

## CO<sub>2</sub>が魚類に与える影響について

石松 惇<sup>1</sup>・喜田 潤<sup>2</sup>

<sup>1</sup>〒851-0505 長崎県西彼杵郡野母崎町野母714 長崎大学水産学部附属海洋資源教育研究センター

<sup>2</sup>〒299-5105 千葉県夷隅郡御宿町岩和田300 海洋生物環境研究所

(1998年7月17日受付；1998年12月14日改訂；1998年12月22日受理)

キーワード：CO<sub>2</sub>，地球温暖化，海洋隔離，魚類

### 魚類学雑誌

Japanese Journal of  
Ichthyology

© The Ichthyological Society of Japan 1999

Atsushi Ishimatsu and Jun Kita\*. 1999. Effects of environmental hypercapnia on fish. *Japan. J. Ichthyol.*, 46(1): 1-13.

**Abstract** Increased concentrations of CO<sub>2</sub> in the atmosphere will cause not only global warming but also raised partial pressure of CO<sub>2</sub> and lowered pH in the ocean. These environment alterations may affect fish and other marine organisms. On the other hand, feasibility studies recently suggest that disposal of anthropogenic CO<sub>2</sub> in the deep ocean could help reduce atmospheric CO<sub>2</sub> concentrations. However, implementation of this strategy could have a significant environmental impact on marine life. These circumstances provide a background for the urgent need of further studies concerning the effect of CO<sub>2</sub> on fish. In this paper we summarize the literature reporting on CO<sub>2</sub> effects on fish and discuss the required research work for the future.

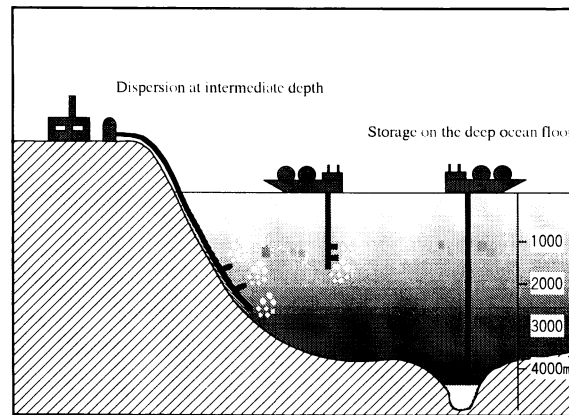
The present knowledge from the literature is summarized and categorized into oxygen consumption rate, respiration activity, oxygen carrying capacity by red blood cells, blood gas, blood circulation, CO<sub>2</sub> receptor, acid-base balance, endocrine, growth, toxicity and anesthesia. Most of the experimental fish used in the literature are freshwater species (carp and rainbow trout have largely been used). There were only few examined marine species (three bottom dwelling species of elasmobranch and teleost, respectively). Since experiments have only been carried out on adult fish, experiments on reproduction and the early life stage should be performed to clarify effects over the life cycle and to predict long term hypercapnic effects. Physiological studies have mostly been concerned with the acid-base balance and we need further information on maturation and endocrine to evaluate long term hypercapnic effects on fish populations. Changes in swimming behavior and its mechanism must also be examined.

Although the early phase of future study on CO<sub>2</sub> effects on fish has to start using shallow-water species, deep-sea species should be considered in concern with the disposal of CO<sub>2</sub> in the deep ocean. Furthermore, extrapolating data from one well researched species to evaluate implications on the ecosystem as a whole would be hazardous. In order to validate an appropriate resolution to the global warming problem, a multi-disciplinary approach to the effects of CO<sub>2</sub> disposal utilizing specialists from fields such as marine biology, fisheries and physical oceanography is clearly necessary.

\*Corresponding author: Marine Ecology Research Institute, Onjuku, Chiba 299-5105, Japan (e-mail: jun-kita@t3.rim.or.jp)

大気中のCO<sub>2</sub>の増加により地球温暖化が進行し、地球環境および人間活動に様々な影響を及ぼすことが予測されている。大気中のCO<sub>2</sub>は、

産業革命当時には280 ppmv (part per million by volume)であったが、現在では365 ppmvに増加したと報告されている (Houghton et al., 1995)。地球温暖



**Fig. 1.** Schematic illustration of CO<sub>2</sub> ocean disposal scenarios (based on Auerbach et al., 1998). Storage on the deep ocean floor; Liquid CO<sub>2</sub> pond on the floor should have an impact upon the local environment. However, the affected area is limited to the vicinity of the CO<sub>2</sub> pond. Dispersion at intermediate depth; Sprinkling of CO<sub>2</sub> can dilute CO<sub>2</sub> enough with huge amount of seawater to reduce biological impacts, but the absorbed CO<sub>2</sub> will return into the atmosphere in a short time in comparison with the ocean floor storage (Nakashiki et al., 1995).

化のもたらす魚類への影響には、水温、海流等の環境変動による直接的な影響と、これらの環境変動が引き起こすであろう一次生産、食物連鎖等の生態系変動による間接的な影響が複雑に関連している(清野ほか, 1997)。また、CO<sub>2</sub>の排出が続けば、地球温暖化が加速されるだけでなく、やがて大気中からのCO<sub>2</sub>の拡散によって海水中のCO<sub>2</sub>濃度が上昇し、これに伴うpHの低下とともに、魚類やその他の海洋生物に影響を及ぼすことが考えられる。

現在、大気中へのCO<sub>2</sub>排出による気候変動リスクを数百年から千年間回避する一手段として、化石燃料の消費によって発生するCO<sub>2</sub>を回収し、海洋に隔離する方法の実現可能性を探る予備調査が行われている(Handa and Ohsumi, 1995; Ormerod and Angel, 1996; 下島, 1997)。CO<sub>2</sub>海洋隔離の方法について、その投入深度によっていくつかの方法が検討されているが(Fig. 1)、いずれの方法を採用にしても局所的なCO<sub>2</sub>濃度の増大とpHの低下を招くことは避けられず、海洋生物への影響が懸念される(Omori et al., 1998)。魚類は海洋生物資源の主要構成要素であり、CO<sub>2</sub>の海洋隔離が実施された場合におこり得る魚類に対する影響については、他の海洋生物に対する影響とともに、事前に慎重に検討されなければならない。

本論文では、このような背景から、魚類、特に海産魚類に及ぼすCO<sub>2</sub>の影響について研究の現状を整理し、問題点と今後の研究課題を論じる。

#### CO<sub>2</sub>が魚類に与える影響に関する研究の現状

CO<sub>2</sub>が魚類に与える影響については、現在までほとんどが淡水種を用いて調べられており、海産魚類についての知見は極めて限られている。我々が調査した文献の中、淡水魚を用いた研究は31篇、海産魚では、軟骨魚類を用いた研究が6篇、海産真骨魚類を用いた研究は4篇に止まった(Table 1)。これら海産魚の中、種数としては軟骨魚類、硬骨魚類とも各3種(軟骨魚類：*Raja ocellata*, *Scyliorhinus stellaris*, *Squalus acanthias*, 硬骨魚類：*Conger conger*, *Dicentrarchus labrax*, *Gadus morhua*)に限られた。淡水魚ではニジマス、コイが圧倒的に使用頻度が高く、両魚種で全体の84%を占めた。実験期間に関しては、淡水魚で275日という長期にわたって影響を調査した例があるものの(Smart et al., 1979)、ほとんどは72時間以内であり、さらに海産魚に限って見ると、最長の実験期間でも120時間に止まっている(Grøttum and Sigholt, 1996)。

以下に、研究分野別にまとめたCO<sub>2</sub>が魚類に与える影響について記す。

#### 【酸素消費量】

高CO<sub>2</sub>環境(hypercapnia)は、魚類の酸素消費量を一過性に上昇させる場合が多い。Randall et al. (1976)は、軟骨魚類の*Scyliorhinus stellaris*をCO<sub>2</sub>分圧( $P_{CO_2}$ ) 0.67 kPa (=5 mmHg; 1 kPa=7.5 mmHg)

**Table 1.** Experimental conditions and fish species used for studies on effects of CO<sub>2</sub>

Refereces	species	P <sub>co<sub>2</sub></sub> (kPa)	Temp. (°C)	Body weight (g)	Exposure period (hr)	Remarks
<b>Freshwater Teleosts</b>						
1. Respiration						
Takeda '91	<i>Cyprinus carpio</i>	0.53–18.7	25	510–870	6	
Thomas et al. '94	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	0.64	8–10	700–950	0.5	+acid-base
Thomas et al '83	<i>O. mykiss</i>	0.67	15	400–600	72	
Eddy et al. '77	<i>O. mykiss</i>	2.00	20	500–1200	22 hr/1 wk	acclimated for 1 wk before use
Janssen, Randall '75	<i>O. mykiss</i>	0.69	8.9	200–300	72	+acid-base
2. Acid-base regulation						
Claiborne, Heisler '86	<i>C. carpio</i>	1.00	15	1980	19 days	
Claiborne, Heisler '86	<i>C. carpio</i>	4.93	15	1400	96	
Claiborne, Heisler '84	<i>C. carpio</i>	1.00	15	1783	48	
Hyde, Perry '89	<i>O. mykiss</i>	0.80	8–14	243	72	
Perry, Gilmour '96	<i>O. mykiss</i>	1.00–1.07*	12	706	20 min	*blood P <sub>CO<sub>2</sub></sub>
Perry et al. '87	<i>O. mykiss</i>	1.00	10–14	231	72	
Thomas, Le Ruz '82	<i>O. mykiss</i>	0.67	15	500–750	30	
Ishimatsu et al. '92	<i>O. mykiss</i>	2.00	15	675–1150	4	
Iwama et al. '93	<i>O. mykiss</i>	2.00	15	1159	8	
Sullivan et al. '95	<i>O. mykiss</i>	1.00	10	240–320	48	
Larsen, Jensen, '97	<i>O. mykiss</i>	1.00–3.00	15	250–420	72	
Cameron, Iwama '87	<i>Ictalurus punctatus</i>	–7.73	23	700–1300	96	
Cameron '80	<i>I. punctatus</i>	1.33	19–22	200–1050	29	
Hyde, Perry '89	<i>Anguilla rostrata</i>	0.80	8–14	123	72	
3. Miscellaneous						
Itazawa, Takeda '82	<i>C. carpio</i>	20.9	25	500	5	anesthesia
Yoshikawa et al. '94	<i>C. carpio</i>	23.3	23	500	0.5	anesthesia
Yoshikawa et al. '91b	<i>C. carpio</i>	13.3–33.3	23	500	0.5	anesthesia
Yoshikawa et al. '91a	<i>C. carpio</i>	23.3	23	500	0.5	anesthesia
Perry et al. '89	<i>O. mykiss</i>	0–1.51	12–16	232	0.5	catecholamines
MacKenzie, Perry '97	<i>O. mykiss</i>	1.01	10	25, 260	48	Ca metabolism
Perry et al. '88	<i>O. mykiss</i>	1.00	13	250	48	biochemistry
Lin, Randall '93	<i>O. mykiss</i>	2.00	10–15	300–500	48	H <sup>+</sup> -ATPase
Lin, Randall '95	<i>O. mykiss</i>	2.00	10–15	500–1000	40	H <sup>+</sup> -ATPase
Smart et al. '79	<i>O. mykiss</i>	1.20	–17.1	20 (initial)	275 days	growth
Crocker, Cech '96	<i>Acipenser transmontanus</i>	2.67	19	4 (initial)	28 days	growth
Goss et al. '92	<i>I. nebulosus</i>	2.00	18	198	48	Cl cell morphology
Goss et al. '94	<i>I. nebulosus</i>	2.00	18	187	6	Cl cell morphology
<b>Marine Elasmobranchs</b>						
Randall et al. '76	<i>Scyliorhinus stellaris</i>	0.67	16–19	970–2500	4	respiration
Heisler et al. '88	<i>S. stellaris</i>	1.47	17	2500	25	respiration+acid-base
Graham et al. '90	<i>Raja ocellata</i>	1.00	12	750–5000	24	respiration
Claiborne, Evans '92	<i>Squalus acanthias</i>	1.07–1.33	16–19	1810	24	acid-base
Perry, Gilmour '96	<i>Sq. acanthias</i>	1.00–1.07*	12	1828	20 min	*blood P <sub>CO<sub>2</sub></sub>
Kent, Peirce '78	<i>Sq. acanthias</i>	4.67	15	1500–6000	10 min	circulation (acute)
<b>Marine Teleosts</b>						
Larsen et al. '97	<i>Gadus morhua</i>	1.00	12	415	24	acid-base
Berenbrink, Bridges '94	<i>G. morhua</i>	–10.0	15	200–1000	—	acid-base of red cells
Toews et al. '83	<i>Conger conger</i>	1.07	17	1350	30	acid-base
Grøttm, Sigholt '96	<i>Dicentrarchus labrax</i>	–8.30	15	40–120	120	toxicity
<b>Brackish Water Teleosts</b>						
Cochran, Burnett, '96	<i>Fundulus heteroclitus</i> <i>Leiostomus xanthurus</i>	0.93	30	1.75, 1.55	—	respiration, salinity=25 ppt

の環境に曝露した時、酸素消費量が1時間目に約2倍に上昇したことを報告している。同様に軟骨魚類の*Raja ocellata*では、 $P_{\text{CO}_2}$ を1 kPaに上げた際に、酸素消費量が最初約20%上昇した(Graham et al., 1990)。また、ニジマスでも、0.67 kPaの $P_{\text{CO}_2}$ 環境下で、最初の1時間目に20%程度酸素消費量が上昇した(Thomas et al., 1983)。しかし、Takeda (1991)はコイについて、 $P_{\text{CO}_2}$ が12 kPaまでの範囲では、酸素消費量に変化が認められなかったと報告している。また、汽水性の*Fundulus heteroclitus*と*Leiostomus xanthurus*においても、1 kPa程度の $\text{CO}_2$ は酸素消費量にほとんど影響を与えなかった(Cochran and Burnett, 1996)。

#### 【呼吸運動】

一般に魚類を含む水生動物の換水運動は、酸素の摂取を主要な調節因子として機能しているといわれ、 $\text{CO}_2$ 排出が換気の主な調節因子となっている空気呼吸動物の換気調節機構と対比されてきた(Dejours, 1981; 石松, 1991)。魚類の換水運動への刺激因子としての $\text{CO}_2$ およびpHの重要性については、様々な実験結果が報告されており、未だ統一の見解は得られていない。

Graham et al. (1990)は、軟骨魚類の*Raja ocellata*を用いた実験で、環境水の酸素分圧( $P_{\text{O}_2}$ )を一定に保ったまま $P_{\text{CO}_2}$ を1 kPaに上昇させると、換水量が2倍以上に増大し、24時間後も高いレベルのままであることを報告した。同種の動脈血 $P_{\text{CO}_2}$ 、脳脊髄液pH、脳組織pHおよび動脈血pHと換水量の変化の相関について解析した結果、動脈血pHが最も強い相関関係を示した(Wood et al., 1990)。また、Heisler et al. (1988)も軟骨魚類の*Scyliorhinus stellaris*の実験結果から、動脈血pHの換水調節因子としての重要性を示唆している。軟骨魚類の血液は、一般にRoot効果を欠き、Bohr効果も微弱であること(赤血球による酸素運搬の項参照)から、高 $\text{CO}_2$ 環境が換水に及ぼす影響は血液酸素レベルの変動によるものとは考えにくい。

これに対して、真骨魚類のニジマスでは、環境水 $P_{\text{CO}_2}$  0.91 kPaまでの高 $\text{CO}_2$ 環境下での換水の上昇は、環境水 $P_{\text{O}_2}$ を上昇(60.4 kPa)させることによって消失する、という結果が報告されている(Smith and Jones, 1982)。これは、環境水の $P_{\text{O}_2}$ を上昇させることによって動脈血 $P_{\text{O}_2}$ が上昇し、高 $\text{CO}_2$ 条件下でBohr効果とRoot効果によって引き起こされた動脈血酸素濃度の低下が補償されたため、

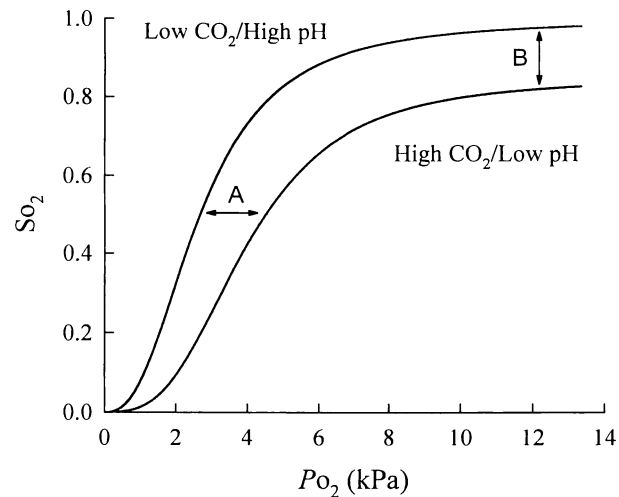
と考えられている。これらの実験結果より、Randall and Daxboeck (1984)は、魚類の換水刺激として動脈血酸素濃度が重要であると結論した。しかし最近、Perry and Gilmour (1996)は、海水適応させたニジマスを用いた実験で、高 $\text{CO}_2$ 環境中(動脈血 $P_{\text{CO}_2}=1-1.1$  kPa)で動脈血 $P_{\text{O}_2}$ が上昇し、この時、動脈血酸素濃度が一定であったにも関わらず、換水運動が昂進したという結果を報告している。さらに、Thomas et al. (1983)は、 $P_{\text{O}_2}$  53-60 kPaの高酸素水中において、間欠的に $P_{\text{CO}_2}$ を上昇させる(0.67 kPa)操作が、ニジマスの換水量を10倍以上増大させることを見出した。

正常酸素環境( $P_{\text{O}_2} \approx 20$  kPa)下では、高 $\text{CO}_2$ は、魚類の換水運動を初期に大きく上昇させる。その後、換水運動は低下するものの、対照条件下よりは高い値に保たれる場合が多い(Janssen and Randall, 1975; Thomas et al., 1983; Takeda, 1991)。換水量の昂進は主に毎回換水量の増加によるものであり、呼吸頻度の上昇は一般に軽微である(Perry and Gilmour, 1996; Graham et al., 1990; Thomas et al., 1983)。しかし、Yoshikawa et al. (1991b)は、コイが非常に高い $P_{\text{CO}_2}$  (>13.3 kPa)に曝露された場合、直ちに呼吸頻度が数倍上昇したことを報告している。

Larsen and Jensen (1997)は、淡水のイオン組成が高 $\text{CO}_2$ 環境下でのニジマスの換水運動応答に影響を与えるとの結果を報告している。

#### 【赤血球による酸素運搬】

$P_{\text{CO}_2}$ の上昇によるヘモグロビンの酸素親和性の低下をBohr効果、酸素容量の低下をRoot効果と呼ぶ(Fig. 2)。Bohr効果は脊椎動物の血液に広く認められるが、例外的に軟骨魚類ではその程度が非常に小さいか、あるいは全く認められない(Graham et al., 1990)。Bohr効果のほとんどは $\text{CO}_2$ が引き起こすpHの低下によって説明されるが、カルバミン化合物の生成による $\text{CO}_2$ 特異的な効果も認められる(Randall et al., 1997)。Bohr効果は、呼吸器官および組織毛細血管で、 $\text{CO}_2$ 輸送と酸素輸送が互いに関連して効率的に行われることを保証している。Root効果は真骨魚類に特有といわれ(Brittain, 1987)、その生理学的意義は鰾への血液からのガス分泌を可能にすることにある、と従来いわれてきた。しかし、鰾を持たない魚種の血液もRoot効果を示すことから、Root効果は血管分布が乏しい魚類の網膜への酸素供給に重要な役割を果たし



**Fig. 2.** Effects of CO<sub>2</sub> on an oxygen dissociation curve of a hemoglobin. The influence of CO<sub>2</sub> or pH on the oxygen affinity of the hemoglobin is called Bohr effect (A), while that on the oxygen-carrying capacity is called Root effect (B). S<sub>O<sub>2</sub></sub>: fractional oxygen saturation of a hemoglobin.

ている、との主張もなされている (Brittain, 1987).

高CO<sub>2</sub>環境下ではこれらの効果のために、ヘモグロビンと酸素との結合が抑制される。真骨魚を高CO<sub>2</sub>環境に移行させた時、血液P<sub>CO<sub>2</sub></sub>の上昇によるpHの低下(呼吸性アシドーシス)がおき、動脈血の酸素飽和度がいったん低下することがあるが、このような条件下では、頭腎クロム親和性細胞から血液中にカテコラミンが放出される(Perry et al., 1989)。カテコラミンは、赤血球膜表面に存在するβ受容体に作用して、膜のNa<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>ポンプを活性化させる。これによって、赤血球内からH<sup>+</sup>イオンが血漿中へ放出され、赤血球内pHが上昇するとともに、赤血球内液の浸透圧が増大するため水が浸入し、赤血球が膨張する。赤血球の膨張は、赤血球内リン酸化合物濃度の低下を引き起こし、赤血球内pHの上昇とあいまって、ヘモグロビンの酸素飽和度を回復させるように働く。また、血中カテコラミン濃度の上昇は、脾臓からの赤血球の放出を促し、ヘマトクリットを増大させる (Vermette and Perry, 1988; Perry and Kinkead, 1989; Kita and Itazawa, 1990; Nikinmaa and Salama, 1998)。軟骨魚類では、赤血球はNa<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>ポンプを欠き (Wood et al., 1994)、また高CO<sub>2</sub>環境下でもカテコラミンの放出は認められなかった (Perry and Gilmour, 1996)。

#### 【血液ガス】

環境CO<sub>2</sub>レベルの上昇は、直ちに体液のP<sub>CO<sub>2</sub></sub>を

上昇させ、pHの低下を招く。環境水と血液の間のP<sub>CO<sub>2</sub></sub>勾配が逆転することによって、CO<sub>2</sub>が環境水中から体内へ拡散し、血液P<sub>CO<sub>2</sub></sub>を上昇させる。血液P<sub>CO<sub>2</sub></sub>は環境水P<sub>CO<sub>2</sub></sub>よりも0.27 kPa程度高くなった状態で平衡に達し、その後、環境水P<sub>CO<sub>2</sub></sub>が高く維持される限り、血液P<sub>CO<sub>2</sub></sub>はこのレベルのまま推移する。血液P<sub>O<sub>2</sub></sub>は変化しない (Perry et al., 1989; Graham et al., 1990; Thomas et al., 1994)か、あるいは上昇する (Randall et al., 1976; Thomas and LeRuz, 1982; Vermette and Perry, 1988; Perry and Gilmour, 1996)場合が多い。しかし、血液P<sub>O<sub>2</sub></sub>が変化しない場合でも、pHの低下によるBohr効果によって、血液酸素濃度は低下することがある (Perry et al., 1989)。Takeda (1991)によると、コイの動脈血P<sub>O<sub>2</sub></sub>は、環境水P<sub>CO<sub>2</sub></sub>が2.7 kPa以上になると大きく上昇し、これに伴って酸素濃度も上昇した。静脈血についてのデータはごく限られているが、Thomas et al. (1994)は、高CO<sub>2</sub>環境下でP<sub>O<sub>2</sub></sub>が有意に低下したと報告している。

#### 【血液循環】

CO<sub>2</sub>が魚類の循環系に与える影響は、ほとんど調べられていない。Ishimatsu et al. (1992)は、2% CO<sub>2</sub>がニジマスの心拍数、動脈血圧を変化させないことを報告した。しかし最近、P<sub>CO<sub>2</sub></sub>の上昇(環境水P<sub>CO<sub>2</sub></sub> 1.15 kPa)が、ニジマスの心拍出量を低下させ、背大動脈血圧を上昇させることが見出された (Perry et al., Pers. Comm.)。これは、体血管床

抵抗の大きな上昇によるものである。この場合、心拍数はほとんど変化しなかった。Yoshikawa et al. (1994)は、麻酔効果を及ぼす高 $P_{CO_2}$ 環境中( $P_{CO_2}$  23.3 kPa)で、心拍数の増加を観察した。Kent and Peirce (1978)は、軟骨魚類*Squalus acanthias*の環流標本を用いて、高 $CO_2$  (5%  $CO_2$ )による心拍数、心拍出量の低下および鰓血管抵抗の上昇を報告している。

### 【 $CO_2$ 受容器】

Konishi et al. (1969)は、コイの口蓋表面に $CO_2$ に高い感受性を示す化学受容器が存在することを示した。この受容器は、その活動が顔面神経によって中枢へ伝えられており、酢酸、塩酸等他の酸にも反応するが、同じpHの下では $CO_2$ に対する反応性が最も高かった。この口蓋化学受容器に対する $CO_2$ 刺激によって、換水運動は抑制された。類似の $CO_2$ 受容器はウナギ(Yoshii et al., 1980)、ニジマス(Yamashita et al., 1989)でも報告されている。 $CO_2$ 受容器の閾値は、 $2 \times 10^{-5} M$  (=0.07 kPa, ウナギ)から $5 \times 10^{-5} M$  (=0.11 kPa, ニジマス)と求められている。これらの $CO_2$ 受容器が魚類の呼吸調節に関わっている可能性が推測されているが、実験的証拠は未だ得られていない。

### 【酸塩基平衡】

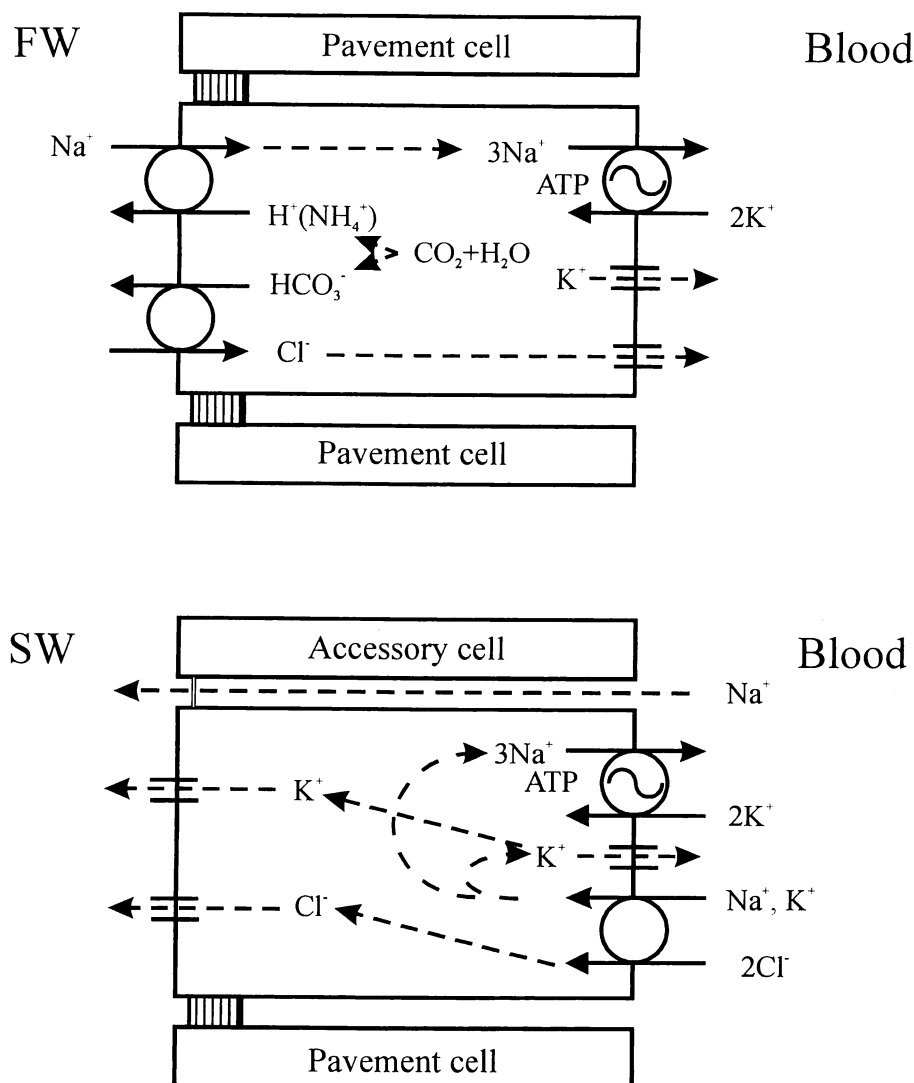
高 $CO_2$ 環境が魚類の酸塩基平衡調節に与える影響については、多くの研究がなされている(Heisler, 1986; Lin and Randall, 1995; Goss et al., 1995)。しかし、前述の通り、これらの研究のほとんどは淡水魚を用いて行われたものであり、海産魚に関する知見は極めて限られている。環境 $CO_2$ レベルの上昇によって引き起こされる体液pHの低下(呼吸性アシドーシス)に対する補償は、水中動物の場合、主に環境水への酸排出によって行われる。呼吸性アシドーシス下で、血液pHは一過性に大きく低下し、その後、環境水中への酸排出が促進されるにつれて(下記参照)、徐々に正常値に接近する。このpH回復速度は海産魚で早く、淡水魚では遅い。鰓が主な酸排出器官であり、腎臓の寄与は一般に僅かである。魚類の鱗外表面には非常に良く発達した特殊な血管床があることが知られており、この系による酸塩基平衡調節の可能性が指摘されているが、その量的重要性については明らかでない(Ishimatsu et al., 1992)。

魚類の酸塩基平衡調節は、従来 $Na^+/H^+(NH_4^+)$ 交

換輸送と $Cl^-/HCO_3^-$ 交換輸送によって行われていると理解されていた。特に淡水魚については、環境水中からの $Na^+$ の摂取を $H^+$  (あるいは $NH_4^+$ )の排出と、 $Cl^-$ の摂取を $HCO_3^-$ の排出との交換で行うことによって、イオン調節と酸塩基平衡調節を関連させて行っているとの合目的に解釈されてきた。しかし、最近、淡水魚については鰓に $H^+$ -ATPaseが存在することが明らかにされ、 $Na^+$ はこの酵素によって作り出される電気化学ポテンシャルに従って、鰓上皮の粘膜側細胞膜に存在する $Na^+$ チャンネルを通して、受動的に排出されているとの説が提出されている(Lin and Randall, 1995; Perry, 1997)。これに対して、海水に適応させたニジマスでは、*N*-ethylmaleimide感受性の $H^+$ -ATPase活性が淡水適応ニジマスの約3分の1しかなく(Lin and Randall, 1993)、また免疫組織化学的検索によっても、海産魚では明確に $H^+$ -ATPaseの存在は示されなかった(Lin et al., 1994)。これらの結果より、海産魚での $H^+$ -ATPaseの酸塩基平衡における重要性は淡水魚よりも低いと考えられており、 $Na^+/H^+(NH_4^+)$ 交換輸送と $Cl^-/HCO_3^-$ 交換輸送による酸塩基平衡調節のモデルが現在提唱されている(Claiborne et al., 1997)。海産魚の場合、イオンは受動的に海水中から体液へ侵入しており、酸塩基平衡調節のため環境水中から $Na^+$ と $Cl^-$ を摂取することは、イオン代謝に対する負荷をより高めることになる。

高 $CO_2$ 環境下におかれた場合、淡水魚、海産魚ともに血漿の $HCO_3^-$ 濃度の上昇と対照的に $Cl^-$ 濃度が低下するケースが多い(Larsen and Jensen, 1997)。しかし、血漿イオン濃度についてのこの知見は、 $H^+$ -ATPaseと関連した $Na^+$ 輸送が淡水魚の主要な酸塩基平衡調節機構である、とする上述の考えと矛盾する。このことより、Heisler (1993)は、 $H^+$ -ATPaseによる $H^+$ の排泄に連動した $Cl^-$ の排泄が $Na^+/H^+(NH_4^+)$ 輸送より重要であると主張している。海産魚でも、高 $CO_2$ 環境下で血漿 $Cl^-$ 濃度が低下し、 $HCO_3^-$ 濃度が等モル上昇する結果が、真骨魚の*Conger conger* (Toews et al., 1983)と*Gadus morhua* (Larsen et al., 1997)について得られている。一方、軟骨魚では血漿 $Cl^-$ 濃度が変化しなかった、という報告もなされている(Randall et al., 1976; Graham et al., 1990)。

酸塩基平衡調節に関与するイオン輸送の速度に、環境水中の $HCO_3^-$ イオン濃度が強い影響を及ぼすことが知られている(Heisler, 1993)。最近、Larsen and Jensen (1997)は、淡水のイオン組成がニ



**Fig. 3.** Models of chloride cell functions in freshwater (FW) and sea water (SW) teleosts. Solid and dashed lines indicate active and cotransport, and passive transport, respectively. In sea water fish,  $\text{Na}^+$  is extruded via the paracellular pathway aided by the serosa positive transepithelial potential (based on Marshall, 1995).

ジマスの高CO<sub>2</sub>環境に対するpHの回復速度に与える影響を比較し、水中HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>イオンがpHの回復を促進することを示した。一方、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度が一定でNaCl濃度の異なる水中で高CO<sub>2</sub>に曝露されたニジマスは、NaCl濃度が高いほど、高いpH回復率を示すことも報告されている (Iwama and Heisler, 1991)。遺伝的に同一のニジマスは、乳酸注入 (Tang and Boutilier, 1988) および激しい遊泳運動 (Tang et al., 1989) に対して、淡水中よりも海水中において高いHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>摂取速度を示した。

酸塩基平衡調節に関わるイオン輸送機構の局在性については、未だ定説は得られていない。淡水

魚については、高P<sub>CO<sub>2</sub></sub>環境下での鰓上皮の塩類細胞開口面積が減少すること、およびこれに伴って環境水中からのCl<sup>-</sup>の取り込みが抑制されることから、塩類細胞にCl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>輸送機構が存在し、これがCl<sup>-</sup>の取り込みとHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>の排出を行っている と推定された (Goss et al., 1992, 1994, 1995)。この塩類細胞開口面積の減少は、個々の塩類細胞開口部が周囲の被蓋上皮細胞が伸長してくることによって覆われ、環境水との連絡を絶たれることによる。これに反して、Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>交換輸送は上皮細胞に存在すると推定されている (Goss et al., 1992, 1994, 1995)。最近のH<sup>+</sup>-ATPaseの局在に関する免

疫組織学的研究は、この酵素が淡水ニジマスの二次鰓弁被蓋上皮に広く存在することを示した (Lin et al. 1994; Sullivan et al. 1995). このような実験結果から、淡水魚では被蓋細胞が $\text{Na}^+$  摂取に関して重要であり、塩類細胞は $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  の交換によって酸塩基平衡調節に関与するとともに、 $\text{Ca}^{2+}$  イオンの取り込みに重要な働きをしているといわれている。しかし、in vivo 実験の結果は、淡水ニジマスで塩類細胞が水素イオン排出の場所であり、体液の電気的中性は二次鰓弁上皮を通じての $\text{Cl}^-$  イオンの排出による、という機構を示唆している (Iwama et al., 1993). さらに、下北半島の恐山湖に生息するウグイはpH 3.6の環境に生息しており、非常に耐酸性の強いことが知られているが、このウグイでは鰓の一次鰓弁上皮に濾胞状に配列した塩類細胞が認められる。この塩類細胞の頂部に、 $\text{H}^+$ -ATPaseの強い反応が免疫組織学的手法によって見出された (金子, 1997).

酸塩基平衡調節機構の局在性について、海産魚に関する報告はこれまで全くない。海産魚の塩類細胞は $\text{Na}^+$  および $\text{Cl}^-$  の排出部位であるという明確な証拠がある (Foskett et al., 1983) が、海産魚で酸塩基平衡調節に関わっている細胞の種類については、現在までのところ調べられていない。Fig. 3に淡水魚と海産魚の塩類細胞におけるイオン輸送に関するモデルを示す。このモデルでは淡水魚の塩類細胞に $\text{Na}^+/\text{H}^+(\text{NH}_4^+)$  交換輸送と $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  交換輸送の存在が仮定されているが、上述のように $\text{H}^+$  の排出とリンクした $\text{Na}^+$  の摂取は被蓋上皮細胞 (pavement cell) に存在するとの考えも提唱されている。

#### 【内分泌】

真骨魚類において、高 $P_{\text{CO}_2}$  環境下でアシドーシスがおこった場合、血中カテコルアミンが上昇することはよく知られている (Randall and Perry, 1992). しかし、高酸素環境下で $P_{\text{CO}_2}$  を上昇させた時にはカテコルアミンの放出が見られないことより、normoxia条件下での呼吸性アシドーシス時におこるカテコルアミン放出は、Bohr効果およびRoot効果により血液酸素レベルが低下するためであり、pH低下が直接引き金になっているのではない、と考えられている (Perry et al., 1987; 1989). 軟骨魚類では、高 $\text{CO}_2$  環境はカテコルアミンの放出を引き起こさない、との結果が報告された (Perry and Gilmour, 1996).

最近、淡水ニジマスを用いた実験で、脳下垂体中葉から分泌される魚類に特有のホルモン、ソマトラクチンが酸塩基平衡調節に関与しているとの結果が発表された (Kakizawa et al., 1996). しかし、血中ソマトラクチン濃度は代謝性アシドーシスに反応して上昇するものの、呼吸性アシドーシス時には変化しなかった。このことより、ソマトラクチンは血中 $\text{HCO}_3^-$  の低下に反応して血中へ分泌される、と推測された (Kakizawa et al., 1997).

#### 【成長】

$\text{CO}_2$  が魚類の成長に与える影響について検討した例はほとんどないが、Crocker and Cech (1996) は、チョウザメ稚魚 (実験開始時の体重4g) の成長を28日間にわたって低 $\text{CO}_2$  区 ( $P_{\text{CO}_2}=0.027$  kPa) と高 $\text{CO}_2$  区 ( $P_{\text{CO}_2}=2.67$  kPa) で比較したところ、高 $\text{CO}_2$  区の成長が低 $\text{CO}_2$  区に比べて38%低くなったと報告している。この効果は飼育水のpHの低下によるものではないと述べている。同様に、Smart et al. (1979) は、平均体重20gのニジマスに3段階の $\text{CO}_2$  濃度で飼育し、高濃度区 ( $P_{\text{CO}_2}=2.27$  kPa) で成長が抑制されたことを報告した。高濃度区では腎石灰症が頻発し、腎臓のCa, Mg, P濃度が顕著に上昇した。これに対し、筆者らはトラフグ幼魚 (実験開始時の体重約150g) を用いて、 $P_{\text{CO}_2}$  0.67 kPaのガス曝気による成長への影響を7週間にわたって検討したが、対照区との差を認めなかった (村上・石松, 未発表).

#### 【毒性】

$\text{CO}_2$  の魚類に対する急性毒性については、Grøttum and Sigholt (1996) がヨーロッパの海産 seabass (*Dicentrarchus labrax*) について報告している。これによると、96時間 $\text{LC}_{50}$  は6.72 kPa、120時間値は6.28 kPaとされている。実験魚の血漿乳酸濃度に上昇が見られなかったことより、死因は窒息ではない、と結論している。竹田・板沢 (1983) が行った $\text{CO}_2$  麻酔実験によれば、コイを $P_{\text{CO}_2}$  16–17 kPaに曝露すると24時間以内に30%が斃死した。一方マダイでは、 $P_{\text{CO}_2}$  16–17 kPaで22時間間死亡率60%、これ以上の $P_{\text{CO}_2}$  では全個体が斃死した。

#### 【麻酔】

$\text{CO}_2$  の魚類に対する麻酔効果は、Fish (1943) によって初めて報告された。その後、活魚輸送等へ



の応用を目的とした試みが様々になされた。Iwama and Ackerman (1994)は、サケ類ほかを麻酔するための至適CO<sub>2</sub>濃度、麻酔に要する時間および回復時間をまとめている。CO<sub>2</sub>の麻酔作用は中枢神経活動の抑制によるものと考えられており、極端に高い環境水P<sub>CO<sub>2</sub></sub> (23.3 kPa)の下では、コイの脳波が平坦化することが知られている (Yoshikawa et al., 1994)。また高P<sub>CO<sub>2</sub></sub>環境下では脳血流が一時的に増大したと報告されている (Yoshikawa et al., 1994)。脳波の平坦化は麻酔濃度以下のCO<sub>2</sub>レベルでもおこるとされている (Barthelemy et al., 1977)。Itazawa and Takeda (1982)は、麻酔レベルのCO<sub>2</sub>環境下でコイの酸素消費量が低下したことを報告している。CO<sub>2</sub>麻酔は、魚種によっては麻酔導入に必要なレベルと毒性が発現されるレベルが接近しており、竹田・板沢(1983)は、マダイにはこの方法は適用できないとしている。Iwama and Ackerman (1994)は、steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*)にCO<sub>2</sub>麻酔を実施する際に、pHの低下を緩衝するとともに、NaClを添加すると血液性状等に対する影響が緩和されたと報告している。

#### 問題点と今後の研究課題

知見が乏しく、今後の研究、調査を必要とする問題点について以下に記す。Table 1には、これまでに発表されたCO<sub>2</sub>の影響実験に使われた魚種、P<sub>CO<sub>2</sub></sub>、水温、実験期間、研究分野をまとめて示した。

1. 実験魚の大部分が淡水魚であり、海産魚に関する知見が極端に少ない。調べられた海産魚は、底生性の軟骨魚類および真骨魚類がそれぞれ数種のみであり、遊泳性の魚種に関する知見はほとんどない。研究分野別に見ても、海産魚に対する影響について調べた報告は、呼吸生理および酸塩基平衡調節分野等、淡水魚で比較的多くの知見が蓄積されている分野でも1-数篇程度である (Table 1)。海産魚全般に対するCO<sub>2</sub>の影響について、一般性のある結論を導き出すには程遠い現状にある。

2. 成魚のみが実験対象となっており、卵・稚仔魚等初期生活史の段階におけるCO<sub>2</sub>の影響についての知見がほとんどない。産卵数や正常孵化率などの再生産に関わる長期CO<sub>2</sub>曝露による影響についても知られていない。近年、稚仔魚の生理機能についての測定が可能になりつつあり、血圧・血流量等の測定が行われるようになってきている (Burggren and Fritsche, 1995; Mirkovic and Rombough, 1998)。これらの技術を用いて、高CO<sub>2</sub>環境

が稚仔魚に与える影響を知ることは、単に生残というばかりでなく、CO<sub>2</sub>の長期的影響の機構解明につながり、影響予測の精度を増すことが期待される。また、魚類の成長に対するCO<sub>2</sub>の影響を調べた例は極めて少なく、摂餌等に対する影響は全く知られていない。

3. 生理学的研究が酸塩基平衡調節分野に偏っており、成熟、内分泌、血液循環等他の多くの生理機能に関する知見が非常に乏しい。成熟、内分泌に対する影響調査は、魚類個体群への高CO<sub>2</sub>環境の長期的影響を評価する上で、基礎的知見として重要な意味をもつ。循環機能は生物の恒常性維持の上で基本的に大切であり、他の全ての生理機能と深い関わりをもっている。

4. 高CO<sub>2</sub>環境中で魚類の遊泳能力がどのような影響をうけるかについて、全く知見がない。比較的遊泳性の高い魚種を用いて、持続遊泳速度・時間等について実験を行う必要がある。また遊泳時の血液性状、呼吸運動、循環機能の変化についても調べ、高CO<sub>2</sub>環境が魚類の運動代謝に及ぼす影響について解析を行うとともに、CO<sub>2</sub>濃度勾配を実験水槽中に設定し、魚類の高CO<sub>2</sub>水に対する忌避行動の有無およびその検出限界濃度についての実験を行う必要がある。

5. 中間代謝等、生化学的検討がほとんどなされていない。

6. 組織学的研究は、塩類細胞の形態変化に関する淡水魚での調査程度しかなされておらず、海産魚および他臓器についての知見がほとんどない。

7. 実験期間がほとんどの場合1日から数日程度であり、長期の影響に関する知見が乏しい (Table 1参照)。

8. 実験条件として設定されるCO<sub>2</sub>レベルが1 kPa以上 (麻酔実験では13 kPa以上) であり、低レベルのCO<sub>2</sub>が及ぼす影響についての知見を欠く (Table 1参照)。

9. CO<sub>2</sub>による直接の影響と、環境P<sub>CO<sub>2</sub></sub>を上昇させた場合におこるpHの低下による影響とを区別した例がほとんどない。淡水魚に関する酸性水の影響については多くのデータが蓄積されているが、この場合の生理的变化はCO<sub>2</sub>上昇時に見られる応答とは異なっている。

#### ま と め

魚類に対する高CO<sub>2</sub>環境の影響について、早急に研究する必要がある項目を上記した。現実問題として、これらの研究は (少なくとも研究初期

においては), 入手が容易な養殖対象魚種を使って行わざるを得ない。しかし, 実際海洋へのCO<sub>2</sub>隔離が検討されている水深は1,500–2,000 m以深であり, 表層性の魚種を用いて得られた知見を中・深層性の種に適用することは困難であろう。さらに, これら生理実験によって単一種への影響を調べ得たとしても, 海洋生態系の中で複雑に関係しあって生活している場での各魚種への影響が推測できるか, という点も問われなければならない。しかし, 着実に大気中のCO<sub>2</sub>濃度が上昇していることもまた事実であり, 早急に対策を講じないと21世紀に地球環境に大きな変化がおこる可能性が高い。CO<sub>2</sub>の海洋隔離は, このような背景の下で緊急避難策の一つとして浮上してきたものであるが, これが実施されると海洋生態系に深刻な影響を与える可能性があることも否定できない。水産学, 海洋学関係の研究者による事前の影響査定が広範囲になされることが現在緊急の課題となっている。

#### 謝 辞

本研究を進めるに当たり, 東京水産大学の森信教授に有意義な助言を頂いたことに感謝したい。また本研究の一部は, 新エネルギー・産業技術総合開発機構の委託研究「二酸化炭素の海洋隔離に伴う環境影響予測技術研究開発」の一環として行われたものである。研究の公表を承認して頂いた関係各位に感謝する。

#### 引用文献

- Auerbach, D. I., J. A. Caulfield, E. E. Adams and H. J. Herzog. 1997. Impacts of ocean CO<sub>2</sub> disposal on marine life: I. A toxicological assessment integrating constant-concentration laboratory assay data with variable-concentration field exposure. *Env. Model. Assessment*, 2: 333–343.
- Barthelemy, L., D. Mabin, A. Belaud and C. Peyraud. 1977. Activité électrique de l'encéphale d'anguille (*Anguilla anguilla*) soumise à l'hypoxie ou à l'hypercapnie. *J. Physiol. Paris*, 73: 1034–1044.
- Berenbrink, M. and C. R. Bridges. 1994. Active Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> and HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-dependent acid extrusion in Atlantic cod red blood cells in winter activated by hypercapnia. *J. Exp. Biol.*, 192: 239–252.
- Brittain, T. 1987. The Root effect. *Comp. Biochem. Physiol.*, 86B: 473–481.
- Burggren, W. W. and R. Fritsche. 1995. Cardiovascular measurements in animals in the milligram range. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 28: 1291–1305.
- Cameron, J. N. 1980. Body fluid pools, kidney function, and acid-base regulation in the freshwater catfish, *Ictalurus punctatus*. *J. Exp. Biol.*, 86: 171–185.
- Cameron, J. N. and G. K. Iwama. 1987. Compensation of progressive hypercapnia in channel catfish and blue crabs. *J. Exp. Biol.*, 133: 183–197.
- Claiborne, J. B. and D. H. Evans. 1992. Acid-base balance and ion transfers in the spiny dogfish (*Squalus acanthias*) during hypercapnia: A role for ammonia excretion. *J. Exp. Zool.*, 261: 9–17.
- Claiborne, J. B. and N. Heisler. 1984. Acid-base regulation and ion transfers in the carp (*Cyprinus carpio*) during and after exposure to environmental hypercapnia. *J. Exp. Biol.*, 108: 25–43.
- Claiborne, J. B. and N. Heisler. 1986. Acid-base regulation and ion transfers in the carp (*Cyprinus carpio*): pH compensation during graded long- and short-term environmental hypercapnia, and the effect of bicarbonate infusion. *J. Exp. Biol.*, 126: 41–61.
- Claiborne, J. B., E. Perry, S. Bellows and J. Campbell. 1997. Mechanisms of acid-base excretion across the gills of a marine fish. *J. Exp. Zool.*, 279: 509–520.
- Cochran, R. E. and L. E. Burnett. 1996. Respiratory responses of the salt marsh animals, *Fundulus heteroclitus*, *Leiostomus xanthurus*, and *Palaemonetes pugio* to environmental hypoxia and hypercapnia and to the organophosphate pesticide, azinphosmethyl. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 195: 125–144.
- Crocker, C. E. and J. J. Jr. Cech. 1996. The effects of hypercapnia on the growth of juvenile white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. *Aquaculture*, 147: 293–299.
- Dejours, P. 1981. Principles of Comparative Respiratory Physiology. 2nd ed. Elsevier, Amsterdam. 265 pp.
- Eddy, F. B., J. P. Lomholt, R. E. Weber and K. Johansen. 1977. Blood respiratory properties of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) kept in water of high CO<sub>2</sub> tension. *J. Exp. Biol.*, 67: 37–47.
- Fish, F. F. 1943. The anesthesia of fish by high carbon-dioxide concentrations. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 72: 25–29.
- Foskett, J. K., H. A. Bern, T. E. Machen and M. Conner. 1983. Chloride cells and the hormonal control of teleost fish osmoregulation. *J. Exp. Biol.*, 106: 255–281.
- Goss, G. G., P. Laurent and S. F. Perry. 1992. Evidence for a morphological component in acid-base regulation during environmental hypercapnia in the brown bullhead (*Ictalurus nebulosus*). *Cell Tiss. Res.*, 268: 539–552.
- Goss, G. G., P. Laurent and S. F. Perry. 1994. Gill morphology during hypercapnia in brown bullhead (*Ictalurus nebulosus*): role of chloride cells and pavement cells in acid-base regulation. *J. Fish Biol.*, 45: 705–718.
- Goss, G. G., S. F. Perry and P. Laurent. 1995. Ultrastructural and morphometric studies on ion and acid-base transport processes in freshwater fish. Pages 257–284 in C. M. Wood and T. J. Shuttleworth, eds. *Fish Physiology Vol. 14: Cellular and Molecular Approaches to Fish Ionic Regulation*. Academic Press, San Diego.
- Graham, M. S., J. D. Turner and C. M. Wood. 1990. Control of ventilation in the hypercapnic skate *Raja ocellata*: I. Blood and extradural fluid. *Respir. Physiol.*, 80: 259–277.
- Grøttum, J. A. and T. Sigholt. 1996. Acute toxicity of carbon

- dioxide on European seabass (*Dicentrarchus labrax*): Mortality and effects on plasma ions. *Comp. Biochem. Physiol.*, 115: 323–327.
- Handa, N. and T. Ohsumi. 1995. Direct ocean disposal of carbon dioxide. Terra Scientific Publishing Company, Tokyo. viii+274pp.
- Heisler, N. 1986. Acid-base regulation in fishes. Pages 309–356 in N. Heisler ed. *Acid-Base Regulation in Animals*. Elsevier, Amsterdam.
- Heisler, N. 1993. Acid-base regulation. Pages 343–378 in D. H. Evans ed. *The Physiology of Fishes*. CRC Press, Boca Raton.
- Heisler, N., D. P. Toews and G. F. Holeton. 1988. Regulation of ventilation and acid-base status in the elasmobranch *Scyliorhinus stellaris* during hyperoxia-induced hypercapnia. *Respir. Physiol.*, 71: 227–246.
- Houghton, J. T., L. G. M. Filho, J. Bruce, H. Lee, B. A. Callander, E. Haites, N. Harris and K. Maskell. 1995. Climate change 1994: Radiative forcing of climate change and an evaluation of the IPCC IS92 emission scenarios. Cambridge University Press. UK. 339pp.
- Hyde, D. A. and S. F. Perry. 1989. Differential approaches to blood acid-base regulation during exposure to prolonged hypercapnia in two freshwater teleosts: The rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and the American eel (*Anguilla rostrata*). *Physiol. Zool.*, 62: 1164–1186.
- 石松 惇. 1991. 血液と循環. 板沢靖男・羽生 巧 (編), pp. 35–66. 魚類生理学. 恒星社厚生閣, 東京.
- Ishimatsu, A., G. K. Iwama, B. Bentley and N. Heisler. 1992. Contribution of the secondary circulatory system to acid-base regulation during hypercapnia in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Exp. Biol.*, 170: 43–56.
- Itazawa, Y. and T. Takeda. 1982. Respiration of carp under anesthesia induced by mixed bubbling of carbon dioxide and oxygen. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 48: 489–493.
- Iwama, G. K. and P. A. Ackerman. 1994. Anaesthetics. Pages 1–15 in P. W. Hochachka and T. P. Mommsen, eds. *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes Vol. 3: Analytical Techniques*. Elsevier, Amsterdam.
- Iwama, G. K. and N. Heisler. 1991. Effect of environmental water salinity on acid-base regulation during environmental hypercapnia in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Exp. Biol.*, 158: 1–18.
- Iwama, G. K., A. Ishimatsu and N. Heisler. 1993. Site of acid-base relevant ion transfer in the gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to environmental hypercapnia. *Fish Physiol. Biochem.*, 12: 269–280.
- Janssen, R. G. and D. J. Randall. 1975. The effects of changes in pH and P<sub>CO<sub>2</sub></sub> in blood and water on breathing in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Respir. Physiol.*, 25: 235–245.
- Kakizawa, S., A. Ishimatsu, T. Takeda, T. Kaneko and T. Hirano. 1997. Possible involvement of somatolactin in the regulation of plasma bicarbonate for the compensation of acidosis in rainbow trout. *J. Exp. Biol.*, 200: 2675–2683.
- Kakizawa, S., T. Kaneko and T. Hirano. 1996. Elevation of plasma somatolactin concentrations during acidosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Exp. Biol.*, 199: 1043–1051.
- 金子豊二. 1997. 魚類におけるイオン調節と塩類細胞. *化学と生物*, 35: 376–382.
- Kent, B. and E. C. Peirce II. 1978. Cardiovascular responses to changes in blood gases in dogfish shark, *Squalus acanthias*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 60C: 37–44.
- Kita, J. and Y. Itazawa. 1990. Effects of adrenaline on the blood flow through the spleen of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 95A: 591–595.
- 清野 豁・天野正博・佐々木克之. 1997. 農林水産業への影響. 西岡秀三・原沢英夫 (編), pp. 105–136. 地球温暖化と日本. 自然・人への影響予測. 古今書院, 東京.
- Konishi, J., I. Hidaka, M. Toyota and H. Matsuda. 1969. High sensitivity of the palatal chemoreceptors of the carp to carbon dioxide. *Japan. J. Physiol.*, 19: 327–341.
- Larsen, B. K. and F. B. Jensen. 1997. Influences of ionic composition on acid-base regulation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to environmental hypercapnia. *Fish Physiol. Biochem.*, 16: 157–170.
- Larsen, B. K., H.-O. Pörtner and F. B. Jensen. 1997. Extra- and intracellular acid-base balance and ionic regulation in cod (*Gadus morhua*) during combined and isolated exposures to hypercapnia and copper. *Mar. Biol.*, 128: 337–346.
- Lin, H., D. C. Pfeiffer, A. W. Vogel, J. Pan and D. J. Randall. 1994. Immunolocalization of H<sup>+</sup>-ATPase in the gill epithelia of rainbow trout. *J. Exp. Biol.*, 195: 169–183.
- Lin, H. and D. J. Randall. 1993. H<sup>+</sup>-ATPase activity in crude homogenates of fish gill tissue: Inhibitor sensitivity and environmental and hormonal regulation. *J. Exp. Biol.*, 180: 163–174.
- Lin, H. and D. J. Randall. 1995. Proton pumps in fish gills. Pages 229–255 in C. M. Wood and T. J. Shuttleworth, eds. *Fish Physiology Vol. 14: Cellular and molecular approaches to fish ionic regulation*. Academic Press, San Diego.
- MacKenzie, W. M. and S. F. Perry. 1997. The effects of hypercapnia on branchial and renal calcium fluxes in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Comp. Physiol.*, 167B: 52–60.
- Marshall, W. S. 1995. Transport processes in isolated teleost epithelia: Opercular epithelium and urinary bladder. Pages 1–23 in C. M. Wood and T. J. Shuttleworth, eds. *Fish Physiology Vol. 14: Cellular and molecular approaches to fish ionic regulation*. Academic Press, San Diego.
- Mirkovic, T. and P. Rombough. 1998. The effect of body mass and temperature on the heart rate, stroke volume, and cardiac output of larvae of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Physiol. Zool.*, 71: 191–197.
- Nakashiki, N., T. Ohsumi and N. Katano. 1995. Technical view on CO<sub>2</sub> transportation onto the deep ocean floor and dispersion at intermediate depth. Pages 183–193 in N. Handa and T. Ohsumi, eds. *Direct ocean disposal of carbon dioxide*. Terra Scientific Publishing Company, Tokyo.
- Nikinmaa, M. and A. Salama. 1998. Oxygen transport in

- fish. Pages 141–184 in S. F. Perry and B. Tufts, eds. Fish Physiology Vol. 17: Fish Respiration. Academic Press, San Diego.
- Omori, M., C. P. Norman and T. Ikeda. 1998. Oceanic disposal of CO<sub>2</sub>: Potential effects on deep-sea plankton and micronekton—A review. *Plankton Biol. Ecol.*, 45: 87–99.
- Ormerod, B. and M. Angel. 1996. Ocean storage of carbon dioxide. Workshop 2—Environmental Impact. IEA Greenhouse and Gas R & D Programme, Cheltenham, UK. 131 pp.
- Perry, S. F. 1997. The chloride cell: structure and function in the gills of freshwater fishes. *Annu. Rev. Physiol.*, 59: 325–347.
- Perry, S. F. and K. M. Gilmour. 1996. Consequences of catecholamine release on ventilation and blood oxygen transport during hypoxia and hypercapnia in an elasmobranch (*Squalus acanthias*) and a teleost (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Exp. Biol.*, 199: 2105–2118.
- Perry, S. F. and R. Kinkead. 1989. The role of catecholamines in regulating arterial oxygen content during acute hypercapnic acidosis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Respir. Physiol.*, 77: 365–378.
- Perry, S. F., R. Kinkead, P. Gallagher and D. J. Randall. 1989. Evidence that hypoxemia promotes catecholamine release during hypercapnia acidosis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Respir. Physiol.*, 77: 351–364.
- Perry, S. F., S. Malone and D. Ewing. 1987. Hypercapnic acidosis in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). I. Branchial ionic fluxes and blood acid-base status. *Can. J. Zool.*, 65: 888–895.
- Perry, S. F., P. J. Walsh, T. P. Mommsen and T. W. Moon. 1988. Metabolic consequences of hypercapnia in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*:  $\beta$ -adrenergic effects. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 69: 439–447.
- Randall, D. J., W. W. Burggren and K. French. 1997. *Eckert Animal Physiology*, 4th ed. Freeman & Co., New York, xvii+723 pp.
- Randall, D. J. and C. Daxboeck. 1984. Oxygen and carbon dioxide transfer across fish gills. Pages 263–314 in W. S. Hoar and D. J. Randall, eds. *Fish Physiology Vol. 10A: Gills*. Academic Press, New York.
- Randall, D. J., N. Heisler and F. Drees. 1976. Ventilatory response to hypercapnia in the larger spotted dogfish *Scyliorhinus stellaris*. *Am. J. Physiol.*, 230: 590–594.
- Randall, D. J. and S. F. Perry. 1992. Catecholamines. Pages 255–300 in W. S. Hoar, D. J. Randall and A. P. Farrell, eds. *Fish Physiology Vol. 12B: The cardiovascular system*. Academic Press, San Diego.
- 下島公紀. 1997. 深海の利用・開発. 海洋と生物, 19: 395–400.
- Smart, G. R., D. Knox, J. G. Harrison, J. A. Ralph, R. H. Richards and C. B. Cowey. 1979. Nephrocalcinosis in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson; the effect of exposure to elevated CO<sub>2</sub> concentrations. *J. Fish Dis.*, 2: 279–289.
- Smith, F. M. and D. R. Jones. 1982. The effect of changes in blood oxygen-carrying capacity on ventilation volume in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Exp. Biol.*, 97: 325–334.
- Sullivan, G. V., J. N. Fryer and S. F. Perry. 1995. Immunocalcification of proton pumps (H<sup>+</sup>-ATPase) in pavement cells of rainbow trout gill. *J. Exp. Biol.*, 198: 2619–2629.
- Takeda, T. 1991. Regulation of blood oxygenation during short-term hypercapnia in the carp, *Cyprinus carpio*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 98A: 517–521.
- 竹田達右・板沢靖男. 1983. 二酸化炭素麻酔の活魚輸送への応用可能性の検討. 日本水産学会誌, 49: 725–731.
- Tang, Y. and R. G. Boutilier. 1988. Correlation between catecholamine release and degree of acidotic stress in trout. *Am. J. Physiol.*, 255: R395–R399.
- Tang, Y., D. G. McDonald and R. G. Boutilier. 1989. Acid-base regulation following exhaustive exercise: a comparison between freshwater- and seawater-adapted rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Exp. Biol.*, 141: 407–418.
- Thomas, S., B. Fievet, L. Barthelemy and C. Peyraud. 1983. Comparison of the effects of exogenous and endogenous hypercapnia on ventilation and oxygen uptake in the rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *J. Comp. Physiol.*, 151B: 185–190.
- Thomas, S., R. Fritsche and S. F. Perry. 1994. Pre- and post-branchial blood respiratory status during acute hypercapnia or hypoxia in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J. Comp. Physiol.*, 164B: 451–458.
- Thomas, S. and H. Le Ruz. 1982. A continuous study of rapid changes in blood acid-base status of trout during variations of water P<sub>CO<sub>2</sub></sub>. *J. Comp. Physiol.*, 148B: 123–130.
- Toews, D. P., G. F. Holeton and N. Heisler. 1983. Regulation of the acid-base status during environmental hypercapnia in the marine teleost fish *Conger conger*. *J. Exp. Biol.*, 107: 9–20.
- Vermette, M. G. and S. F. Perry. 1988. Adrenergic involvement in blood oxygen transport and acid-base balance during hypercapnic acidosis in the Rainbow Trout, *Salmo gairdneri*. *J. Comp. Physiol.*, 158B: 107–115.
- Wood, C. M., S. F. Perry, P. J. Walsh and S. Thomas. 1994. HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> dehydration by the blood of an elasmobranch in the absence of Haldane effect. *Respir. Physiol.*, 98: 319–337.
- Wood, C. M., J. D. Turner, R. S. Mungler and M. S. Graham. 1990. Control of ventilation in the hypercapnic skate *Raja ocellata*: II. Cerebrospinal fluid and intracellular pH in the brain and other tissues. *Respir. Physiol.*, 80: 279–298.
- Yamashita, S., R. E. Evans and T. J. Hara. 1989. Specificity of the gustatory chemoreceptors for CO<sub>2</sub> and H<sup>+</sup> in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 46: 1730–1734.
- Yoshii, K., M. Kashiwayanagi, K. Kurihara and Y. Kobatake. 1980. High sensitivity of the eel palatine receptors to carbon dioxide. *Comp. Biochem. Physiol.*, 66A: 327–330.
- Yoshikawa, H., F. Kawai and M. Kanamori. 1994. The relationship between the EEG and brain pH in carp, *Cyprinus carpio*, subjected to environmental hypercapnia at an anesthetic level. *Comp. Biochem. Physiol.*, 107A: 307–312.

Yoshikawa, H., Y. Yokoyama and H. Mitsuda. 1991a. Electroencephalographic spectral analysis in carp, *Cyprinus carpio*, anesthetized with high concentrations of carbon dioxide. Comp. Biochem. Physiol., 98A: 437-444.

Yoshikawa, H., Y. Yokoyama, S. Ueno and H. Mitsuda. 1991b. Changes of blood gas in carp, *Cyprinus carpio*, anesthetized with carbon dioxide. Comp. Biochem. Physiol., 98A: 431-436.