.-P. Gattuso (2010): Effect of ocean acidification on microbial diversity and on microbe-driven biogeochemistry and ecosystem functioning. *Aquat. Microbial Ecol.*, **61**, 291–305.
- Lundholm, N., P. J. Hansen, and Y. Kotaki (2004): Effect of pH on growth and Domoic acid production by potentially toxic diatoms

- of the genera *Pseudo-nitzschia* and *Nitzschia*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **273**, 1–15.
- Marchetti, C. (1977): On geoengineering and the CO₂ problem. *Climatic Change*, **1**, 59–68.
- Mari, X. (2008): Does ocean acidification induce an upward flux of marine aggregates? *Biogeosciences*, **5**, 1023–1031.
- Marshall, S.M., and A.P. Orr (1948): Further experiments on the fertilization of a sea loch (Loch Craiglin). The effect of different plant nutrients on the phytoplankton. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **27**, 360–379.
- Martin, C. L., and P. D. Tortell (2006): Bicarbonate transport and extracellular carbonic anhydrase activity in Bering Sea phytoplankton assemblages: Results from isotope disequilibrium experiments. *Limnol. Oceanogr.*, **51**, 2111–2121.
- Martin, J. H. (1990): Glacial–interglacial CO₂ change: The iron hypothesis. *Paleoceanography*, **5**, 1–13.
- Martin-Jézéquel, V., M. Hildebrand, and M. A. Brzezinski (2000): Silicon metabolism in diatoms: Implications for growth. *J. Phycol.*, **36**, 821–840.
- Martz, T. R., J. G. Connery, and K. S. Johnson (2010): Testing the Honeywell Durafet for seawater pH applications. *Limnol. Oceanogr.: Methods*, **8**, 172–184.
- Matear, R., and B. McNeil (2009): Enhanced biological carbon consumption in a high CO₂ ocean: a revised estimate of the atmospheric uptake efficiency. *Biogeosciences Discuss.*, **6**, 8101–8128.
- Medlin, L. K. (1998): Genetic variability and phytoplankton species, p. 257–265. In *IOC Work Shop Report No. 142, Pelagic Biogeography ICoPB II. Proc. 2nd Int. Conf. Final Report of SCOR/IOC Working Group 93 'Pelagic Biogeography'*. Noordwijkerhout, The Netherlands.
- Meinshausen, M., N. Meinshausen, W. Hare, S. C. B. Raper, K. Frieler, R. Knutti, D. J. Frame, and M. R. Allen (2009): Greenhouse-gas emission targets for limiting global warming to 2 °C. *Nature*, **458**, 1158–1162.
- Merico, A., T. Tyrrell, and P. A. Wilson (2008): Eocene/Oligocene ocean de-acidification linked to Antarctic glaciation by sea-level fall. *Nature*, **452**, 979–982.
- Midorikawa, T., M. Ishii, S. Saito, D. Sasano, N. Kosugi, T. Motoi, H. Kamiya, A. Nakadate, K. Nemoto, and H. Y. Inoue (2010): Decreasing pH trend estimated from 25-yr time series of carbonate parameters in the western North Pacific. *Tellus*, **62B**, 649–659.
- Millero, F. J., S. Sotolongo, and M. Izaguirre (1987): The oxidation kinetics of Fe (II) in seawater. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **51**, 793–801.
- Millero, F. J., T. B. Graham, F. Huang, H. Bustos-Serrano, and D. Pierrot, (2006): Dissociation constants of carbonic acid in seawater as a function of salinity and temperature. *Mar. Chem.*, **100**, 80–94.
- Millero, F. J., R. Woosley, B. Ditrolio, and J. Waters (2009): Effect of ocean acidification on the speciation of metals in seawater. *Oceanography*, **22**, 72–85.
- Milligan, A. J., D. E. Varela, M. A. Brzezinski, and F. M. M. Morel (2004): Dynamics of silicon metabolism and silicon isotopic discrimination in a marine diatom as a function of pCO₂. *Limnol. Oceanogr.*, **49**, 322–329.
- Milligan, A. J., C. E. Mioni, and F. M. M. Morel (2009): Response of cell surface pH to pCO₂ and iron limitation in the marine diatom *Thalassiosira weissflogii*. *Mar. Chem.*, **114**, 31–36.
- Morel, F. M. M. (1994): Zinc and carbon co-limitation of marine phytoplankton. *Nature*, **369**, 740–742.
- Morel, F. M. M. (2008): The co-evolution of phytoplankton and trace element cycles in the oceans. *Geobiology*, **6**, 318–324.
- Morse, J. W., A. Mucci, and F. J. Millero (1980): The solubility of calcite and aragonite in seawater of 35‰ salinity at 25 °C and atmospheric pressure. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **44**, 85–94.
- Moore, J. K., and O. Braucher (2008): Sedimentary and mineral dust sources of dissolved iron to the world ocean. *Biogeosciences*, **5**, 631–656.
- Müller, M. N., A. N. Antia, and J. LaRoche (2008): Influence of cell cycle phase on calcification in the coccolithophore *Emiliania huxleyi*. *Limnol. Oceanogr.*, **53**, 506–512.
- Müller, M. N., K. G. Schulz, and U. Riebesell (2010): Effects of long-term high CO₂ exposure on two species of coccolithophores. *Biogeosciences*, **7**, 1109–1116.
- Naem, S. (2009): Gini in the bottle. *Nature*, **458**, 579–580.
- Nishioka, J., T. Ono, H. Saito, T. Nakatsuka, S. Takeda, T. Yoshimura, K. Suzuki, K. Kuma, S. Nakabayashi, D. Tsumune, H. Mitsudera, W. K. Johnson, and A. Tsuda (2007): Iron supply to the western subarctic Pacific: Importance of iron export from the Sea of Okhotsk. *J. Geophys. Res.*, **112**, C10012, doi : 10.1029/2006JC004055.
- 野崎義行 (1994): 地球温暖化と海 炭素の循環から探る. pp. 196. 東京大学出版会.
- Nunes, F. and R. D. Norris (2006): Abrupt reversal in ocean overturning during the Paleocene/Eocene warm period. *Nature*, **439**, 60–63. doi : 10.1038/nature04386.
- Olafsson, J., S. R. Olafsdottir, A. Benoit-Cattin, M. Danielsen, T. S. Arnarson, and T. Takahashi (2009): Rate of Iceland Sea acidification from time series measurement. *Biogeosciences*, **6**, 2661–2668.
- Orr, J. C., K. Caldeira, V. Fabry, J. P. Gattuso, P. Haugan, P. Lehodey, S. Pantoja, H. O. Pörtner, U. Riebesell, T. Trull, M. Hood, E. Urban, and W. Broadgate (2009): Research priorities for ocean acidification, report from the second symposium on the Ocean in a High-CO₂ World. Monaco, October 6–9, 2008, convened by SCOR, UNESCO-IOC, IAEA, and IGBP, pp. 25. (<http://ioc3.unesco.org/oanet/HighCO2World.html>) .
- Pagani, M., J. C. Zachos, K. H. Freeman, B. Tipler, and S. Bohaty (2005): Marked decline in atmospheric carbon dioxide concentrations during the Paleogene. *Science*, **309**, 600–603. doi : 10.1126/science.1110063.
- Park, K., D. W. Hood, and H. T. Odum (1958): Diurnal pH variation in Texas bays and its application to primary production estimation. *Contr. Mar. Sci. Univ. Texas*, **5**, 47–64.
- Passow, U., and C. L. De La Rocha (2006): Accumulation of mineral ballast on organic aggregates. *Glob. Biogeochem. Cy.*, **20**, GB1013, doi : 10.1029/2005GB002579.
- Paulino, A. I., J. K. Egge, and A. Larsen (2008): Effects of increased atmospheric CO₂ on small and intermediate sized osmotrophs during a nutrient induced phytoplankton bloom. *Biogeosciences*, **5**, 739–748.
- Pearson, P. N., and M. R. Palmer (2000): Atmospheric carbon dioxide concentrations over the past 60 million years. *Nature*, **406**, 695–

- 699.
- Petit, J. R., J. Jouzel, D. Raynaud, N. I. Barkov, J. M. Barnola, I. Basile, M. Bender, J. Chappellaz, M. Davis, G. Delaygue, M. Delmotte, V. M. Kotlyakov, M. Legrand, V. Y. Lipenkov, C. Lorius, L. Pépin, C. Ritz, E. Saltzman, and M. Stievenard (1999): Climate and atmospheric history of the past 420,000 years from the Vostok ice core, Antarctica. *Nature*, **399**, 429–436.
- Pickell, L. D., M. L. Wells, C. G. Trick, and W. P. Cochlan (2009): A sea-going continuous culture system for investigating phytoplankton community response to macro- and micro-nutrient (trace metal) manipulations. *Limnol. Oceanogr.: Methods*, **7**, 21–32.
- Ploug, H. (2008): Cyanobacterial surface bloom formed by *Aphanizomenon* sp. and *Nodularia spumigena* in the Baltic Sea: Small-scale fluxes, pH, and oxygen microenvironments. *Limnol. Oceanogr.*, **53**, 914–921.
- Poorvin, L., J. M. Rinta-Kanto, D. A. Hutchins, and S. W. Wilhelm SW (2004): Viral release of iron and its bioavailability to marine plankton. *Limnol. Oceanogr.*, **49**, 1734–1741.
- Price, N. M., and F. M. M. Morel (1990): Cadmium and cobalt substitution for zinc in a marine diatom. *Nature*, **344**, 658–660.
- Quigg A., Z. V. Finkel, A. J. Irwin, Y. Rosenthal, T. Y. Ho, J. R. Reinfelder, O. Schofield, F. M. M. Morel, and P. G. Falkowski (2003): The evolutionary inheritance of elemental stoichiometry in marine phytoplankton. *Nature*, **425**, 291–294.
- Rabosky, D. L., and U. Sorhannus (2009): Diversity dynamics of marine planktonic diatoms across the Cenozoic. *Nature*, **457**, 183–186. doi : 10.1038/nature07435.
- Raven, J. A. (1988): The iron and molybdenum use efficiencies of plant growth with different energy, carbon and nitrogen sources. *New Phytol.*, **109**, 279–287.
- Raven, J. A. (1997): Inorganic carbon acquisition by marine autotrophs. *Advances in Botanical Res.*, **27**, 86–209.
- Raven, J. A. (2010): Inorganic carbon acquisition by eukaryotic algae: four current questions. *Photosynth. Res.*, **106**, 123–134.
- Redfield, A. C., B. H. Ketchum, and F. A. Richards (1963): The influence of organisms on the composition of seawater. In: Hill MN (eds) *The Sea*. Vol. 2. Wiley, New York p 26–77.
- Reinfelder, J. R. (2010): Carbon concentrating mechanisms in eukaryotic marine phytoplankton. *Annu. Rev. Mar. Sci.*, **3**, 291–315. doi : 10.1146/annurev-marine-120709-142720.
- Richier, S., S. Fiorini, M. E. Kerros, P. van Dassow, and J. P. Gattuso (2011): Response of the calcifying coccolithophore *Emiliania huxleyi* to low pH/high $p\text{CO}_2$: from physiology to molecular level. *Mar. Biol.*, **158**, 551–560. doi : 10.1007/s00227-010-1580-8.
- Riding, R. (2006): Cyanobacterial calcification, carbon dioxide concentrating mechanisms, and Proterozoic-Cambrian changes in atmospheric composition. *Geobiology*, **4**, 299–316.
- Ridgwell, A., D. N. Schmidt, C. Turley, C. Brownlee, M. T. Maldonado, P. Tortell, and J. R. Young (2009): From laboratory manipulations to Earth system models: scaling calcification impacts of ocean acidification. *Biogeosciences*, **6**, 2611–2623.
- Ridgwell, A., and D. N. Schmidt (2010): Past constraints on the vulnerability of marine calcifiers to massive carbon dioxide release. *Nat. Geosci.*, doi : 10.1038/ngeo0755.
- Riebesell, U. (2004): Effects of CO_2 enrichment on marine phytoplankton. *J. Oceanogr.*, **60**, 719–729.
- Riebesell, U., D. A. Wolf-Gladrow, and V. Smetacek (1993): Carbon dioxide limitation of marine phytoplankton growth rate. *Nature*, **361**, 249–251.
- Riebesell, U., I. Zondervan, B. Rost, P. D. Tortell, R. E. Zeebe, and F. M. M. Morel (2000): Reduced calcification of marine plankton in response to increased atmospheric CO_2 . *Nature*, **407**, 364–367.
- Riebesell, U., K. G. Schulz, R. G. J. Bellerby, M. Botros, P. Fritsche, M. Meyerhöfer, C. Neill, G. Nondal, A. Oshiles, J. Wohlers, and E. Zöllner (2007): Enhanced biological carbon consumption in a high CO_2 ocean. *Nature*, **450**, 545–548.
- Riebesell, U., R. G. J. Bellerby, V. J. Fabry, D. A. Hutchins, T. B. H. Reusch, K. G. Schulz, and F. M. M. Morel (2008a): Comment on “phytoplankton calcification in a high- CO_2 world” . *Science*, **322**, 1466b.
- Riebesell, U., R. G. J. Bellerby, H. P. Grossart, and F. Thingstad (2008 b): Mesocosm CO_2 perturbation studies: from organism to community level. *Biogeosciences*, **5**, 1157–1164.
- Ries, J. B. (2010): Review: geological and experimental evidence for secular variation in seawater Mg/Ca (calcite-aragonite seas) and its effects on marine biological calcification. *Biogeosciences*, **7**, 2795–2849.
- Rijkenberg, M. J. A., L. J. A. Gerringa, K. R. Timmermans, A. C. Fischer, K. J. Kroom, A. G. J. Buma, B. T. Wolterbeek, and H. J. W. de Baar (2008): Enhancement of the reactive iron pool by marine diatoms. *Mar. Chem.*, **109**, 29–44.
- Roberts, K., E. Granum, R. C. Leegood, and J. A. Raven (2007): C3 and C4 pathways of photosynthetic carbon assimilation in marine diatoms are under genetic, not environmental, control. *Plant Physiol.*, **145**, 230–235. doi : 10.1104/pp.107.102616.
- Rochelle-Newall, E., B. Delille, M. Frankignoulle, J.-P. Gattuso, S. Jacquet, U. Riebesell, A. Terbruggen, and I. Zondervan (2004): Chromophoric dissolved organic matter in experimental mesocosms maintained under different $p\text{CO}_2$ levels. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **272**, 25–31.
- Rose, J. M., Y. Feng, C. J. Gobler, R. Gutierrez, C. E. Hare, K. Leblanc, and D. A. Hutchins (2009): Effects of increased $p\text{CO}_2$ and temperature on the North Atlantic spring bloom. II. Microzooplankton abundance and grazing. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **388**, 27–40.
- Rost, B., U. Riebesell, S. Burkhardt, and D. Sültemeyer (2003): Carbon acquisition of bloom-forming marine phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **48**, 55–67.
- Rost, B., K. U. Richter, U. Riebesell, and P. J. Hansen (2006): Inorganic carbon acquisition in red tide dinoflagellates. *Plant Cell Environ.*, **29**, 810–822.
- Rost, B., I. Zondervan, and D. Wolf-Gladrow (2008): Sensitivity of phytoplankton to future changes in ocean carbonate chemistry: current knowledge, contradictions and research directions. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **373**, 227–237.
- Royal Society (2005): Ocean acidification due to increasing atmospheric carbon dioxide. London: The Royal Society. pp. 57.
- Sabine, C. L., R. A. Feely, N. Gruber, R. M. Key, K. Lee, J. L. Bullister, R. Wanninkhof, C. S. Wong, D. W. R. Wallace, B. Tilbrook, F. J. Millero, T. H. Peng, A. Kozyr, T. Ono, and A. F. Rios (2004): The ocean sink for anthropogenic CO_2 . *Science*, **305**, 367–371.
- Saito, M. A., T. J. Goepfert, and J. T. Ritt (2008a): Some thoughts on

- the concept of colimitation: Three definitions and the importance of bioavailability. *Limnol. Oceanogr.*, **53**, 276–290.
- Saito, M. A., E. M. Bertrand, S. Dutkiewicz, V. V. Bulygin, D. M. Moran, F. M. Monteiro, M. J. Follows, F. W. Valois, and J. B. Waterbury (2011): Iron conservation by reduction of metalloenzyme inventories in the marine diazotroph *Crocospaera watsonii*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 2184–2189.
- Saito, S., M. Ishii, T. Midorikawa, and H. Y. Inoue (2008b): Precise spectrophotometric measurement of seawater pH_T with an automated apparatus using a flow cell in a closed circuit. *Tech. Rep. Meteorol. Res. Inst.*, **57**, 1–28.
- Santana-Casiano, J. M., M. González-Dávila, and F. J. Millero (2005): Oxidation of nanomolar levels of Fe (II) with oxygen in natural waters. *Environ. Sci. Technol.*, **39**, 2073–2079.
- Sarthou, G., K. R. Timmermans, S. Blain, and P. Tréguer (2005): Growth physiology and fate of diatoms in the ocean: a review. *J. Sea Res.*, **53**, 25–42.
- Schnetzler, A., P. E. Miller, R. A. Schaffner, B. A. Stauffer, B. J. Jones, S. B. Weisberg, P. M. DiGiacomo, W. M. Berelson, and D. A. Caron (2007): Bloom of *Pseudo-nitzschia* and domoic acid in the San Pedro Channel and Los Angeles harbor areas of the Southern California Bight, 2003–2004. *Harmful Algae*, **6**, 372–387.
- Schulz, K. G., I. Zondervan, L. J. A. Gerringa, K. R. Timmermans, M. J. W. Veldhuis, and U. Riebesell (2004): Effect of trace metal availability on coccolithophorid calcification. *Nature*, **430**, 673–676.
- Schulz, K. G., U. Riebesell, R. G. Bellerby, H. Biswas, M. Meyerhöfer, M. N. Müller, J. K. Egge, J. C. Nejtgaard, C. Neill, J. Wohlers, and E. Zöllner (2008): Build-up and decline of organic matter during PeECE III. *Biogeosciences*, **5**, 707–718.
- Schulz, K. G., J. Barcelos e Ramos, R. E. Zeebe, and U. Riebesell (2009): CO₂ perturbation experiments: similarities and differences between dissolved inorganic carbon and total alkalinity manipulations. *Biogeosciences*, **6**, 2145–2153.
- Seibel, B. A., and P. J. Walsh (2001): Potential impacts of CO₂ injection on deep-sea biota. *Science*, **294**, 319–320.
- Shi, D., Y. Xu, and F. M. M. Morel (2009): Effects of the pH/ pCO₂ control method in the growth medium of phytoplankton. *Biogeosciences*, **6**, 1199–1207.
- Shi, D., Y. Xu, B. M. Hopkinson, and F. M. M. Morel (2010): Effect of ocean acidification on iron availability to marine phytoplankton. *Science*, **327**, 676–679.
- Shiraiwa, Y. (2003): Physiological regulation of carbon fixation in the photosynthesis and calcification of coccolithophorids. *Comp. Biochem. Phys. B*, **136**, 775–783.
- Sigman, D. M., and E. A. Boyle (2000): Glacial/interglacial variations in atmospheric carbon dioxide. *Nature*, **407**, 859–869.
- Smetacek, V. (1999): Diatoms and the ocean carbon cycle. *Protist*, **150**, 25–32.
- Stanley, S. M., J. B. Ries, and L. A. Hardie (2005): Seawater chemistry, coccolithophore population growth, and the origin of Cretaceous chalk. *Geology*, **33**, 593–596.
- Steffen, W., P. J. Crutzen, and J. R. McNeill (2007): The Anthropocene: Are humans now overwhelming the great forces of nature. *AMBIO*, **36**, 614–621.
- Stumm, W., and J. J. Morgan (1996): Aquatic chemistry, 3rd edn. Wiley-Interscience, New York, pp. 1022.
- Suffrian, K., P. Simonelli, J. C. Nejtgaard, S. Putzeys, Y. Carotenuto, and A. N. Anita (2008): Microzooplankton grazing and phytoplankton growth in marine mesocosms with increased CO₂ levels. *Biogeosciences*, **5**, 1145–1156.
- Sugie, K., and K. Kuma (2008): Resting spore formation in the marine diatom *Thalassiosira nordenskiöldii* under iron- and nitrogen-limited conditions. *J. Plankton Res.*, **30**, 1245–1255.
- Sugie, K., K. Kuma, S. Fujita, and T. Ikeda (2010): Increase in Si : N drawdown ratio due to resting spore formation by spring bloom-forming diatoms under Fe- and N-limited conditions in the Oyashio region. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **382**, 108–116.
- Sun, J., D. A. Hutchins, Y. Feng, E. L. Seubert, D. A. Caron, and F. X. Fu (2011): Effects of changing pCO₂ and phosphate availability on domoic acid production and physiology of the marine harmful bloom diatom *Pseudo-nitzschia multiseries*. *Limnol. Oceanogr.*, **56**, 829–840.
- Sunda, W., D. J. Kieber, R. P. Kiene, and S. Huntsman (2002): An antioxidant function for DMSP and DMS in marine algae. *Nature*, **418**, 317–320.
- Sunda, W., and S. Huntsman (2003): Effect of pH, light, and temperature on Fe-EDTA chelation and Fe hydrolysis in seawater. *Mar. Chem.*, **84**, 35–47.
- 諏訪僚太・中村崇・井口亮・中村雅子・守田昌哉・加藤亜記・藤田和彦・井上麻夕里・酒井一彦・鈴木淳・小池勲夫・白山義久・野尻幸弘 (2010): 海洋酸性化がサンゴ礁域の石灰化生物に及ぼす影響. 海の研究, 19, 21–41.
- Takahashi, T., S. C. Sutherland, R. Wanninkhof, C. Sweeney, R. A. Feely, D. W. Chipman, B. Hales, G. Friederich, F. Chavez, C. Sabine, A. Watson, D. C. E. Bakker, U. Schuster, N. Metzl, H. Yoshikawa-Inoue, M. Masao, T. Midorikawa, Y. Nojiri, A. Krötzing, T. Steinhoff, M. Hoppema, J. Olafsson, T. S. Arnarson, B. Tilbrook, T. Johannessen, A. Olsen, R. Belleby, C. S. Wong, B. Delille, N. R. Bates, and H. J. W. de Baar (2009): Climatological mean and decadal change in surface ocean pCO₂, and net sea-air CO₂ flux over the global oceans. *Deep-Sea Res. II*, **56**, 554–577.
- Takeda, S., (1998): Influence of iron availability on nutrient consumption ratio of diatoms in oceanic waters. *Nature*, **393**, 774–777.
- Tanaka, T., T. F. Thingstad, T. Løvdal, H. P. Grossart, A. Larsen, M. Allgaier, M. Meyerhöfer, K. G. Schulz, J. Wohlers, E. Zöllner, and U. Riebesell (2008): Availability of phosphate for phytoplankton and bacteria and of glucose for bacteria at different pCO₂ levels in a mesocosm study. *Biogeosciences*, **5**, 669–678.
- Tans, P (2011): Trends in carbon dioxide (NOAA/ESRL). <http://www.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends/>, (accessed on January 28, 2011).
- Thierstein, H. R., K. R. Geitzenauer, B. Molino, and N. J. Shackleton (1977): Global synchronicity of late Quaternary coccolith datum levels Validation by oxygen isotopes. *Geology*, **5**, 400–404.
- Tortell, P. D. (2000): Evolutionary and ecological perspectives on carbon acquisition in phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **45**, 744–750.
- Tortell, P. D., G. R. DiTullio, D. M. Sigman, and F. M. M. Morel (2002): CO₂ effects on taxonomic composition and nutrient utilization in an Equatorial Pacific phytoplankton assemblage. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **236**, 37–43.

- Tortell, P. D., C. L. Martin, and M. E. Corkum (2006): Inorganic carbon uptake and intracellular assimilation by subarctic Pacific phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **51**, 2102–2110.
- Tortell, P. D., C. D. Payne, Y. Li, S. Trimborn, B. Rost, W. O. Smith, C. Riesselman, R. B. Dubar, P. Sedwick, and G. R. DiTullio (2008a): CO₂ sensitivity of Southern Ocean phytoplankton. *Geophys. Res. Lett.*, **35**, L04605, doi : 10.1029/2007GL032583.
- Tortell, P. D., C. Payne, C. Gueguen, R. F. Strzepek, P. W. Boyd, and B. Rost (2008b): Inorganic carbon uptake by Southern Ocean phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **53**, 1266–1278.
- Tortell, P. D., S. Trimborn, Y. Li, B. Rost, and C. D. Payne (2010): Inorganic carbon utilization by Ross Sea phytoplankton across natural and experimental CO₂ gradients. *J. Phycol.*, **46**, 433–443.
- Treguer, P., and P. Pondaven (2000): Silica control of carbon dioxide. *Nature*, **406**, 358–359.
- Trimborn, S., N. Lundholm, S. Thoms, K. U. Richter, B. Krock, P. J. Hansen, and B. Rost (2008): Inorganic carbon acquisition in potentially toxic and non-toxic diatoms: the effect of pH-induced changes in seawater carbonate chemistry. *Physiol. Plantarum*, **133**, 92–105.
- Trimborn, S., D. Wolf-Gladrow, K. U. Richter, and B. Rost (2009): The effect of pCO₂ on carbon acquisition and intracellular assimilation in four marine diatoms. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **376**, 26–36.
- Tsunogai, S. (2002): The western North Pacific playing a key role in global biogeochemical fluxes. *J. Oceanogr.*, **58**, 245–257.
- Tsurushima, N., Y. Nojiri, K. Imai, and S. Watanabe (2002): Seasonal variations of carbon dioxide system and nutrients in surface mixed layer at station KNOT (44°N, 155°E) in the subarctic western North Pacific. *Deep-Sea Res. II*, **49**, 5377–5394.
- Tyrrell, T., and R. E. Zeebe (2004): History of carbonate ion concentration over the last 100 million years. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **68**, 3521–3530.
- Uchikawa, J., and R. E. Zeebe (2008): Influence of terrestrial weathering on ocean acidification and the next glacial inception. *Geophys. Res. Lett.*, **35**, L23608, doi : 10.1029/2008GL035963.
- Vogt, M., M. Steinke, S. Turner, A. Paulino, M. Meyerhfer, U. Riebesell, C. Le Quéré, and P. Liss (2008): Dynamics of dimethylsulphoniopropionate and dimethylsulphide under different CO₂ concentrations during a mesocosm experiment. *Biogeosciences*, **5**, 407–419.
- Wang, D.-Z. (2008): Neurotoxins from marine dinoflagellates: a brief review. *Mar. Drugs*, **6**, 349–371.
- Wells, M. L., C. G. Trick, W. P. Cochlan, M. P. Hughes, and V. L. Trainer (2005): Domoic acid: The synergy of iron, copper, and the toxicity of diatoms. *Limnol. Oceanogr.*, **50**, 1908–1917.
- Westberry, T. K., and D. A. Siegel (2006): Spatial and temporal distribution of *Trichodesmium* blooms in the world's oceans. *Glob. Biogeochem. Cy.*, **20**, GB4016, doi : 10/1029/2005GB002673.
- Wingenter, O. W., K. B. Haase, M. Zeigler, D. R. Blake, F. S. Rowland, B. C. Sive, A. Paulino, R. Thyrrhaug, A. Larsen, K. Schulz, M. Meyerhöfer, and U. Riebesell (2007): Unexpected consequences of increasing CO₂ and ocean acidity on marine production of DMS and CH₂Cl: Potential climate impacts. *Geophys. Res. Lett.*, **34**, L05710, doi : 10.1029/2006GL028139.
- Wong, C. S., N. A. D. Waser, Y. Nojiri, F. A. Whitney, J. S. Page, and J. Zeng (2002): Seasonal cycle of nutrients and dissolved inorganic carbon at high and mid latitudes in the North Pacific Ocean during the *Skaugran* cruises: determination of new production and nutrient uptake. *Deep-Sea Res. II*, **49**, 5317–5338.
- Wootton, J. T., C. A. Pfister, and J. D. Forester (2008): Dynamic patterns and ecological impacts of declining ocean pH in a high-resolution multi-year dataset. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **105**, 18848–18853.
- Wurtz, E. A., J. E. Boynton, and N. W. Gillham (1977): Perturbation of chloroplast DNA amounts and chloroplast gene transmission in *Chlamydomonas reinhardtii* by 5-fluorodeoxyuridine. *Proc. Acad. Sci. USA*, **74**, 4552–4556.
- Xu, Y., L. Feng, P. D. Jeffrey, Y. Shi, and F. M. M. Morel (2008): Structure and metal exchange in the cadmium carbonic anhydrase of marine diatoms. *Nature*, **452**, 56–61.
- Yamada, N., and M. Suzumura (2010): Effects of seawater acidification on hydrographic enzyme activities. *J. Oceanogr.*, **66**, 233–241.
- Yamada, N., N. Tsurushima, and M. Suzumura (2010): Effects of seawater acidification by ocean CO₂ sequestration on bathypelagic prokaryote activities. *J. Oceanogr.*, **66**, 571–580.
- Yamamoto-Kawai, M., F. A. McLaughlin, E. C. Carmack, S. Nishino, and K. Shimada (2009) Aragonite undersaturation in the Arctic Ocean: Effects of ocean acidification and sea ice melt. *Science*, **326**, 1098–1100.
- Yoshimura, T., J. Nishioka, K. Suzuki, H. Hattori, H. Kiyosawa, and Y. W. Watanabe (2010): Impacts of elevated CO₂ on organic carbon dynamics in nutrient depleted Okhotsk Sea surface waters. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **395**, 191–198.
- Yu, J., H. Elderfield, and B. Hönisch (2007): B/Ca in planktonic foraminifera as a proxy for surface seawater pH. *Paleoceanography*, **22**, PA2202.
- Zachos, J. C., U. Röhl, S. A. Schellenberg, A. Sluijs, D. A. Hodell, D. C. Kelly, E. Thomas, M. Nicolo, I. Raffi, L. J. Lourens, H. McCarren, and D. Kroom (2005): Rapid acidification of the ocean during the Paleocene-Eocene thermal maximum. *Science*, **308**, 1611–1615.
- Zachos, J. C., G. R. Dickens, and R. E. Zeebe (2008): An early Cenozoic perspective on greenhouse warming and carbon-cycle dynamics. *Nature*, **451**, 279–283.
- Zeebe, R. E., and K. Caldeira (2008): Close mass balance of long-term carbon fluxes from ice-core CO₂ and ocean chemistry records. *Nat. Geosci.*, **1**, 312–315.
- Zeebe, R. E., J. C. Zachos, K. Caldeira, and T. Tyrrel (2008): Carbon emissions and acidification. *Science*, **321**, 51–52.
- Zeebe, R. E., J. C. Zachos, and G. R. Dickens (2009): Carbon dioxide forcing alone insufficient to explain Palaeocene-Eocene Thermal Maximum warming. *Nat. Geosci.*, **2**, 576–580.
- Zehr, J. P., S. R. Bench, B. J. Carter, I. Hewson, F. Niazi, T. Shi, H. J. Tripp, and J. P. Affourtit (2008): Globally distributed uncultivated oceanic N₂-fixing cyanobacteria lack oxygenic photosystem II. *Science*, **322**, 1110–1112.
- Zöllner, E., H. G. Hoppe, U. Sommer, and K. Jürgens (2009): Effect of zooplankton-mediated trophic cascades on marine microbial food web components (bacteria, nanoflagellates, ciliates). *Limnol. Oceanogr.*, **54**, 262–275.
- Zondervan, I., R. E. Zeebe, B. Rost, and U. Riebesell (2001): Decreasing marine biogenic calcification: a negative feedback on rising

atmospheric $p\text{CO}_2$. *Glob. Biogeochem. Cy.*, **15**, 507–516.

Zondervan, I. (2007): The effects of light, macronutrients, trace metals and CO_2 on the production of calcium carbonate and organic carbon in coccolithophores – A review. *Deep-Sea Res. II*, **54**, 521–537.

Effect of ocean acidification on marine phytoplankton and biogeochemical cycles

Koji Sugie^{†**} and Takeshi Yoshimura[†]

Abstract

Increasing atmospheric CO₂ over the Anthropocene due to human activities has reduced seawater pH and it continues as long as burning fossil fuels. In this review, we summarize and discuss the methodology of ocean acidification study and the effects of ocean acidification on phytoplankton and biogeochemical cycle of nutrients. In addition, we compare the pH variability and phytoplankton dynamics over the past 60 million years with the recent phenomenon of ocean acidification. We found that: (1) there is a significant lack of knowledge on the effect of ocean acidification because previous studies were not examined using subpolar to polar phytoplankton species and also not considered their habitat and life cycle. (2) We should study the effect of pH on dissolved inorganic Fe(II) bioavailability relative to dissolved inorganic Fe(III) species and the availability of Fe(III)-ligand complex. The role of Fe(II) and chemical structure of the ligand are also important issues. (3) Particulate organic carbon to phosphorus ratio increased in response to the decrease in pH whereas particulate organic carbon to nitrogen ratio was unaffected by pH. However, there is a lack of knowledge with regard to the effect of ocean acidification on dissolved organic matter and silicic acid dynamics. (4) We should study further the interactive effects of pH and trace metals especially for iron on N₂ fixation rate by cyanobacteria to improve our knowledge about nitrogen cycle.

Key words: Ocean acidification, Diatom, Coccolithophore, N₂-fixing Cyanobacteria, Biogeochemical cycle

(Corresponding author's e-mail address: kojisugie@gmail.com)

(Received 9 October 2010; accepted 14 July 2011)

(Copyright by the Oceanographic Society of Japan, 2011)

[†] Central Research Institute of Electric Power Industry, 1646 Abiko, Abiko, Chiba 270–1194, Japan.

^{**} AUTHOR for CORRESPONDENCE: Koji Sugie; E-mail: kojisugie@gmail.com

Tel: 04-7182-1181; Fax: 04-7183-2966