

琉球大学学術リポジトリ

サンゴ代謝に影響する環境ストレスの定量的解析

メタデータ	言語: 出版者: 新垣雄光 公開日: 2009-03-19 キーワード (Ja): サンゴ, 白化現象, 過酸化水素, 代謝, 活性酸素, 沖縄 キーワード (En): Coral, Bleaching, Hydrogen peroxide, Metabolism, Active oxygen species, Okinawa 作成者: 新垣, 雄光, Arakaki, Takemitsu メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/9308

サンゴ代謝に影響する環境ストレスの
定量的解析

17510013

平成 17 年度～平成 18 年度科学研究費補助金
(基盤研究 (C)) 研究成果報告書

平成 19 年 3 月

研究代表者 新垣 雄光

琉球大学理学部助教授

<はしがき>

高温海水、紫外線、塩分変化などがサンゴに悪影響を及ぼし、白化させるストレス因子であることが知られている。しかし、各ストレス因子がサンゴに与える影響を定量的に解析した研究例は少ない。先の科学研究費補助金(若手研究(A))で、サンゴを長期間培養し、化学種の取り込み速度や放出速度を数値解析することができる実験システム(連続流水混合実験システム)の開発に成功した。本研究では、この実験システムを応用し、活性酸素種の一つである過酸化水素や海水温度などの環境ストレス因子がサンゴの生理活性に与える影響を定量的に解析することを目的とし、研究を実施した。

サンゴの生理学的状態を知る指標として代謝量がある。サンゴの代謝量を調べることで、海水温度の影響や過酸化水素濃度の影響などのストレスに対するサンゴの生理学的反応を探求することができる。これまで、サンゴの代謝量は、サンゴを閉鎖的な実験容器に浸し、そこにおける海水中の化学成分の変化より算出していた。しかし、閉鎖的な実験容器ではサンゴに新鮮な海水が供給されず、それ自体がストレスとなるため、長期の実験が困難であった。一方、先の補助金で開発した連続流水混合実験システムでは、新鮮な海水をサンゴへ連続的に供給するため、サンゴにストレスを与えず、長期間サンゴの代謝量を測定することができる。この実験システムでは、白化の要因とされている水温や光の強度をコントロールことができ、これらの因子がサンゴに及ぼす影響を考察することが可能である。

特に、先の研究で、沖縄島沿岸域において、赤土流入など人為的影響により海水中での栄養塩の増加や過酸化水素濃度の増加を報告してきたが、サンゴに与える影響についてはまだ解明されていない。本研究では、過酸化水素濃度および海水温度の変化がサンゴに与える影響を連続流水混合実験システムを用いて定量的に探求し、サンゴの白化現象との関係を探ることを目指し研究を行った。

研究組織

研究代表者：新垣 雄光 (琉球大学理学部助教授)

交付決定額 (配分額)

	直接経費	間接経費	合計
平成 17 年度	2,000,000	0	2,000,000
平成 18 年度	1,600,000	0	1,600,000
総 計	3,600,000	0	3,600,000

研究発表

(1) 学会誌等

岡田孝一郎、中島仁美、藤村弘行、新垣雄光、棚原朗、大森保「Ferrozine 試薬を用いる高速液体クロマトグラフィーによる沖縄島沿岸海水における鉄(II)の光化学的挙動の研究」、分析化学、Vol. 54, No. 9, 861-868, 2005年.

Arakaki, T. Y. Kuroki, K. Okada, Y. Nakama, H. Ikota, M. Kinjo, T. Higuchi, M. Uehara, and A. Tanahara, Chemical Composition and Photochemical Formation of Hydroxyl Radicals in Aqueous Extracts of Aerosol Particles Collected in Okinawa, Japan, *Atmospheric Environment*, Vol. 40, 4764-4774, 2006.

Okada, K. Y. Kuroki, Y. Nakama T. Arakaki, and A. Tanahara, Wavelength-dependence of photochemical formation of Fe(II) in aqueous extracts of aerosol particles collected in Okinawa, Japan, *Environmental Science and Technology*, Vol. 40, 7790-7795, 2006.

Higuchi, T., H. Fujimura, H. Ikota, T. Arakaki and T. Oomori, The effects of hydrogen peroxide on coral metabolisms - a case for *Goniastrea aspera*, *Galaxia*, in preparation.

Nakajima, H., K. Okada, Y. Kuroki, Y. Nakama, D. Handa, T. Arakaki, A. Tanahara, Photochemical formation of hydrogen peroxide and fluorescence characteristics of water-soluble fraction solutions of bulk aerosols collected in Okinawa, Japan, *Atmospheric Environment*, in preparation.

(2) 学会発表 (口頭およびポスター)

Higuchi, T., K. Shiroma, H. Fujimura, T. Arakaki, T. Oomori, A long-term observation of metabolic changes of a coral incubated in a continuous-flow complete-mixing experimental system, EGU 2005 Meeting, Poster Presentation, Vienna, Austria (2005)

黒木由貴子、仲真良秀、棚原朗、新垣雄光、「沖縄で採取したエアロゾルの水溶性化学成分および光化学生成する OH ラジカル」第 52 回日本地球化学会年会、琉球大学 (2005)

伊古田博嗣、岡田孝一郎、黒木由貴子、新垣雄光、「大気・海洋間における過酸化物の挙動について」第 52 回日本地球化学会年会、琉球大学 (2005)

岡田孝一郎、斉藤究、新垣雄光、「市販のフミン酸中で起こる鉄の光化学的挙動」第 52 回日本地球化学会年会、琉球大学 (2005)

樋口富彦、藤村弘行、伊古田博嗣、新垣雄光、大森保「過酸化水素によるサンゴ代謝量への影響」日本サンゴ礁学会第 8 回大会、ポスター発表、琉球大学 (2005)

Okada, K., Y. Kuroki, Y. Nakama, T. Arakaki, A. Tanahara, Photochemical Formation of Fe(II) in Aerosols Collected in Okinawa, Japan, AGU 2005 Fall Meeting, Oral Presentation, San Francisco, California, U.S.A.(2005)

Ikota, H., T. Arakaki, Measurement of Peroxides and Elucidation of Their Behavior in Subtropical Atmosphere, AGU 2005 Fall Meeting, Poster Presentation, San Francisco, California, U.S.A.(2005)

Kuroki, Y., Y. Nakama, A. Tanahara, T. Arakaki, C. Anastasio, Estimation of Average Number of Carbons in Water Soluble Organic Compounds Present in Aerosols Inferred from Reaction with Hydroxyl Radicals, AGU 2005 Fall Meeting, Oral Presentation, San Francisco, California, U.S.A.(2005)

Higuchi, T., H. Fujimura, H. Ikota, T. Arakaki, T. Oomori, Influence of hydrogen peroxide on coral metabolism, Poster Presentation, International Society for Reef Studies European Meeting, Bremen, Germany (2006)

岡田孝一郎、黒木由貴子、仲真良秀、新垣雄光、棚原朗、「沖縄で採取したエアロゾル中に含まれる鉄の挙動について」第 47 回大気環境学会、口頭発表、東京大学 (2006)

黒木由紀子、岡田孝一郎、仲真良秀、新垣雄光、棚原朗、「沖縄で採取したエアロゾル中に含まれる水溶性有機化合物の平均炭素数の見積もり」第 47 回大気環境学会、ポスター発表、東京大学 (2006)

伊古田博嗣、小谷有司、新垣雄光、「亜熱帯大気中の過酸化物の計測と挙動の解明」
第47回大気環境学会年会、ポスター発表、東京大学（2006）

新垣雄光、岡田孝一郎、中島仁美、黒木由貴子、仲真良秀、棚原朗、「沖縄で採取
された大気エアロゾル中の水溶性成分に起こる光化学反応」日本化学会西日
本大会、ポスター発表、琉球大学（2006）

樋口富彦、藤村弘行、新垣雄光、大森 保「高水温下で過酸化水素が *Galaxea
fascicularis* の代謝に及ぼす影響」、日本サンゴ礁学会第9回大会、ポスター
発表、斉藤報恩会自然史博物館（2006）

Uehara, M., T. Arakaki, Photochemical formation of hydroxyl radical in
red-soil-polluted seawater effects of dissolved organic compounds, AGU 2006 Fall
Meeting, Poster Presentation, San Francisco, California, U.S.A.(2006)

Saito, K., K. Okada, T. Arakaki, Photochemical formation of Fe(II) in humic acid
solutions - effects of pH and wavelengths, AGU 2006 Fall Meeting, Poster
Presentation, San Francisco, California, U.S.A. (2006)

Nakajima, H., T. Arakaki, Photochemical properties of fluorescent organic compounds
in the environment - photochemical source of peroxides, AGU 2006 Fall Meeting,
Poster Presentation, San Francisco, California, U.S.A. (2006)

(3) 出版物

なし。

目 次

第 1 章 過酸化水素がサンゴ代謝量に与える影響	1
1 - 1 序論	
1 - 2 方法	
1 - 3 結果と考察	
1 - 4 まとめ	
1 - 5 参考・引用文献	
第 2 章 沖縄島沿岸海水における鉄(II)の光化学的挙動の研究	66
第 3 章 Chemical Composition and Photochemical Formation of Hydroxyl Radicals in Aqueous Extracts of Aerosol Particles Collected in Okinawa, Japan	74
第 4 章 Wavelength-dependence of photochemical formation of Fe(II) in aqueous extracts of aerosol particles collected in Okinawa, Japan	86
謝辞	93

1-1 序論

近年、大規模白化や人為起源物質の流入などが原因による世界中のサンゴ礁の衰退が危惧されている。地球規模サンゴ礁モニタリングネットワーク(GCRMN)は、2004年のレポートで、(1)白化現象、(2)CO₂レベルの上昇、(3)病気と有害動物、(4)過剰漁業、(5)堆積物、(6)富栄養と化学汚染、(7)沿岸域の開発、(8)貧困と人口及び土地の改変、(9)管理能力の欠如と資金不足、(10)政治的意志と海洋管理の欠如の10項目がサンゴ礁を脅かす重大な課題であると報告している(Goldberg and Wilkinson, 2004)。

開発による汚染の具体例として、沖縄本島では、赤土の流入による汚染がある(大見謝, 2004)。赤土に汚染された海域では、全鉄濃度が高く(岡田ら, 2005)、その鉄が影響して、過酸化水素生成速度の増加が確認されている(中島ら, 2004)。また、中島ら(2004)は、今後成層圏のオゾン層が薄くなり、地上に到達する紫外線量が増加すると、海水中の過酸化水素がさらに増加する可能性があることも報告している。

大気中で生成する過酸化水素は強い酸化力を持ち、酸性雨の形成や森林衰退などに関与していることが報告されている(Sakugawa *et al.*, 1990)。海水中の過酸化水素の起源として、大気中からの湿性および乾性沈着がある(Zika *et al.*, 1982; Thompson and Zafiriou, 1983)。さらに、海水中的での光化学的生成(Cooper and Zika, 1983)や植物プランクトンによる生成(Palenik *et al.*, 1987)も報告されている。サンゴ礁における海水の過酸化水素濃度は晴れた日で最大 150 nM 程度であるが(Arakaki *et al.*, 2005; 伊古田, 2005)、降雨時は、大気中の過酸化水素が海水中に溶け込み、海水中の過酸化水素濃度はさらに増加する(Zika *et al.*, 1982)。また、伊古田(2005)は、閉鎖系で海水に光が当たると、最大 500 nM 程度まで過酸化水素濃度が増加することを報告しており、干潮時のタイドプールなど、海水の流入が遮断された閉鎖系の海水では、過酸化水素濃度が高くなる可能性がある。

過酸化水素は活性酸素のひとつとして知られており、Pires and Hadfield (1991)によると過酸化水素は 50-200 nM と比較的低濃度でも 7 時間の暴露で、裸鰓目(ウミウシの仲間)である *Phestilla sobogae* が部分変態を引き起こすなど、海洋生物に影響を及ぼす物質であることがわかっている。さらに、高濃度 (~5 mM) で貝類(Morse *et al.*, 1977)や、枝サンゴ(Hayashibara *et al.*, 2004)の産卵を誘発することから、海水中における過酸化水素の増加は、サンゴの生体に何らかの影響を与える可能性が高いと考えられる。

サンゴには、「褐虫藻 (zooxanthellae)」と呼ばれる 10 μm 程の共生藻が細胞内に共生している(Kawaguchi, 1944)。互いの共生関係を見ると、サンゴの呼吸によって生じた二酸化炭素の一部は褐虫藻によって光合成に利用され、褐虫藻は

光合成によって生産したグリセロール等をサンゴの活動エネルギー源として、サンゴに提供し(Grant *et al.*, 1997), サンゴの代謝産物として排出されるアンモニウムやリン酸塩などの老廃物を摂取して成長する。しかし、急激な環境変化はサンゴにストレスとして働き、この共生関係の維持を困難なものにする。共生関係が崩れると、サンゴから褐虫藻が抜け出してしまうサンゴの白化現象が起こる。白化現象の主な原因としては、高水温、塩分、強い光、紫外線などが上げられている(Fitt *et al.*, 2001)。Wilkinson(1998)は、1997~1998年の大規模なサンゴ礁の白化現象を引き起こした主原因は、世界規模での海水温上昇であると報告した。高水温は、褐虫藻内で過酸化水素など活性酸素等の有害物質の生産を促進する(Lesser *et al.*, 1990)。不安定な電荷を持つ活性酸素は高エネルギー状態にあり、細胞内器官に障害をもたらすと同時に光合成系IIにも障害を与え光合成を阻害する(Lesser, 1997)。よって、サンゴは自己防衛のために褐虫藻を放出し、サンゴは白化してしまうと考えられている。

サンゴ群体の生理状態を知る方法として、サンゴの代謝量測定が有用である。これまでサンゴの代謝量に関する様々な研究が多く研究者によって行われてきた。例えば、Coles and Jokiel(1977)は、18-31 °Cでサンゴの代謝を測定すると、総生産量 / 呼吸量(P_{gross} / R_{24h})比が、温度上昇につれて減少することを示した。また、32 °Cで7時間サンゴを培養すると P_{gross}/R_{24h} 比が減少することが報告された(Hoegh-Guldberg and Smith, 1989)。Abramovitch-Gottib *et al.* (2002)は、Buoyant weight 法を用いて、光、水の動き、栄養塩をコントロールした条件下において、29 °Cで *Stylophora pistillata*, 30 °Cで *Mellepora dichotoma* の白化および石灰化速度の減少を観察した。また、Fujimura *et al.*(2001)では、pH-alkalinity 法を用いて、メソコズムにおける総生産量(P_{gross})と石灰化速度が、白化後にそれぞれ39%, 83%減少することを示した。しかし、ほとんどの代謝量研究において長期の実験は行われておらず、短期における環境ストレスの影響が考察されている。したがって、長期間の代謝量測定を行うことは、代謝量の研究を行う上で非常に重要であると考えられる。

連続流水混合実験システム(Fujimura *et al.*, submitted)では、サンゴに新鮮な海水を連続的に供給できるため、サンゴにストレスを与えず、長期的にサンゴの代謝量を測定できる。このシステムでは、水温や光の強度をコントロールできるだけでなく、サンゴへの供給海水の化学組成もコントロールできるため、様々な因子がサンゴに与える影響を定量的に考察できる。

本研究では、連続流水混合実験システムを用い、長期間のサンゴ群体の代謝量変動を測定し、供給海水中の過酸化水素濃度を変化させることで、過酸化水素がサンゴの生体に与える影響を調べた。

1-2 方法

2-1 連続流水混合実験システム

本研究ではサンゴによる化学物質の取込みや放出の速度を測定するために連続流水混合実験システムを用いた。連続流水混合実験システムは Fujimura *et al.* (Submitted) によって開発された実験システムを樋口(2004)で改良したシステムである。本実験システムでは、造礁サンゴを群体のまま飼育条件の調整できる水槽内に飼育することで、炭素や栄養塩の代謝に関連した海水中の化学成分の変化を長期的に追跡することができ、サンゴ群体の光合成量、呼吸量、石灰化量等を算出することができる。連続流水混合実験システムの模式図を Fig.1 に示す。連続流水実験システムでは、ある濃度の化学物質が一定の流速で流入し、飼育ビン内でただちに混合し、生物活動によって変化を受け、同じ流速で流出するときの容器内の濃度を表している。この実験系を使用することでサンゴの代謝速度を定量的に求めることが可能である。この実験システムでは、ある化学物質の容器内での蓄積量または損失量は流入量から流出量を差し引き、サンゴによる取込み量または放出量を加えたものに等しくなる。

単位時間あたりの変化量は、

(容器内の蓄積または損失量) = (流入量) - (流出量) + (サンゴの取込みまたは放出量)

すなわち、

$$\frac{d(CV)}{dt} = rC_{in} - rC + E \quad \dots\dots\dots (2-1)$$

C_{in} : 流入海水中的の濃度(mol l⁻¹)

C : 容器内の海水中的の濃度(mol l⁻¹)

r : 流速(l min⁻¹)

V : 容器の容量(l)

t : 飼育時間(min)

E : サンゴによる取込みまたは放出の速度(mol min⁻¹)

(2-1)式の左辺は次のように書くことができる。

$$\frac{d(CV)}{dt} = V \frac{dC}{dt} + C \frac{dV}{dt} \quad \dots\dots\dots (2-2)$$

ここで、容器 V は常に一定($\frac{dV}{dt} = 0$)であり(2-2)式は次のようになる。

$$\frac{d(CV)}{dt} = V \frac{dC}{dt} \dots\dots\dots (2-3)$$

(2-3)式と(2-1)式より、

$$V \frac{dC}{dt} = rC_{in} - rC + E \dots\dots\dots (2-4)$$

辺々を V で割り移行すると、

$$\frac{dC}{dt} + \frac{r}{V}C = \frac{rC_{in} + E}{V} \dots\dots\dots (2-5)$$

(2-5)式は一階線形微分方程式であり、次のようにして解くことができる。

今、一階線形微分方程式 $\frac{dy}{dx} + Py = Q$ を考えると、

$$e^{Px} \frac{dy}{dx} + P \cdot e^{Px} \cdot y = e^{Px} \cdot Q$$

$$\frac{d(e^{Px} \cdot y)}{dx} = e^{Px} \cdot Q$$

$$\int d(e^{Px} \cdot y) = \int e^{Px} \cdot Q dx$$

$$e^{Px} \cdot y = \frac{Q}{P} \cdot e^{Px} + w$$

$$y = \frac{Q}{P} + w \cdot e^{-Px} \dots\dots\dots (2-6)$$

ここで、w は積分定数である。

したがって、(2-5)式の $C=y$, $t=x$, $\frac{r}{V} = P$, $\frac{rC_{in} + E}{V} = Q$ とおくと(2-6)式より、

$$C = C_{in} + \frac{E}{r} + w \cdot e^{-r/V \cdot t} \dots\dots\dots (2-7)$$

(2-7)式の積分定数 w は飼育の状況に合わせた初期条件を入れて解く。

i) 飼育開始時の容器内の化学物質の濃度と流入海水の化学物質の濃度が等しい場合、すなわち時間 t=0 のとき C=C_{in} ならば、(2-7)式は、

$$C = C_{in} + \frac{E}{r} - \frac{E}{r} \cdot e^{-r/V \cdot t} \dots\dots\dots (2-8)$$

ii) 飼育開始時の容器内の化学物質の濃度と流入海水の化学物質濃度が異なる場合、すなわち t=0 のとき C=C_i ならば、(2-7)式は、

$$C = C_{in} + \frac{E}{r} + (C_i - C_{in} - \frac{E}{r}) \cdot e^{-r/V \cdot t} \dots\dots\dots (2-9)$$

飼育時間 t に対する濃度 C の変化は E がプラスの時はサンゴから放出されていることを示し、E がマイナスの時はサンゴに取り込まれていることを示す。これらの変化は、Fig.2-a,b に示すような曲線を描く。例えば、サンゴの飼育実験のように明暗周期をつけた条件では、明期から暗期に変わるとサンゴに共生する褐虫藻の光合成活動が停止し、溶存酸素は放出から取込みに転じる。この場合 E の値がプラスからマイナスになり、グラフは Fig.2-c のようになる。また、ある条件を変えた時、放出量や取込み量に変化する。この場合、E の符号は変わらずに値だけに変化する(Fig.2-d)。このように、飼育時間に対する容器内のある化学物質の濃度変化は基本的に放出または吸収の曲線(Fig.2-a,b)を組み合わせた変動を示すことになる。

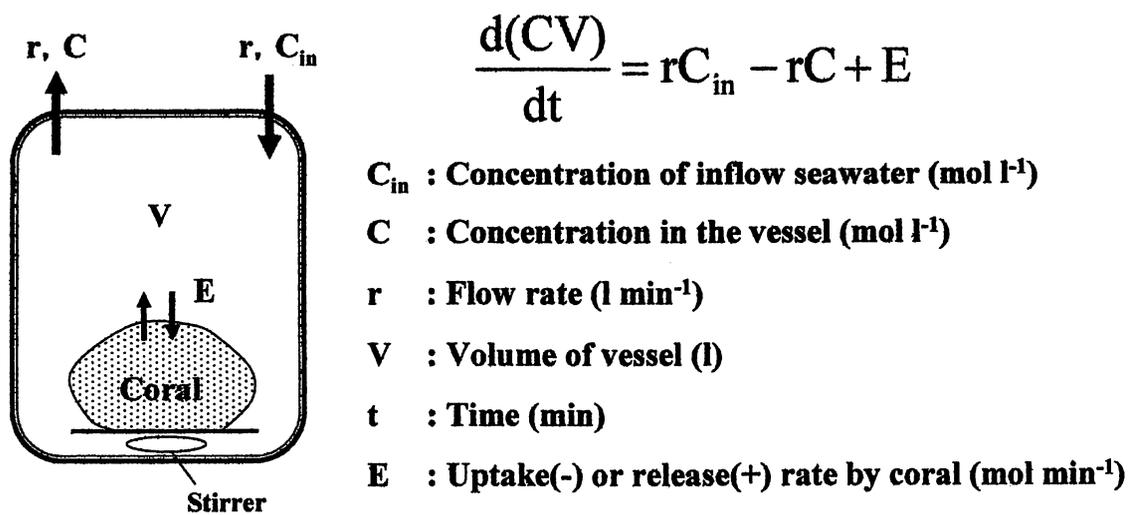


Fig. 1 Continuous flow mixing experimental system and model formula

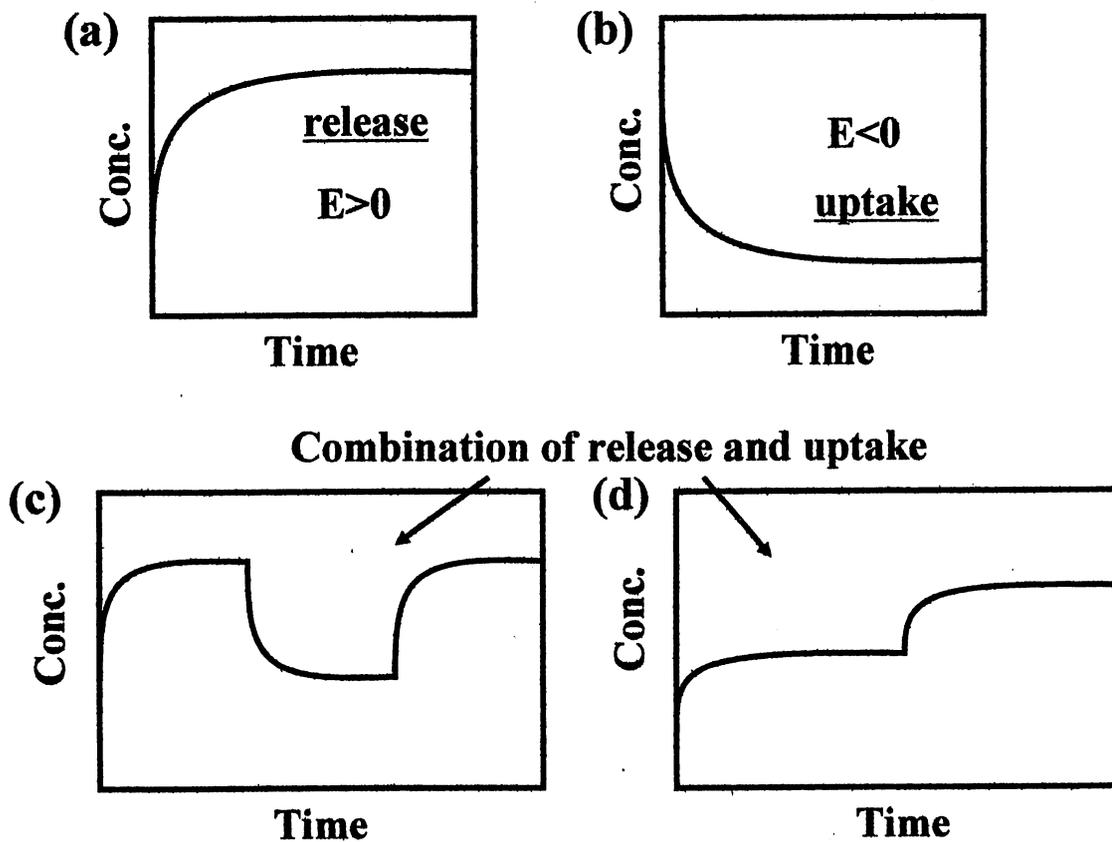


Fig. 2 Typical variations by the CFM experimental system

2-2 サンゴの飼育実験

連続流水混合実験システムを用いたサンゴの飼育実験模式図を Fig. 3 に示す。水温は恒温槽(Coolnics CTE42A, Yamato-Komatsu)を用いて調節した。ペリスタポンプを用いてろ過海水をサンゴの飼育ビンに送り込み、押し出された海水を採水ボトル(500 ml ポリビン)に採取した。容器内の海水はスターラーでよく攪拌し、濃度が常に均一になるようにした。容器の形は円柱形で容量約 850 ml, 内法の大きさは直径 9.5 cm, 高さ 12.0 cm であった。光は蛍光灯を用いて照射し, 7:00~19:00 の 12 時間は点灯, 19:00~7:00 の 12 時間は消灯となるようにした。使用した海水は瀬底実験所で採水した新鮮な海水を 0.2 μm の中孔糸フィルター(トレビーノ, Toray)でろ過した。実験を開始する直前に 30 分間空気バブリングし, 酸素過飽和度を約 100%とした。

この実験システムでは, 恒温槽の温度を調整することにより水温の影響, 光源や光の強度, 光源からの距離を調整することにより光の影響, サンゴに供給する海水の特定の化学物質などの濃度を調整することによりその化学物質がサンゴに与える影響を調べることができる。本研究ではサンゴに供給する過酸化水素濃度を調整し, 過酸化水素がサンゴに与える影響を調べた。

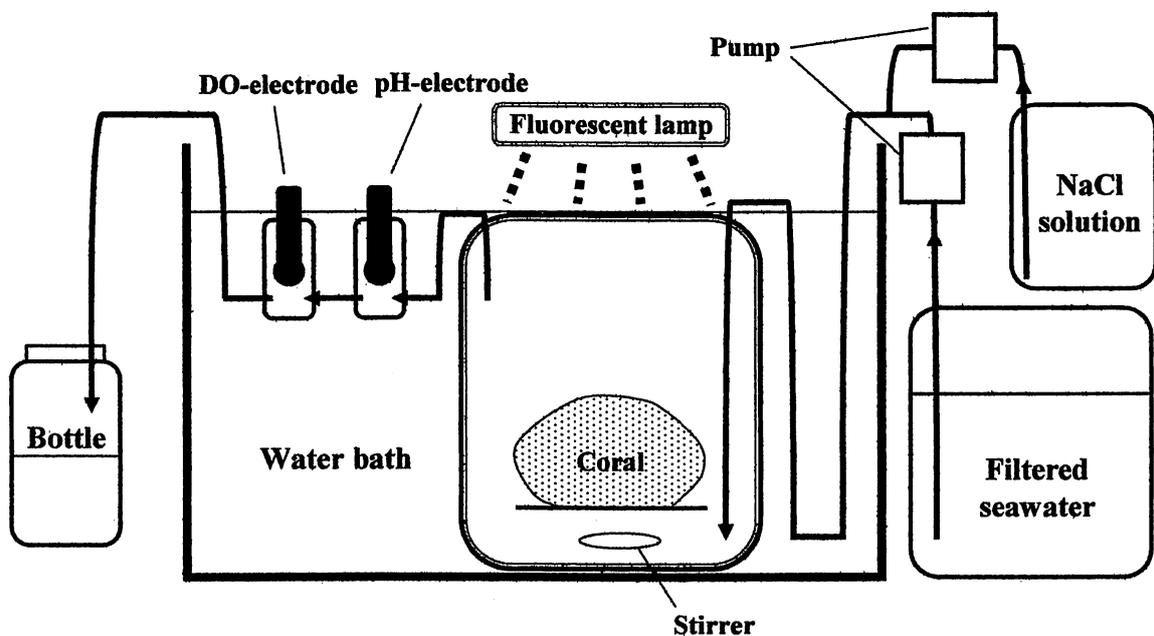


Fig.3 Schematic diagram of experimental system

2-3 飼育条件の設定

サンゴを水槽から飼育容器に移した際の移動によるストレスが結果に影響する可能性がある。本研究では移動による影響を軽減するために、サンゴを飼育ビンに移動させ、5日間流水システムで飼育した後実験をスタートした。

2-3-1 過酸化水素無添加実験

本研究では、NaCl溶液と海水の混合溶液を実験に用いるため、混合溶液自体がサンゴにストレスとならないこと、また、実験システム自体がサンゴに影響を与えないことを確認するために、過酸化水素濃度 0 nM で海水と NaCl 溶液の混合溶液をサンゴに供給し、12日間実験を行った。過酸化水素添加実験同様、ペリスタポンプを用いて海水を流速 1.9 ml min^{-1} 、NaCl 溶液を流速 0.1 ml min^{-1} 、計 2.0 ml min^{-1} でサンゴの飼育ビンに送り込んだ。その他の条件は、水温 $27 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 、光点灯時の光量 $240 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ で常に一定にした。光量は LI-200SA(LI-COR)で測定した。

2-3-2 過酸化水素添加実験

本研究では、サンゴに供給する過酸化水素濃度を 0, 300, 3000, 30000 nM に調整し、各濃度で3日間ずつ計12日間実験を行った。その他の条件は、水温は $27 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 、光点灯時の光量は約 $240 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ で常に一定にした。

また、飼育ビンにサンゴを入れないで全く同様の実験を行い、実験システム内におけるサンゴ以外の影響を確認した。

*過酸化水素の添加方法

過酸化水素は低濃度で不安定なため、安定な高濃度の過酸化水素を希釈しながらサンゴの飼育ビンに供給した。ペリスタポンプを用いて海水を流速 1.9 ml min^{-1} 、安定な濃度の過酸化水素溶液を流速 0.1 ml min^{-1} 、計 2.0 ml min^{-1} の速度でサンゴの飼育ビンに送り込み、過酸化水素濃度が20倍希釈されるようにした。過酸化水素溶液の過酸化水素濃度は 0, 6000, 60000, 600000 nM に調整し、それぞれ20倍希釈することで 0, 300, 3000, 30000 nM となるようにした。

*過酸化水素溶液の調整

過酸化水素溶液の原液は、市販の30%過酸化水素水 $100 \mu\text{l}$ を Milli-Q 水で 100 ml にメスアップし、 1 cm の角型石英セルを用い波長 240 nm の吸光度を測定した。吸光度の測定には、U-2001 spectrophotometer (HITACHI)を用いた。Lambert-Beerの法則により、 $A = \epsilon \times l \times c$ (A :吸光度, ϵ :モル吸光係数, l :光路長, c :モル濃度)である。ここで、過酸化水素の 240 nm におけるモル吸光係数は $38.1 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ であり (Miller and Kester, 1988)、光路長は 1 cm であることから、吸光度より過酸化水素の濃度が計算できる。計算した過酸化水素を希釈して、6000,

60000, 600000 nM の過酸化水素溶液をそれぞれ 500 ml 作製した。

* 希釈用溶液

過酸化水素をろ過海水および人工海水で希釈した時の経過時間と濃度を Fig.4 に示す。過酸化水素の希釈にろ過海水を用いた場合、6000 nM に調整した溶液の過酸化水素濃度は、常温・遮光時で数時間後には減少してしまった。一方、希釈に岡田(2005)の NaCl 溶液(0.7 M-NaCl + 2 mM-NaHCO₃)を用いた場合、6000 nM の溶液の過酸化水素濃度は常温・遮光時で 4 日間まで安定であった。よって本研究では、NaCl 溶液を過酸化水素の希釈に用いた。過酸化水素濃度 0 nM の溶液は NaCl 溶液をそのまま用いた。このように過酸化水素濃度を調整したボトルを 3 日ごとに交換し、それぞれの濃度でサンゴに供給した。各濃度の過酸化水素溶液は、それぞれボトルを交換する直前に調整した。NaCl 溶液は、NaCl (40.908 g)と NaHCO₃ (0.16802 g)を Milli-Q 水に溶かし、1000 ml に定容した。なお、過酸化水素の濃度測定は新垣研究室の伊古田君に依頼した。

2-4 使用したサンゴ

実験には塊状の造礁サンゴ、パリカメノコキクメイシ *Goniastrea aspera*(Fig.5) を用いた。沖縄本島沿岸域のサンゴ礁から直径約 5 cm の大きさの *Goniastrea aspera* を採取した。採取したサンゴは琉球大学熱帯生物圏研究センター瀬底実験所の屋外水槽で数ヶ月ならした後、琉球大学理学部実験室内の水槽に移動し、実験に用いた。なお、サンゴの採取に当たっては前もって沖縄県漁政課から採捕許可を取得した。採捕許可番号は特第 16-29 号(平成 16 年度),特第 17-04 号(平成 17 年度)である。

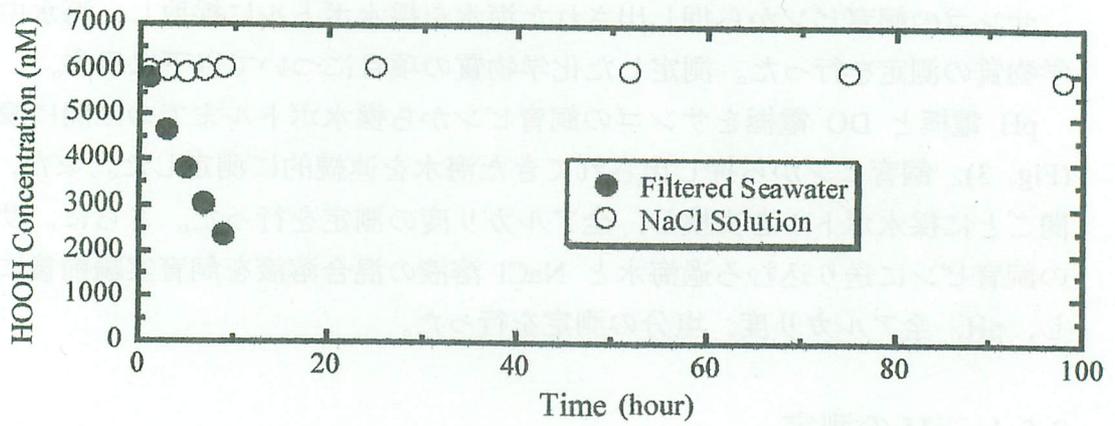


Fig. 4 Changes in HOOH Concentration over time in filtered seawater and NaCl solution

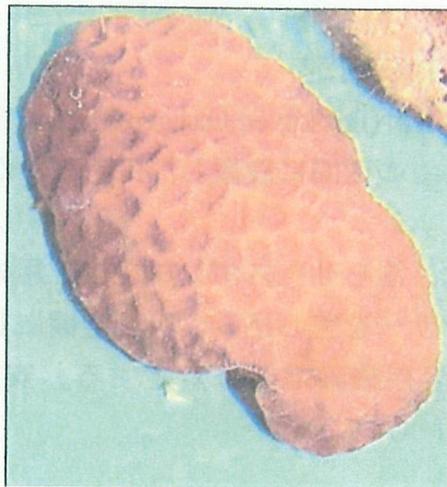


Fig. 5 Picture of *Goniastrea aspera* used in the experiments

2-5 海水の化学分析

サンゴの飼育ビンから押し出された海水を採水ボトルに採取し、海水中の化学物質の測定を行った。測定した化学物質の項目について以下に示す。

pH 電極と DO 電極をサンゴの飼育ビンから採水ボトルまでの区間に設置し (Fig. 3), 飼育ビンから押し出されてきた海水を連続的に測定した。また, 4 時間ごとに採水ボトルを交換し, 全アルカリ度の測定を行った。さらに, サンゴの飼育ビンに送り込むろ過海水と NaCl 溶液の混合溶液を飼育実験前後に採取し, pH, 全アルカリ度, 塩分の測定を行った。

2-5-1 pH の測定

pH メーター (pH Meter 290A⁺, Thermo Orion) を飼育ビンから採水ボトルまでの区間に設置し, 飼育ビンから押し出されてきた海水を連続的に測定した。

pH メーターの校正は, 2 種類の標準溶液, フタル酸塩標準溶液 pH-7 (pH = 6.860, 27°C) および中性リン酸塩標準液 pH-4 (pH = 4.008, 27°C) を用いて行った。また, 実験終了後に標準液を pH メーターで測定し, ドリフト補正を行った。

2-5-2 溶存酸素 (DO) の測定

溶存酸素は, 溶存酸素計 (Dissolved Oxygen Meter 810A⁺, Thermo Orion) を飼育ビンから採水ボトルまでの区間に設置し, 飼育ビンから押し出されてきた海水を連続的に測定した。

溶存酸素計の校正は, 湿らせたスポンジを校正用の筒の中に入れ, その筒の中に溶存酸素計のセンサーを差し込み, 密閉空間にして行った。筒内の水蒸気が飽和に達すると, 溶存酸素電極は安定する。安定した状態を溶存酸素量 101.7% とし, 校正を行った。

2-5-3 塩分の測定

塩分(Salinity)は、「海水 1 kg 中に含まれる固形物質である塩類を g 数で表したもので、炭酸塩は全て酸化物に、臭素・ヨウ素は塩素で置き換えられ、有機物は完全に酸化される」という定義で単位は千分率(‰)で表されている。しかし、海水を蒸発乾固させ、塩類の重量を測る方法は困難であるため、「海水中に溶けている主成分イオンの存在比は一定である」と仮定して、塩素量 Cl を測定し、その値を用いて式(11)より間接的に塩分 S を求めてきた。

$$S (\%) = 1.80655 \times Cl (\%) \dots\dots\dots (2-10)$$

近年では、CTD や STD などの測器によって現場での水温、電気伝導度、圧力を測定できるため、これら 3 要素から塩分を求める関数(2-11)が定義され、それを用いて簡単に塩分 S を求めることができるようになった。

$$S = a_0 + a_1 \cdot K_{15}^{\frac{1}{2}} + a_2 \cdot K_{15}^1 + a_3 \cdot K_{15}^{\frac{3}{2}} + a_4 \cdot K_{15}^2 + a_5 \cdot K_{15}^{\frac{5}{2}} \dots\dots (2-11)$$

(2-11)の各項にある $a_0 \sim a_5$ の値は次のようになり、これらの総和は 35.0000 となる。

$$a_0 = 0.0080$$

$$a_3 = 14.0941$$

$$a_1 = -0.1692$$

$$a_4 = -7.0261$$

$$\sum_{a=0}^5 a_k = 35.0000$$

$$a_2 = 25.3851$$

$$a_5 = 2.7081$$

また K_{15} は、15 °C、1 気圧、KCl 標準溶液(1 kg 中に KCl 32.435 g を含んだ水溶液)に対する試料海水の電気伝導度比を表す。この KCl 標準溶液は以前定義されていた塩分 35 ‰の標準海水と、15 °C、1 気圧における電気伝導度が等しくなるように定められている。塩分の測定は、塩分計(Portsol Model 8410A, Guildline Instruments)を用いた。

(1)測定原理

恒温槽で海水温度を一定に保った上で、電極により試料の伝導度を測定し、標準海水との伝導度比から塩分を求めるというものである。電極方式の問題である分極による誤差は、4 つの電極の組み合わせを変えて使用することにより解決されている。これにより、測定精度は実用塩分単位 0.003 当量より上である。塩分測定のための標準海水には、Ocean Scientific International 社の IAPSO STANDARD SEAWATER($K_{15} = 0.99987$, Salinity = 34.995)を用いた。

(2)測定方法

【測定器の校正】

塩分計のスイッチを入れ、浴温を室温程度に設定した。その後、機械が安定

するまで3時間以上ウォームアップさせた。機械が安定したら、基準値校正とゼロ校正を行った。次に、標準海水を使用して、標準化を行った。まず、塩分計に標準海水の塩分を入力する。次に、標準海水をセルに満たし、フラッシュする操作を2, 3回繰り返す。その後、セルに標準海水を満たし、安定したところで伝導度を測定した。

【サンプルの測定】

サンプルでセルを2, 3回共洗いし、セルをサンプルで満たした後、セルに気泡がないことを確認し、「FUNCTION」スイッチを「READ」にセットし、塩分を測定した。

2-5-4 全アルカリ度(TA)の測定

Dickson(1981)は海水中のアルカリ度について次のように表している。

$$TA = m_{HCO_3^-} + 2m_{CO_3^{2-}} + m_{B(OH)_4^-} + m_{OH^-} + m_{HPO_4^{2-}} + 2m_{PO_4^{3-}} + m_{H_3SiO_4^-} + m_{NH_3} + m_{HS^-} - m_{H^+} - m_{HSO_4^-} - m_{HF} - m_{H_3PO_4} \dots\dots\dots (2-13)$$

pHが8以上であると海水のアルカリ度は次の式と非常に良い近似を示す。

$$TA \cong m_{HCO_3^-} + 2m_{CO_3^{2-}} + m_{B(OH)_4^-} + m_{OH^-} + m_{H^+} \dots\dots\dots (2-14)$$

全アルカリ度(TA: Total Alkalinity)のうち、炭酸種によって表されるものを炭酸アルカリ度(CA: Carbonate Alkalinity)、ホウ酸の解離によって表されるものをホウ酸アルカリ度(BA: Borate Alkalinity)と呼ぶ。それぞれの式は以下の通り。

$$CA = m_{HCO_3^-} + 2m_{CO_3^{2-}} \dots\dots\dots (2-15), \quad BA = m_{B(OH)_4^-} \dots\dots\dots (2-16)$$

本研究では、全アルカリ度の測定に、1点法 (Culberson *et al.*, 1970; Smith and Kinsey, 1978)を用いた。

(1) 測定原理

海水に十分な量の酸を加えると、中和反応により炭酸イオンと炭酸水素イオンが全て非解離の炭酸に変わる。



酸を加えた後に測定した pH と、海水中に炭酸イオンと炭酸水素イオンが存在していないと仮定した時、加えた酸の量と濃度から計算される pH は異なる。この pH の差が、中和反応によって消費された水素イオンに相当する。

1点法による全アルカリ度の計算は次のようになる。

$$TA = \frac{W_{HCl} \cdot N_{HCl}}{W_{Sample}} \times 1000 - \frac{(W_{Sample} + W_{HCl}) \cdot a_{H^+} / \gamma_{H^+}}{W_{Sample}} \times 1000 \quad \dots\dots\dots (2-17)$$

ここで、 W_{HCl} は加えた 0.1 N 塩酸溶液の重量、 W_{Sample} は試水の重量、 N_{HCl} は加えた塩酸の規定度、 a_{H^+} は酸を加えた後の水素イオンの活量(= 10^{-pH})、 γ_{H^+} は水素イオンの活量係数(=0.738)である。この時の全アルカリ度の単位は $mmol\ l^{-1}$ または $meq\ l^{-1}$ である。

(2) 測定方法

まず、50 ml のスクリー瓶を秤量し、次に、採水ボトルの海水をエッペンドルフで秤量済みのスクリー瓶に 30 ml 分取し、再び秤量した。続いて、イオン強度を約 0.7 M に KCl で調節した 0.1N-HCl($f = 1.0063$)をエッペンドルフで 1 ml 加え、再び秤量した。ふたをして良く振り混ぜ、恒温槽中で 25°C にした後、スターラーを入れて pH の測定を行った。pH メーターの校正等は「pH の測定」の項目に記述した内容に準ずる。得られた値を(2-17)式に当てはめ、全アルカリ度(TA)を求めた。

2-5-5 使用した試薬

本研究で使用した試薬は、試薬名、純度、販売会社に分けて Table 1 に示した(付録で用いた試薬も含む)。

Table 1 Chemicals and Suppliers

	試薬名	純度	販売会社
1	pH-7(pH 6.865 25°C) pH Buffer Solution		METTLER TOLEDO
2	pH-4(pH 4.006 25°C) pH Buffer Solution		METTLER TOLEDO
3	塩酸(HCl)	特級	関東化学株式会社
4	水酸化ナトリウム(NaOH)	試薬特級	関東化学株式会社
5	塩化カリウム(KCl)	特級	関東化学株式会社
6	塩化ナトリウム(NaCl)	特級	関東化学株式会社
7	フタル酸水素カリウム(C ₈ H ₅ KO ₄)	特級	関東化学株式会社
8	炭酸水素ナトリウム(NaHCO ₃)	特級	関東化学株式会社
9	炭酸ナトリウム(Na ₂ CO ₃)	pH標準液用	関東化学株式会社
10	IAPSO STANDARD SEAWATER		Ocean Scientific International
11	スルファニルアミド(H ₂ NC ₆ H ₄ SO ₂ NH ₂)	特級	関東化学株式会社
12	N-(1-ナフチル)エチレンジアミン二塩酸塩 (C ₁₀ H ₇ NHCH ₂ CH ₂ NH ₂ · 2HCl)		SIGMA
13	亜硝酸ナトリウム(NaNO ₂)	イオンクロマトグラフィー用 NO ₂ ⁻ イオン超高純度試料	関東化学株式会社
14	エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム二水和物 (C ₁₀ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₈ · 2H ₂ O)	特級	関東化学株式会社
15	硝酸ナトリウム(NaNO ₃)	イオンクロマトグラフィー用 NO ₃ ⁻ イオン超高純度試料	関東化学株式会社
16	フェノール(C ₆ H ₅ OH)	試薬特級	関東化学株式会社
17	ニトロプルシドナトリウム (Na ₂ [Fe(CN) ₅ NO] · 2H ₂ O)	特級	関東化学株式会社
18	次亜塩素酸ナトリウム溶液(NaClO)	鹿1級	関東化学株式会社
19	硫酸アンモニウム((NH ₄) ₂ SO ₄)	1級	関東化学株式会社

2-6 データの解析

2-6-1 サンゴ群体による取込みまたは放出速度(E 値)

各化学物質の測定値から、サンゴの取込みまたは放出の速度である E 値を算出した。pH と溶存酸素(DO)を除く各測定値は、刻々と濃度が変化する飼育ビン内の海水を少しずつ取り出し採水ボトルにためた時の値であり、飼育ビン内の濃度を直接示しているわけではない。したがって、採水ボトルの測定値から E 値を求めるには(2-9)式をまず飼育時間で積分する必要がある。

$$\int_a^b C dt = [C_{in} \cdot t + E/r \cdot t - (C_i - C_{in} - E/r) \cdot V/r \cdot e^{-r/V \cdot t}]_a^b \dots\dots (2-18)$$

ここで、a, b は飼育時間(min)を表す。

また、(2-18)式の積分値と採水ボトル中の海水の測定値(C_{bottle})は次の関係にある。

$$\int_a^b C dt = C_{bottle} \cdot (b - a) \dots\dots\dots (2-19)$$

(2-18)式に(2-19)式に代入し、E について解くと(2-20)式を得る。

$$E = \frac{(C_{bottle} - C_{in})(b - a) + (C_i - C_{in}) \cdot V/r \cdot (e^{-r/V \cdot b} - e^{-r/V \cdot a})}{(b - a)/r + V/r^2 \cdot (e^{-r/V \cdot b} - e^{-r/V \cdot a})} \dots\dots (2-20)$$

また、飼育ビン内の値を直接示している pH と DO に関してはそのまま(2-9)式を E について解き、次式より得られる。

$$E = \{C - C_{in} + (C_{in} - C_i)e^{-r/V \cdot t}\} \cdot r / (1 - e^{-r/V \cdot t}) \dots\dots\dots (2-21)$$

2-6-2 全炭酸(C_T)の計算

全炭酸(C_T)は pH と全アルカリ度(TA)の値から、炭酸の平衡計算を行うことによって次式より算出した。

$$C_T = \frac{a_{H^+} + K'_1 K'_2}{K'_1 (a_{H^+} + 2K'_2)} \cdot \left(TA - \frac{K'_B \cdot 1.212 \times 10^{-5} \cdot S}{a_{H^+} + K'_B} \right) \dots\dots\dots (2-22)$$

ここで、

- C_T : 全炭酸
- TA : 全アルカリ度
- a_{H^+} : 水素イオンの活量(= 10^{pH})
- K'_1 : 炭酸の見かけの第一平衡定数
- K'_2 : 炭酸の見かけの第二平衡定数
- K'_B : ホウ酸の見かけの平衡定数
- S : 塩分

である。

pH は、飼育ビン内の連続的な値である。一方で、全アルカリ度は採水ボトル中の不連続な値である。(2-22)式を用いて全炭酸を計算するには pH に対応した全アルカリ度の連続的な値が必要である。そのため、全アルカリ度の E 値を(2-9)式に入れ、pH と同時刻の全アルカリ度の飼育ビン内の連続値を推定した。

2-6-3 見かけの平衡定数の算出

純水中における炭酸とホウ酸の解離定数 K_1 , K_2 , K_B は次の(2-23)式と Table 2 に示す係数から求めることができる(Millero, 1981)。

$$\ln K_i = A + B/T + C \cdot \ln T \quad \dots\dots\dots (2-23)$$

Table 2 Parameters(A, B, C) for the temperature dependence of the ionization constants(K_i) of acid in water

	A	B	C	Reference
K_B	148.0248	-8966.90	-24.4344	Owen (1934),
K_1	290.9097	-14554.21	-45.0575	Harned and Davis (1943)
K_2	207.6548	-11843.79	-33.6485	Harned and Scholes(1941)

さらにこの純水中での平衡定数から、海水における炭酸とホウ酸の見かけの平衡定数 K'_1 , K'_2 , K'_B を次の(2-24)式と Table 3 に示す係数より求めることができる(Mehrbach *et al.*, 1973)。なお、本研究では Lyman(1957)と Mehrbach *et al.*(1973)の値を用いた。

$$\ln K'_i = \ln K_i + (a_0 + a_1/T + a_2 \cdot \ln T) \cdot S^{1/2} + b_0 \cdot S \quad \dots\dots\dots (2-24)$$

Table 3. Parameters($a_0 \sim a_2$, b_0) for the temperature and salinity dependence of apparent constants(K'_i) in seawater

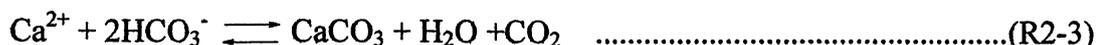
	a_0	a_1	a_2	b_0	Reference
K'_B	0.0473	49.10	0	0	Lyman(1957)
K'_1	0.0221	34.02	0	0	Mehrbach <i>et al.</i> (1973)
K'_2	0.9805	-92.65	0	-0.03294	Mehrbach <i>et al.</i> (1973)

2-6-4 サンゴ群体の炭素代謝量

本研究で、サンゴ群体の炭素代謝量とは、光合成量(総生産量(P_{gross}), 純生産量(P_{net})), 一日の呼吸量(R_{24h}), 石灰化量(G), 溶解量(D)のことを示す。これらの炭素代謝量は有機・無機炭素生産量の計算方法(Smith, 1973; Smith and Key, 1975)を基にして行う。したがって、まず無機炭素生産量と有機炭素生産量について説明した後、炭素代謝量の算出方法(Kinsey, 1983)について述べる。

(1) 無機炭素生産量の算出

無機炭素生産量(IP)は炭酸カルシウムの生成量のことであり、生成の反応式は一般に次式で表される。



CaCO_3 の生成と HCO_3^- の消費は炭素のモル比で 1 : 2 の割合であることから、無機炭素生産量(IP)は全アルカリ度の変化量の 1/2 で表すことができる。

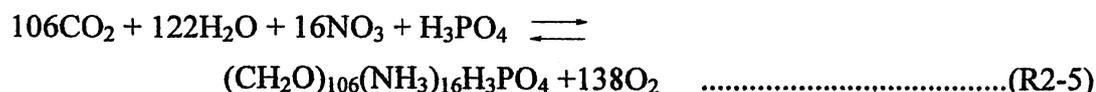
$$\text{IP} = -\Delta\text{TA}/2 \quad \dots\dots\dots(2-25)$$

(2) 有機炭素生産量の算出

有機炭素生産量(OP)は有機物の生成量のことであり、簡略化した生成の反応式は一般に次式で表される。



またはレッドフィールド比を用いると



で表される。 CO_2 の消費と CH_2O の生成は炭素モル比で 1 : 1 であることから、無機炭素の生産(R2-3 の反応)がなければ、有機炭素生産量(OP)は全炭酸の変化量のみで表すことができる。サンゴ礁では有機・無機炭素の生産が同時に起こっており、全炭酸の変化量から無機炭素生産量(IP)引いた残りが有機炭素生産量(OP)となる。

$$\text{OP} = -\Delta\text{C}_T - \text{IP} \quad \dots\dots\dots(2-26)$$

(3) 炭素代謝量の算出

サンゴの石灰化は光のある環境下で光合成と共に生じることが知られている(Chalker, 1983)。また, Fujimura *et al.*(2001)ではサンゴの飼育実験において夜間に溶解が生じていることを示唆している。このことから, 本研究では, 明飼育下における IP の値より石灰化量(G)を, 暗飼育下における IP の値より溶解量(D)を求めた。(2-25)式における全アルカリ度の変化量($\text{mmol l}^{-1} \text{min}^{-1}$)は本研究における全アルカリ度の E 値($\text{mmol l}^{-1} \text{min}^{-1}$)にほぼ相当する。全アルカリ度の明期と暗期のそれぞれの飼育下における E 値($E_{\text{TA}}^{\text{light}}$ および $E_{\text{TA}}^{\text{dark}}$)と(17)式を用いて 12 時間(720 分), 1m^2 あたりの石灰化量(G)と溶解量(D)を次の 2 つの式によりそれぞれ求めた。

$$G = -E_{\text{TA}}^{\text{light}} / 2 \times t^{\text{light}} / A \quad \dots\dots\dots (2-27)$$

$$D = -E_{\text{TA}}^{\text{dark}} / 2 \times t^{\text{dark}} / A \quad \dots\dots\dots (2-28)$$

ここで, t^{light} と t^{dark} はそれぞれ明期と暗期の飼育時間(720min), A はサンゴの表面積(占有面積)(m^2)である。また, 暗期は石灰化せず, 明期は溶解しないので, 12 時間あたりの石灰化と溶解量が結果として 1 日あたりの石灰化量となる。よって, G と D の単位は $\text{mmol m}^{-2} \text{d}^{-1}$ である。

明期の OP(OP^{light})と暗期の OP(OP^{dark})は(2-26)式と, 明暗期の全炭酸の E 値($E_{\text{CT}}^{\text{light}}$ と $E_{\text{CT}}^{\text{dark}}$)より, 次の 2 式で表される。

$$\text{OP}^{\text{light}} = -E_{\text{CT}}^{\text{light}} \times t^{\text{light}} / A - G \quad \dots\dots\dots (2-29)$$

$$\text{OP}^{\text{dark}} = -E_{\text{CT}}^{\text{dark}} \times t^{\text{dark}} / A - D \quad \dots\dots\dots (2-30)$$

サンゴは常に呼吸しているため, (2-29)式の OP^{light} は真の有機炭素生産量から呼吸に消費分を差し引いた見かけの有機炭素生産量である。真の生産量は呼吸によって消費された分の炭素を足したものである。これを総生産量(光合成量)(P_{gross})と呼び, 次式から求められる。

$$P_{\text{gross}} = \text{OP}^{\text{light}} + (-\text{OP}^{\text{dark}}) \quad \dots\dots\dots (2-31)$$

一日の呼吸量($R_{24\text{h}}$)は明期と暗期における呼吸量が同じであると仮定し, (2-30)式の暗飼育下における有機炭素生産量(OP^{dark})を 2 倍することにより求められる。

$$R_{24\text{h}} = -2 \text{OP}^{\text{dark}} \quad \dots\dots\dots (2-32)$$

また, 総生産量から一日の呼吸量を差し引いた残りの炭素が過剰に生産された有機炭素であり, これを純生産量(P_{net})と呼ぶ。

$$P_{\text{net}} = P_{\text{gross}} - R_{24\text{h}} \quad \dots\dots\dots (2-33)$$

これらの炭素代謝量は明暗合わせて 24 時間の間に生じた量であるため, 単位はいずれも $\text{mmol m}^{-2} \text{d}^{-1}$ である。

*サンゴの表面積の算出方法

サンゴの表面積は Marsh(1970)の方法により求めた。アルミホイルをサンゴの表面に重ならないようにかぶせ、その重量を測定する。同じアルミホイル 1 cm²の重量も測定し、サンゴに被せたアルミホイルの重量 / アルミホイル 1 cm²の重量よりサンゴの表面積(占有面積)とする。

2-6-5 炭酸カルシウムの飽和度

海洋の表層水は炭酸カルシウムに対して、過飽和な状態を保ち続けている。しかし、連続流水混合実験システムを用いた実験では、1日の pH の変動が大きく、夜間の pH の低下から考えると飽和度が未飽和となる可能性がある。

以下に飽和度の計算方法を述べる。

炭酸カルシウム(アラゴナイトまたはカルサイト)は海水中でカルシウムイオンと炭酸イオンの間で次の化学平衡関係にある。カルサイトは安定、アラゴナイトは準安定であるため、ここではアラゴナイトについての飽和度を算出する。



この式における Ca²⁺と CO₃²⁻の活量をそれぞれ a_{Ca²⁺}, a_{CO₃²⁻}とするとアラゴナイトに対する飽和度(Ω_{aragonite})は次の式で表される。

$$\Omega_{\text{aragonite}} = \frac{a_{\text{Ca}^{2+}} \cdot a_{\text{CO}_3^{2-}}}{K_{sp}^0} \quad \text{..... (2-34)}$$

ここで、K_{sp}⁰はアラゴナイトの熱力学的溶解度積である(Plummer and Busenberg, 1982)。この式は、次のように書くことができる。

$$\Omega_{\text{aragonite}} = \frac{{}^T\gamma_{\text{Ca}^{2+}} \cdot {}^T\gamma_{\text{CO}_3^{2-}} \cdot m_{\text{Ca}^{2+}} \cdot m_{\text{CO}_3^{2-}}}{K_{sp}^0} \quad \text{..... (2-35)}$$

ここで、^Tγは全濃度に対する活量係数を示す。

Mucci (1983) は Ca²⁺と CO₃²⁻の全濃度に対する活量係数の積(^Tγ_{Ca²⁺}・^Tγ_{CO₃²⁻})を次式のように溶解度積と塩分の関数として示した。

$${}^T\gamma_{\text{Ca}^{2+}} \cdot {}^T\gamma_{\text{CO}_3^{2-}} = K_{sp}^0 / K_{sp}^* \times (1 - S/1000)^2 \quad \text{..... (2-36)}$$

ここで、K_{sp}^{*}は後述する化学量論的溶解度積である。

m_{Ca²⁺}は塩分の関数として、

$$m_{\text{Ca}^{2+}} = 0.01028 \times S/35 \quad \text{..... (2-37)}$$

m_{CO₃²⁻}は次式により求めることができる。

$$m_{CO_3^{2-}} = \frac{A_C \cdot K'_2}{a_{H^+} + 2K'_2} \dots\dots\dots (2-38)$$

ここで、CAは炭酸アルカリ度、K₂'は見かけの炭酸の第2平衡定数であり、CAは次式より求めることができる。

$$CA = TA - m_{B(OH)_4^-} \dots\dots\dots (2-39)$$

TAは全アルカリ度、m_{B(OH)₄⁻}はホウ酸イオンの当量数である。
m_{B(OH)₄⁻}は次式より求めることができる。

$$m_{B(OH)_4^-} = \frac{K'_B \cdot 1.212 \times 10^{-5} S}{K'_B + a_{H^+}} \dots\dots\dots (2-40)$$

イオン活量積と熱力学的溶解度積を用い飽和度を算出する式(2-35)は活量係数やイオン対の割合などを考慮しなければならず、使用する係数や割合などにより飽和度が変わる。これらのことを考慮せずに飽和度の計算を行う方法として、Ca²⁺とCO₃²⁻のイオン濃度積と見かけの溶解度積または化学量論的溶解度積を使用する方法がある。

$$\Omega_{aragonite} = \frac{m_{Ca^{2+}} \cdot m_{CO_3^{2-}}}{K^*_{sp}} \dots\dots\dots (2-41)$$

ここでK^{*}_{sp}は実験的に炭酸カルシウムを飽和させて求めた海水の飽和濃度積である、塩分と温度の関数として求めることができる(Mucci, 1983)。

純水中におけるアラゴナイトの飽和濃度積 K⁰_{sp} は次の(2-42)式から求めることができる(Plummer and Busenberg, 1982)。

$$\log K^0_{sp} = A + BT + C/T + D \log T + E/T^2 \dots\dots\dots (2-42)$$

$$A=-171.945, B=-0.077993, C=2903.293, D=71.595, E=0$$

さらにこの純水中での飽和濃度積から、海水におけるアラゴナイトの飽和濃度積 K^{*}_{sp} を次の(2-43)式より求めることができる(Mucci, 1983)。

$$\log K^*_{sp} = \log K^0_{sp} + (b_0 + b_1T + b_2/T)S^{1/2} + C_0S + d_0S^{3/2} \dots\dots\dots (2-43)$$

$$b_0=-0.068393, b_1=0.0017276, b_2=88.135, C_0=-0.10018, d_0=0.0059415$$

2-7 統計処理

本研究では、光合成、呼吸、石灰化の結果を統計学的に比較するために統計学的処理を行った。

まず、過酸化水素という要因が光合成等サンゴの代謝に影響しているかを調

べるために、一元配置分散分析(One-way ANOVA)を試みた。一元分散分析を行うにあたり、データが正規分布していること、各群(ここでは過酸化水素濃度 0, 300, 3000, 30000 nM の 4 群)が等分散であることが前提である。よって、まず正規分布しているか確認するために統計ソフト「猫一」の素分布検定を行った。これにより全ての実験において正規分布が確認されたため、次に一元配置分散分析を行った。これと同時に各群の等分散性も同時に確認できる。分散分析で 3 つ以上の平均の差を検定した場合には、検出されるのはあくまで「どれかの平均とどれかの平均の間に有意差がある」ということである。つまり、どの平均とどの平均の間に有意差がなかった・あったということはわからない。よって、平均値の多重比較を用いてそれぞれの群を比較する必要がある。本研究では平均値の多重比較に、Tukey の多重比較法を用いた。これら、統計学の理論については付録として巻末に示した。

1-3 結果と考察

3-1 過酸化水素無添加実験

過酸化水素無添加実験には3群体のサンゴを用いた。Marsh (1970)の方法により求めた3群体それぞれの表面積は 35.4 ± 0.7 , 45.8 ± 1.8 , $29.5 \pm 1.3 \text{ cm}^2$ であった。

3-1-1 pHの変動

過酸化水素無添加実験におけるpHの変動をFig. 6-aに示す。pHは、明期(7:00-19:00)に増加し、暗期(19:00-7:00)に減少という日変動を繰り返した。pHの一日の変動幅は約0.5-1.0で、大きい群体ほど変動幅が大きかった。変動幅の違いは、サンゴの大きさや飼育ビンの容量で決まる。飼育ビンの実験を通じて同じ大きさのものを使用しており、変動幅の違いはサンゴ群体の大きさによるものである。渡慶次(2004)によると、瀬底島海域のpHの一日の変動幅は約0.2-0.3である。本研究での飼育実験時のpHの変動は瀬底島海域のpHの変動よりやや大きかった。1日のうちでpHの最大値は明期から暗期に切り替わる19:00、最小値は暗期から明期に切り替わる7:00に記録された。過酸化水素無添加実験では、12日間を通して一日の変動幅が大きく変わることはなかった。供給海水のpHはそれぞれ、8.13-8.15, 8.06-8.04, 7.89-7.94であった。

サンゴ群体では、式(R2-4)のように、生物活動としての呼吸によって二酸化炭素を放出し、共生藻である褐虫藻の光合成により二酸化炭素を吸収する。また、サンゴが石灰化を行う際においても、式(R2-3)のように、二酸化炭素を放出する。

明期では、呼吸・石灰化による二酸化炭素の放出よりも光合成による二酸化炭素の吸収が大きいため、海水中の二酸化炭素が消費され、pHの上昇が見られたと考えられる。一方、暗期では、石灰化はほとんど行われませんが、光合成も行われず。よって、呼吸により放出された二酸化炭素が海水中に溶け込み、pHが低下したと考えられる。

3-1-2 全アルカリ度の変動

過酸化水素無添加実験における全アルカリ度の変動をFig. 7-aに示す。●や▲、◆などポイントは実測値、実線は実測値と式(2-9),(2-20)を用いて計算した計算値を示す。実測値と計算値はほぼ等しいことから、この計算値は妥当であると言える。全アルカリ度は、明期(7:00-19:00)に減少し、暗期(19:00-7:00)に増加するという、日変動を繰り返していた。一日の変動幅は $0.2-0.6 \text{ mmol l}^{-1}$ であった。変動幅の違いは、pHの変動幅同様サンゴの大きさにより、大きい群体ほど変動幅が大きかった。また、供給海水のアルカリ度はそれぞれ、2.37-2.38,

2.35-2.36, 2.41-2.39 mmol l⁻¹であった。実測値と式(2-20)より、E 値を求めると Fig.8-a のようになった。基本的に明期にマイナスの値が大きく、暗期は値が 0 に近かった。

サンゴは石灰化の際、式(R2-3)のように HCO₃⁻を消費する。つまり、サンゴが石灰化を行うと、その分全アルカリ度が減少することになる。アルカリ度の E 値がマイナスのとき、サンゴは石灰化を行い、E 値がプラスのとき、サンゴは溶解している。Chalker (1983)によると、サンゴの石灰化は光のある環境化で光合成と共に生じる。明期にアルカリ度が大きく減少するのはサンゴが石灰化を行っているからである。逆に、暗期には E 値が小さいためサンゴがアルカリ度に及ぼす影響は小さい。よって、飼育ビン内の海水が供給海水に徐々に希釈される。暗期にアルカリ度が増加するのは、供給海水の希釈によるものである。また、サンゴの骨格である炭酸カルシウムが溶解した場合もアルカリ度は増加するが、E 値は夜間もわずかにマイナスであったため、これによる影響はないと言える。

3-1-3 溶存酸素の変動

過酸化水素無添加実験における溶存酸素の変動を Fig.9-a に示す。溶存酸素は、明期 (7:00-19:00) に増加し、暗期 (19:00-7:00) に減少という日変動を繰り返していた。大きい群体ほど変動幅が大きく、12 日間の実験を通して変動幅に大きな変化は見られなかった。溶存酸素は(R2-4)の光合成・呼吸の反応を顕著に示す。溶存酸素の変動幅に変化がなかったことは光合成・呼吸に大きな変化がなかったことが考えられる。

3-1-4 全炭酸の変動

過酸化水素無添加実験における全炭酸を式(2-22)より算出し Fig. 10-a に示す。全炭酸は、明期 (7:00-19:00) に減少し、暗期 (19:00-7:00) に増加するという、日変動を繰り返していた。大きい群体ほど変動幅が大きかった。また、供給海水の全炭酸はそれぞれ、2.04-2.03, 2.06-2.07, 2.23-2.20 mmol kg⁻¹であった。さらに、式(2-21)より、E 値を求めると Fig. 11-a のようになった。

全炭酸の E 値は明期にマイナス、暗期にプラスであり、明期の値のほうが大きかった。本実験システムでは流水モデルを採用しているため、明期と暗期におけるサンゴによる収支が等しくなくても、新たな海水の供給によって、不足分は補われ、過剰分は取り除かれる。明期は光合成の影響を強く受け、暗期は呼吸の影響を強く受けこのような結果になったと考えられる。

3-1-5 無機炭素生産量の変動

全アルカリ度の E 値を用いて計算した無機炭素生産量の変動を Fig. 12-a に示す。さらに3日ごとに平均をとり、プロットすると Fig. 13-a のようになる。

サンゴ群体間に群体差は見られたものの、それぞれの群体において、実験を行った12日間で石灰化量、溶解量はほとんど変化しなかった。これより、過酸化水素を添加しなければ、石灰化、溶解など無機炭素生産量は変化しないことが示された。夜間の溶解はややマイナスであり、つまり夜間もわずかだが石灰化していることがわかった。樋口(2004)においても *Goniastrea aspera* による夜間の石灰化が確認されている。よって、*Goniastrea aspera* はストレスのない状態では、夜間でもわずかに石灰化していることがわかった。Ohde and Hossain(2004)によると、炭酸カルシウム(アラゴナイト)の飽和度が高いと、造礁サンゴ *Porites* は夜間も石灰化を行うことが示されている。本研究では、昼間光合成の影響により pH が増加し、炭酸カルシウム(アラゴナイト)の飽和度が増加したため、夜間の石灰化が確認されたと考えられる。

3-1-6 有機炭素生産量の変動

全炭酸の E 値に無機炭素生産量を考慮し計算した有機炭素生産量の変動を Fig. 14-a に示す。さらに3日ごとに平均をとり、プロットすると Fig. 15-a のようになる。こちらも、サンゴ群体間に群体差は見られたものの、それぞれの群体において、実験を行った12日間で光合成、呼吸はほとんど変化しなかった。これより、過酸化水素を添加しなければ、光合成、呼吸など有機炭素生産量は変化しないことが示された。

3-1-7 過酸化水素無添加実験のまとめ

過酸化水素無添加実験で用いた供給海水の pH, 全アルカリ度, 全炭酸, 塩分を Table 4 に示す。供給海水の濃度はサンゴの影響を受けた海水に比べるとほとんど変化がないと言える。

過酸化水素無添加実験で得られた光合成、呼吸、石灰化の3日ごとの平均値を Table 6 に示す。これら平均値を、多重比較した結果を Table 9, 11, 13 に示す。光合成、呼吸、石灰化それぞれにおいて、3日ごとの平均値には統計学的に有意な差は見られなかった。よって、光合成、呼吸、石灰化など無機炭素生産量および有機炭素生産量は群体差が見られるものの、12日間を通してほとんど変化しなかったと言える。

よって、本研究のように、海水と人工の塩化ナトリウム溶液の混合溶液でサンゴを飼育した場合においても、飼育条件が実験を通じて一定であれば、サンゴの代謝に大きな変化がないことが確認された。さらに、連続流水混合実験シ

ステムを用いると、少なくとも12日間はサンゴにストレスを与えず、代謝量を定量的に求めることが可能であることがわかった。

3-2 過酸化水素添加実験

過酸化水素無添加実験同様，過酸化水素添加実験には3群体のサンゴを用いた。3群体それぞれの表面積は 55.0 ± 0.7 , 36.6 ± 1.3 , $44.3 \pm 0.6 \text{ cm}^2$ であった。

また，過酸化水素濃度の上昇が，測定項目であるpHやアルカリ度に影響を及ぼさないか確認するためにサンゴを入れずに同様の実験を行った。

3-2-1 pHの変動

過酸化水素添加実験におけるpHの変動をFig. 6-bに示す。過酸化水素無添加実験同様，明期(7:00-19:00)に増加し，暗期(19:00-7:00)に減少という日変動を繰り返していた。pHの一日の変動幅は約0.5-0.8であった。添加した過酸化水素濃度の上昇に伴い変動幅が小さくなっていた。また，供給海水のpHはそれぞれ，8.08-8.06, 8.08-8.07, 8.17-8.13であった。

pHの上昇及び低下の要因は過酸化水素無添加実験の時と同様，光合成や呼吸，石灰化によるものだと考えられるが，変動幅が小さくなるのは光合成能力の低下や，石灰化能力の低下が原因であると考えられる。よって，過酸化水素濃度の増加に伴いサンゴの生体に影響がでていけると言える。水槽にサンゴを入れずに行った実験において，pHはほとんど一定であった。したがって，実験に使用した程度の過酸化水素濃度の増加ではpH値には影響しないことが実証された。

3-2-2 全アルカリ度の変動

過酸化水素添加実験における全アルカリ度の変動をFig. 7-bに示す。過酸化水素無添加実験同様，●や▲，◆などポイントは実測値，実線は実測値と式(2-9),(2-20)を用いて計算した計算値を示す。こちらも実測値と計算値はほぼ等しいことから，この計算値は妥当であると言える。全アルカリ度は，過酸化水素無添加実験同様，明期(7:00-19:00)に減少し，暗期(19:00-7:00)に増加するという，日変動を繰り返していた。一日の変動幅は約0.2-0.5 mmol l⁻¹であった。また，供給海水のアルカリ度はそれぞれ，2.29-2.30, 2.38-2.39, 2.39-2.41 mmol l⁻¹であった。測定値と式(2-20)より，E値を求めるとFig. 8-bのようになった。

全アルカリ度についても上昇及び低下の要因は過酸化水素無添加実験の時と同様，昼間の石灰化や夜間の溶液の希釈によるものだと考えられるが，過酸化水素濃度が増加するにつれてサンゴによる影響 $E_{\text{Alkalinity}}$ が小さくなるのは石灰化能力の低下が原因であると考えられる。よって，過酸化水素濃度の増加に伴い石灰化能力に影響がでていけると言える。

水槽にサンゴを入れないで行った実験において，全アルカリ度はほとんど一定であった。これより，過酸化水素が化学反応により，直接全アルカリ度に影

響しないことが証明された。

3-2-3 溶存酸素の変動

過酸化水素添加実験における溶存酸素の変動を Fig. 9-b に示す。溶存酸素は、明期 (7:00-19:00) に増加し、暗期 (19:00-7:00) に減少という日変動を繰り返していたが、添加した過酸化水素濃度の増加に伴い変動幅が小さくなっていた。変動幅の縮小は光合成・呼吸の低下を示し、過酸化水素の増加による、光合成能力の低下が示唆された。

3-2-4 全炭酸の変動

過酸化水素添加実験における全炭酸を式(2-22)より算出し Fig. 10-b に示す。全炭酸は、明期 (7:00-19:00) に減少し、暗期 (19:00-7:00) に増加するという、日変動を繰り返していた。また、供給海水の全炭酸はそれぞれ、1.99-2.01, 2.07-2.09, 2.03-2.07 mmol kg⁻¹であった。さらに、式(2-21)より、E 値を求めると Fig. 11-b のようになった。

全炭酸の E 値は明期にマイナス、暗期にプラスであり、過酸化水素濃度増加につれて徐々に値が小さくなっていた。E 値が小さくなるということはサンゴの代謝が小さくなっているということである。つまり、過酸化水素の増加がサンゴの代謝に影響していることが示唆された。

3-2-5 無機炭素生産量の変動

全アルカリ度の E 値を用いて計算した無機炭素生産量の変動を Fig. 12-b に示す。さらに3日ごとに平均をとり、プロットすると Fig. 13-b のようになる。

サンゴ群体間に群体差は見られたものの、それぞれの群体において、過酸化水素の上昇に伴い石灰化量の減少がはっきりと見られた。よって、過酸化水素がサンゴにストレスとなり、サンゴの石灰化機構に支障を与え、石灰化の阻害が起こった可能性がある。一方、暗期の溶解はほとんど見られず、暗期の代謝量の変化はあまりなかった。

3-2-6 有機炭素生産量の変動

全炭酸の E 値に無機炭素生産量を考慮し計算した有機炭素生産量の変動を Fig. 14-b に示す。さらに3日ごとに平均をとり、プロットすると Fig. 15-b のようになる。サンゴ群体間に群体差は見られたものの、それぞれの群体において、過酸化水素の上昇に伴い光合成量の減少がはっきりと見られた。呼吸量については各群体変動が異なり、減少も増加も見られた。平均値と標準偏差について

もばらつきが大きかった。純生産量は過酸化水素濃度が増加するにつれて徐々に減少し、過酸化水素 30000 nM 添加時でマイナスの値を示した。

また、光合成 / 呼吸比($P_{\text{gross}} / R_{24\text{h}}$ 比)を Fig. 16 に示す。 $P_{\text{gross}} / R_{24\text{h}}$ 比は、過酸化水素の増加にともない、大きく減少した。 $P_{\text{gross}} / R_{24\text{h}}$ 比の減少に群体差はあるものの、過酸化水素 30000 nM 添加時では、3 群体とも比が 1 を下回っていた。呼吸量の変化はそれほど大きくなかったため、 $P_{\text{gross}} / R_{24\text{h}}$ 比の減少には、呼吸の増加よりも光合成の減少の影響が顕著であったことが考えられる。 $P_{\text{gross}} / R_{24\text{h}}$ 比が 1 より高ければ、独自で栄養を供給できる独立栄養系であり、1 を下回れば、他の生物より栄養を供給しないと見えない従属栄養系であると言える。つまり、本実験において、過酸化水素濃度が 3000 nM までは、サンゴ群体は、独立栄養系であったが、過酸化水素 30000 nM では従属栄養系に変化したことになる。

3-2-7 過酸化水素添加実験のまとめ

過酸化水素添加実験で用いた供給海水の pH, 全アルカリ度, 全炭酸, 塩分を Table 5 に示す。供給海水の濃度はサンゴの影響を受けた海水に比べるとほとんど変化がないと言える。

過酸化水素添加実験で得られた光合成, 呼吸, 石灰化の 3 日ごとの平均値を Table 7 に示す。これら平均値を、一元配置分散分析にかけると、3 群体ともに光合成, 石灰化の分散に有意な差が見られた($P < 0.01$)。これにより、過酸化水素はサンゴ群体による光合成, 石灰化量を変動させる要因であることが証明された。

さらに、各平均値を多重比較した結果を Table 10, 12, 14 に示す。光合成については、3 群体ともに、0 nM の平均値と 3000, 30000 nM の平均値に有意な差 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)が見られた。呼吸については、3 群体ともに、3 日ごとの平均値には有意な差は見られなかった。石灰化については、3 群体ともに、0 nM と 30000 nM の平均値 ($p < 0.01$), 300 nM と 30000 nM の平均値 ($p < 0.01$), 3000 nM と 30000 nM の平均値 ($p < 0.05$)に有意な差が見られた。光合成で有意な差が見られた 0 nM と 3000 nM の平均値においては、どの群体も有意な差は見られなかった。また、光合成と石灰化の関係について Fig. 17 に示す。サンゴ群体による光合成と石灰化の間に相関関係が見られた ($R = 0.71$, $n = 36$)。この事より、光合成が減少した際、石灰化も減少していることが示された。日高(2002)によると、褐虫藻の存在はサンゴの石灰化過程を促進することが示唆されている。また、Gattuso *et al.*(1999)によっても、光合成量と石灰化量は強い相関関係にあることが示唆されている。つまり、褐虫藻による光合成が行われないと、サンゴは石灰化を阻

害する可能性がある。これより、過酸化水素の増加により、まず光合成を行う褐虫藻がダメージを受け、その後、サンゴが石灰化できなくなった可能性が考えられる。光合成 / 石灰化比(P_{gross} / C 比)の変動を Fig. 18 に示す。 P_{gross} / C 比は過酸化水素 3000 nM 添加時まで、徐々に減少し、過酸化水素 30000 nM 添加時で、大きく増加した。 P_{gross} / C 比が徐々に減少したのは、石灰化の減少量に対して光合成の減少量がやや大きかったことにより、石灰化量に対する光合成量が小さくなったと考えられる。過酸化水素 30000 nM 添加時に P_{gross} / C 比が大きく増加したのは、光合成の減少量に対して石灰化の減少量が大きくなったため、石灰化に対する光合成が大きくなったことが考えられる。30000 nM 添加時では、褐虫藻の光合成産物の供給が少なくなり、サンゴによる石灰化が極端に減少したことが示唆された。

Table 8 に過酸化水素濃度と光合成、呼吸、石灰化の平均値の関係について示す。過酸化水素 30000 nM 添加時で、光合成が 18.2-47.9%の減少、石灰化が 22.1-52.0%減少した。これらは統計学的にも有意な差であった。Fujimura *et al.* (Submitted) では、高温ストレスを与えると、*Goniastrea aspera* による光合成が 28 %、石灰化が 72 %減少した。これより、白化の主原因である高温ストレスと同様、過酸化水素がサンゴの代謝に与える影響はかなり大きいと考えられる。サンゴ白化の酸化理論(Downs *et al.*, 2002)によると、共生藻内で発生した過酸化水素は葉緑体膜を通り抜け、サンゴの組織内にある鉄と反応し、OH ラジカルを生成する。体内で生成した過酸化水素ではなく外からの進入による過酸化水素であっても体内中の鉄と反応し OH ラジカルを生成すると考えられる。もし、サンゴの体内にまで、海水中の過酸化水素が到達するならば、鉄との反応により、OH ラジカルが生成し、反応性の高いラジカルが体内の光合成器官や石灰化器官に影響する可能性がある。不安定な電荷を持つ活性酸素は光合成系 II に障害を与え光合成を阻害する(Lesser, 1997)。よって、外部からの体内への過酸化水素の進入により生成したラジカルが光合成系に障害を与え、光合成を阻害していることも考えられる。

各群体 0 nM と 300 nM の光合成・呼吸・石灰化の平均値に有意な差が見られなかった。現在の沖縄本島周辺海域における過酸化水素濃度は最大で 300 nM 程度である。本研究で行った 3 日間の暴露実験では、過酸化水素がサンゴに及ぼす影響は小さい。しかし、長期間による影響や、300 nM 以上過酸化水素濃度が上昇した場合、サンゴの生育に大きく影響する可能性が高いと言える。Nakamura and Van Woesik(2001)は、流れが強いところでは白化が起こりにくいとされている。流れが強いと海水の滞留時間が短く過酸化水素の濃度上昇が起こりにくくなることが考えられる。これがサンゴ白化の起こりにくい理由のひとつ

になっているかもしれない。Orr *et al.*(2005)は将来二酸化炭素の増加で海水が酸性化され、サンゴ礁の形成に大きく関わるとしている。中島ら(2004)によると、現在、沖縄沿岸域の過酸化水素濃度は赤土汚染海域中心に増加しつつある。今後、オゾン層が薄くなり、地上への紫外線の到達量が増加すると、さらに多くの過酸化水素が光生成する可能性も示唆されている。過酸化水素濃度の減少に最も影響を及ぼすのは、鉛直方向にある海水との混合だと考えられている (Johnson *et al.*, 1989; Sarthou *et al.*, 1997)。しかし、比較的浅海域であるサンゴ礁では鉛直方向の海水との混合が起こりづらいため、増加した過酸化水素が減少せず、停滞する可能性がある。光合成や石灰化の阻害は、サンゴ礁の生産力やサンゴ礁の形成に大きく関わる可能性が高いので、二酸化炭素変動同様、今後の過酸化水素濃度の変動に注目する必要がある。

3-3 実験溶液の炭酸カルシウム(アラゴナイト)に対する飽和度

3-3-1 過酸化水素無添加実験

過酸化水素無添加実験における炭酸カルシウム(アラゴナイト)の飽和度の変動を Fig. 16-a に示す。暗期になると、pH の減少とともに、急激に炭酸カルシウムの飽和度が低下していた。Colony 1 と 3 においては炭酸カルシウムが未飽和状態になる飽和度 1 を下回ることはなかったが、Colony 2 では飽和度が 1 を下回り、数時間未飽和の状態であった。大きいサンゴ群体を用いたときほどサンゴが海水の水質に与える影響が強くなり、pH 等の変動が大きくなる。これが原因で未飽和の状態になることが考えられる。

3-3-2 過酸化水素添加実験

過酸化水素添加実験における炭酸カルシウム(アラゴナイト)の飽和度の変動を Fig. 16-b に示す。過酸化水素無添加実験同様、暗期になると、pH の減少とともに、急激に炭酸カルシウムの飽和度が低下していた。Colony 2 においては炭酸カルシウムが未飽和状態になる飽和度 1 を下回ることはなかったが、Colony 1 と 3 では飽和度が 1 を下回り、数時間未飽和の状態であった。

3-3-3 炭酸カルシウム(アラゴナイト)に対する飽和度のまとめ

Orr *et al.* (2005) は、翼足類 *Clio pyramidata* を炭酸カルシウムの飽和度が 1 を下回った未飽和状態で 48 時間暴露すると、*Clio pyramidata* の持つ炭酸カルシウムの殻が溶解してしまうことを示唆している。

本研究では、炭酸カルシウム(アラゴナイト)が物理化学的に未飽和状態の時間帯が数時間あった。ただし、数時間未飽和になった過酸化水素無添加実験の Colony 2 を見ると、有機炭素生産・無機炭素生産に大きな減少は見られなかった。つまり、溶液が炭酸カルシウム(アラゴナイト)に対して未飽和になったことは、有機炭素生産・無機炭素生産に大きな影響を与えてはいない。よって、過酸化水素添加実験の Colony 1 と 3 で、炭酸カルシウムが未飽和の状態になってはいるが、炭酸カルシウムの飽和度がサンゴの代謝に与える影響は小さいと考えられる。これより、過酸化水素添加実験におけるサンゴの代謝変動は、過酸化水素濃度の増加が要因によるサンゴの代謝変動であると考えてよい。

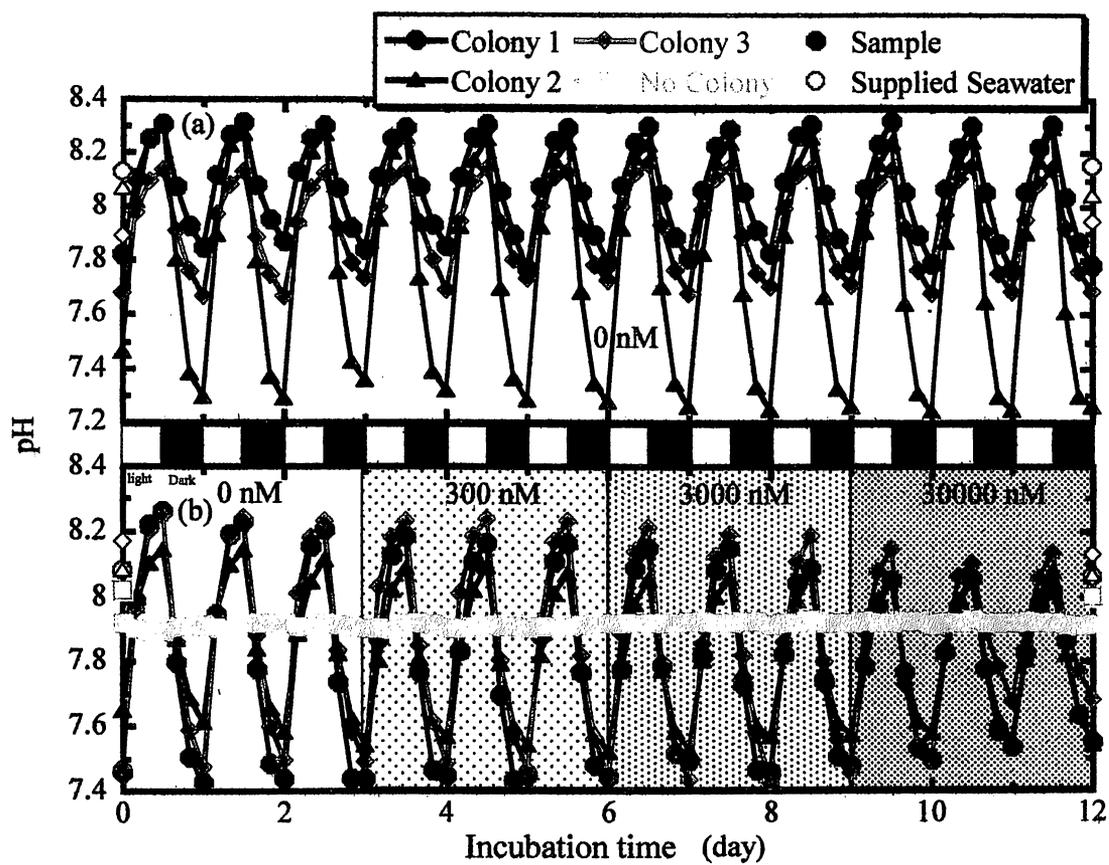


Fig. 6 Variation of pH
 (a) no addition of hydrogen peroxide
 (b) addition of various hydrogen peroxide concentrations

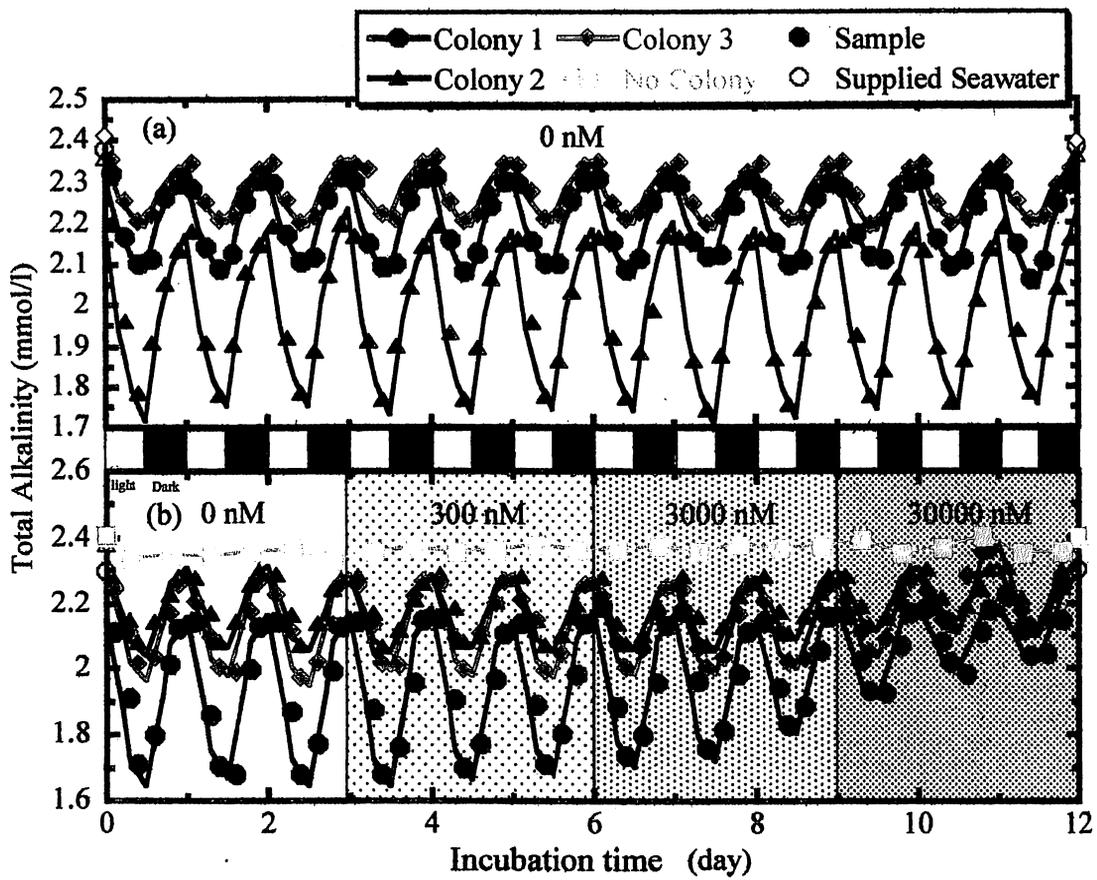


Fig. 7 Variation of total alkalinity
 (a) no addition of hydrogen peroxide
 (b) addition of various hydrogen peroxide concentrations

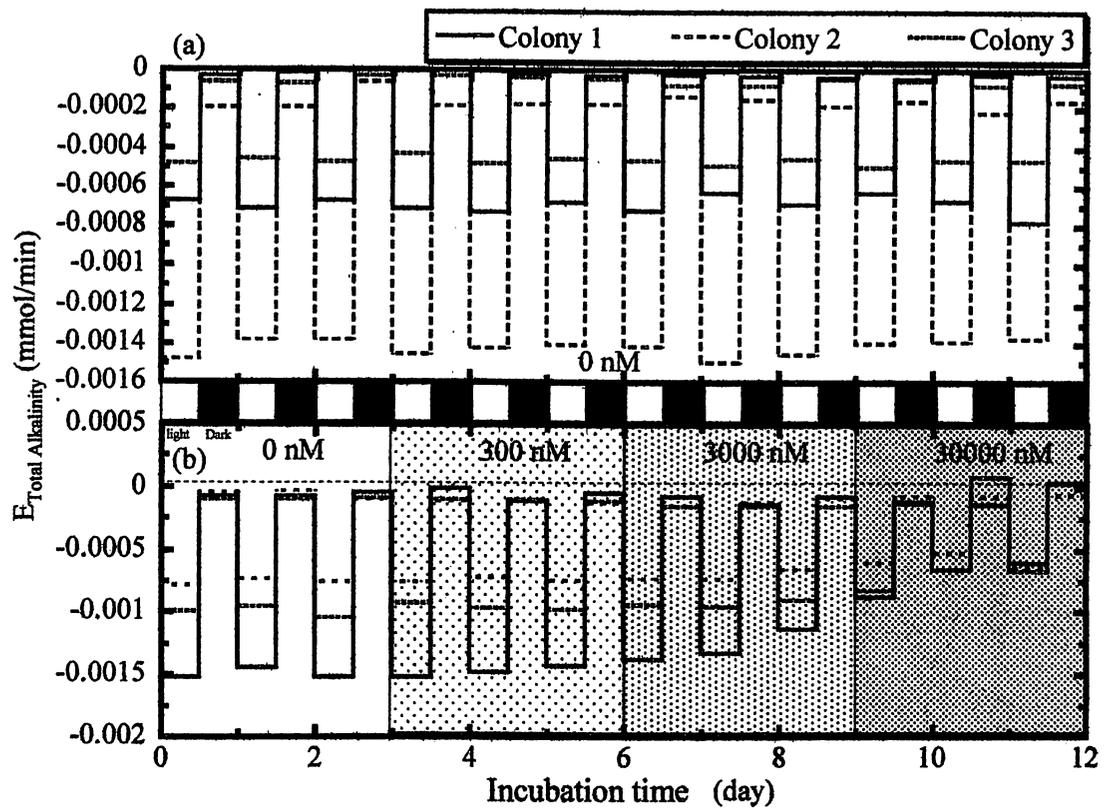


Fig. 8 Variation of $E_{\text{Total Alkalinity}}$
 (a) no addition of hydrogen peroxide
 (b) addition of various hydrogen peroxide concentrations

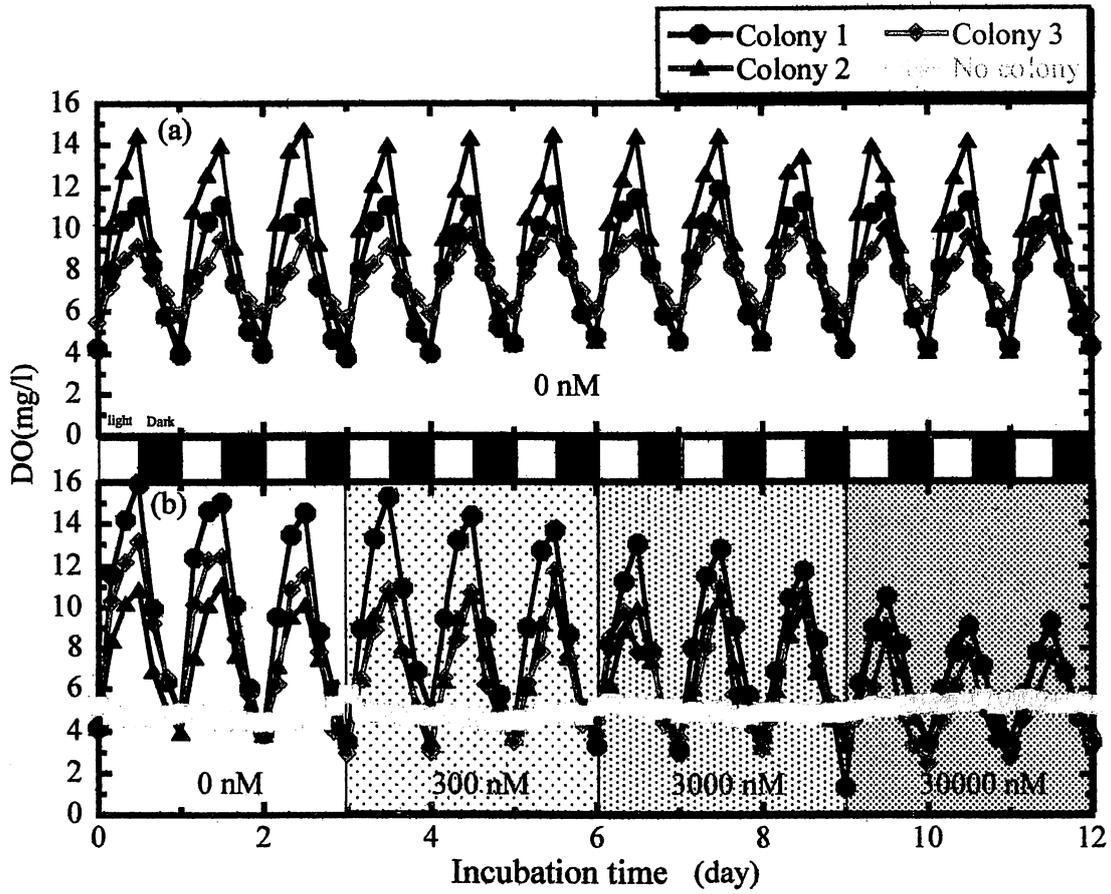


Fig.9 Variation of dissolved oxygen(DO)

(a) no addition of hydrogen peroxide

(b) addition of various hydrogen peroxide concentrations

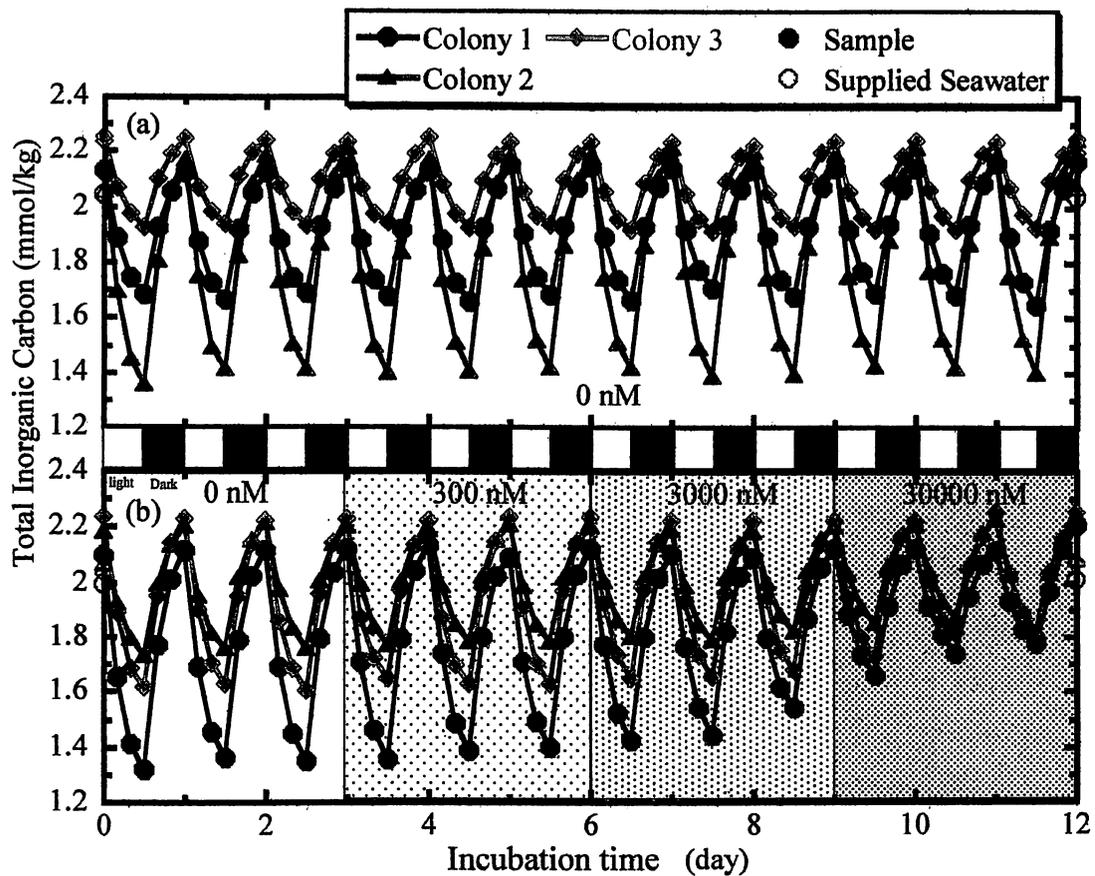


Fig. 10 Variation of total inorganic carbon
 (a) no addition of hydrogen peroxide
 (b) addition of various hydrogen peroxide concentrations

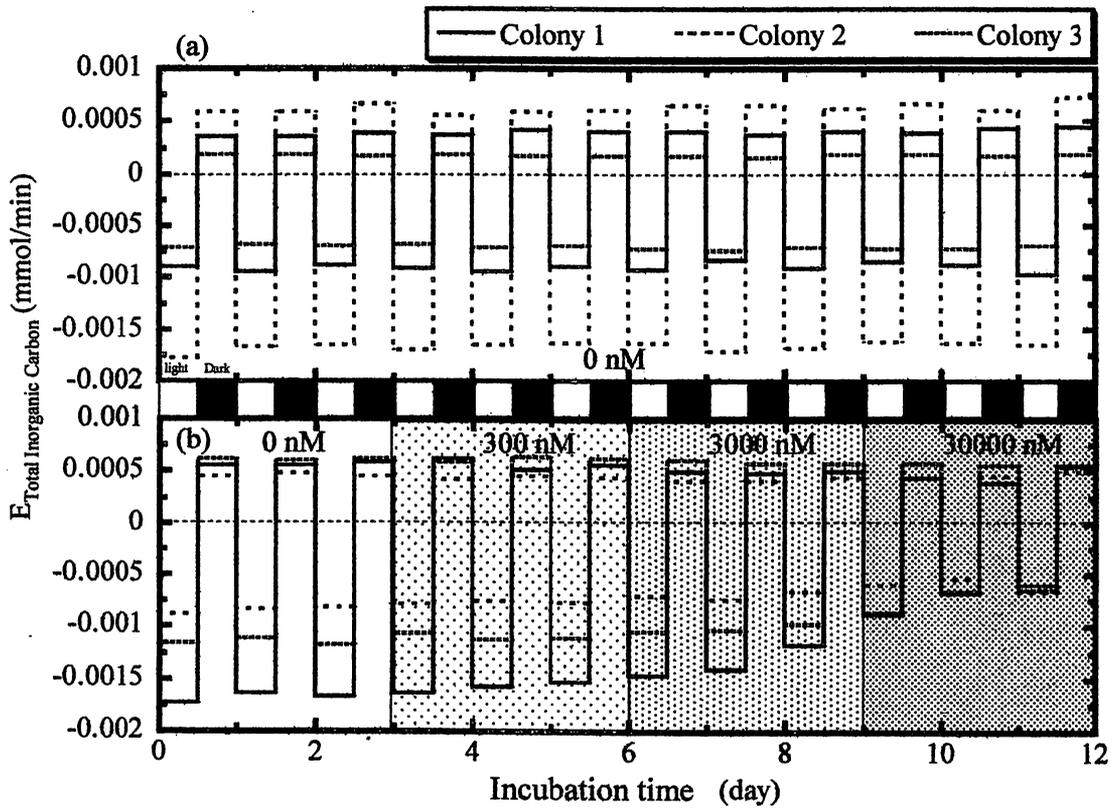


Fig. 11 Variation of $E_{\text{Total Inorganic Carbon}}$
 (a) no addition of hydrogen peroxide
 (b) addition of various hydrogen peroxide concentrations

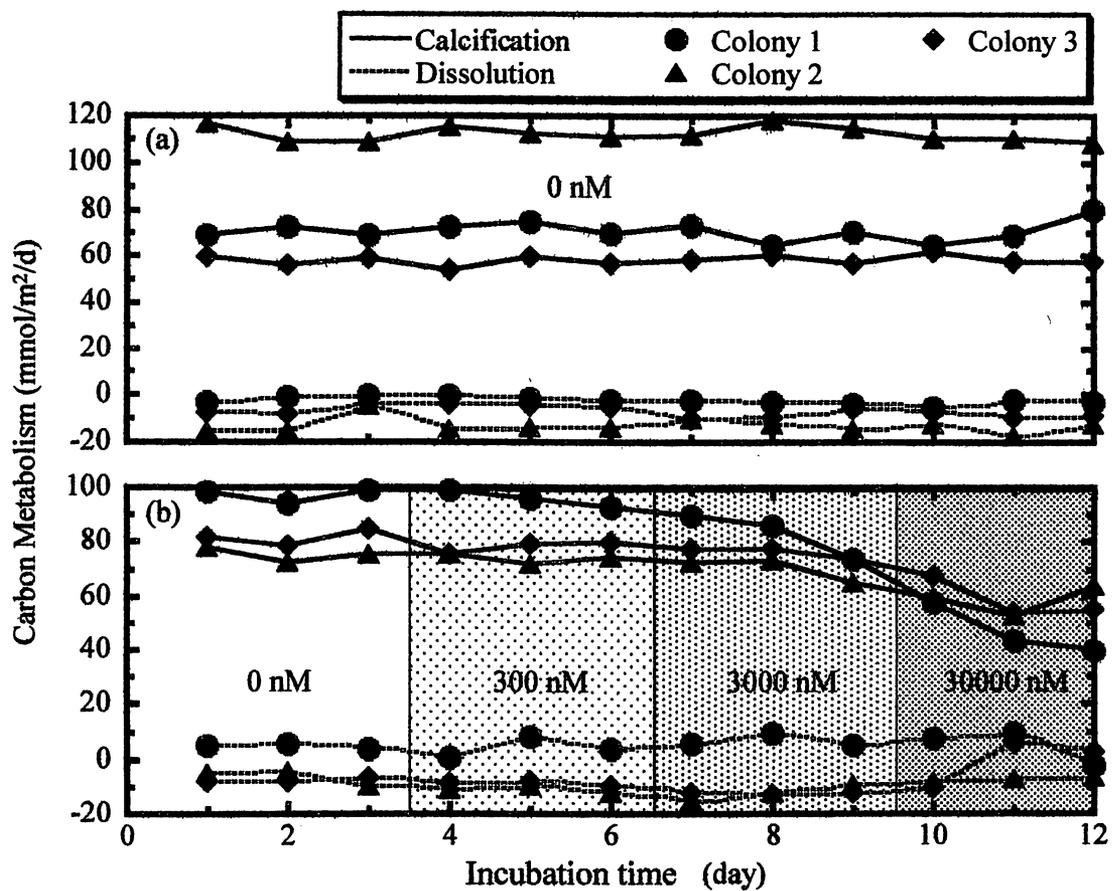


Fig. 12 Variation of inorganic carbon metabolism
 (a) no addition of hydrogen peroxide
 (b) addition of various hydrogen peroxide concentrations

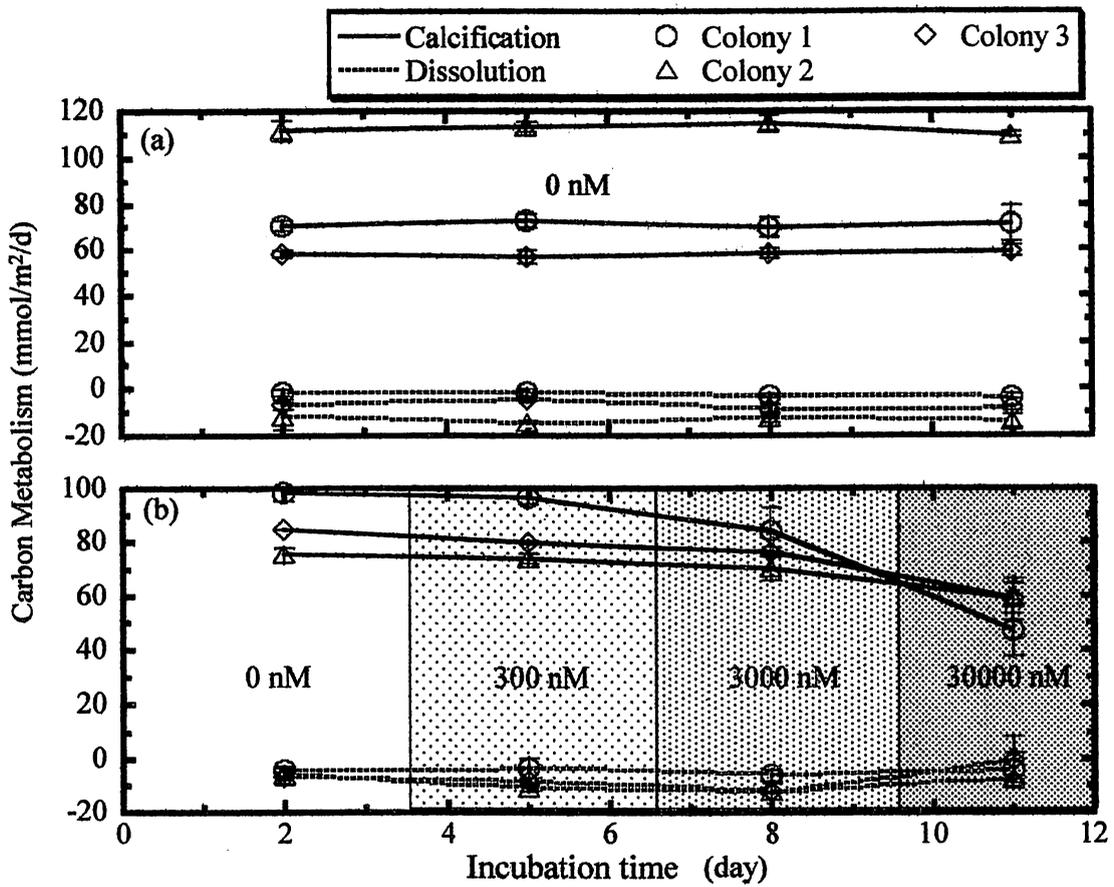


Fig. 13 Variation of inorganic carbon metabolism (average and standard deviation for 3 days each)
 (a) no addition of hydrogen peroxide
 (b) addition of various hydrogen peroxide concentrations

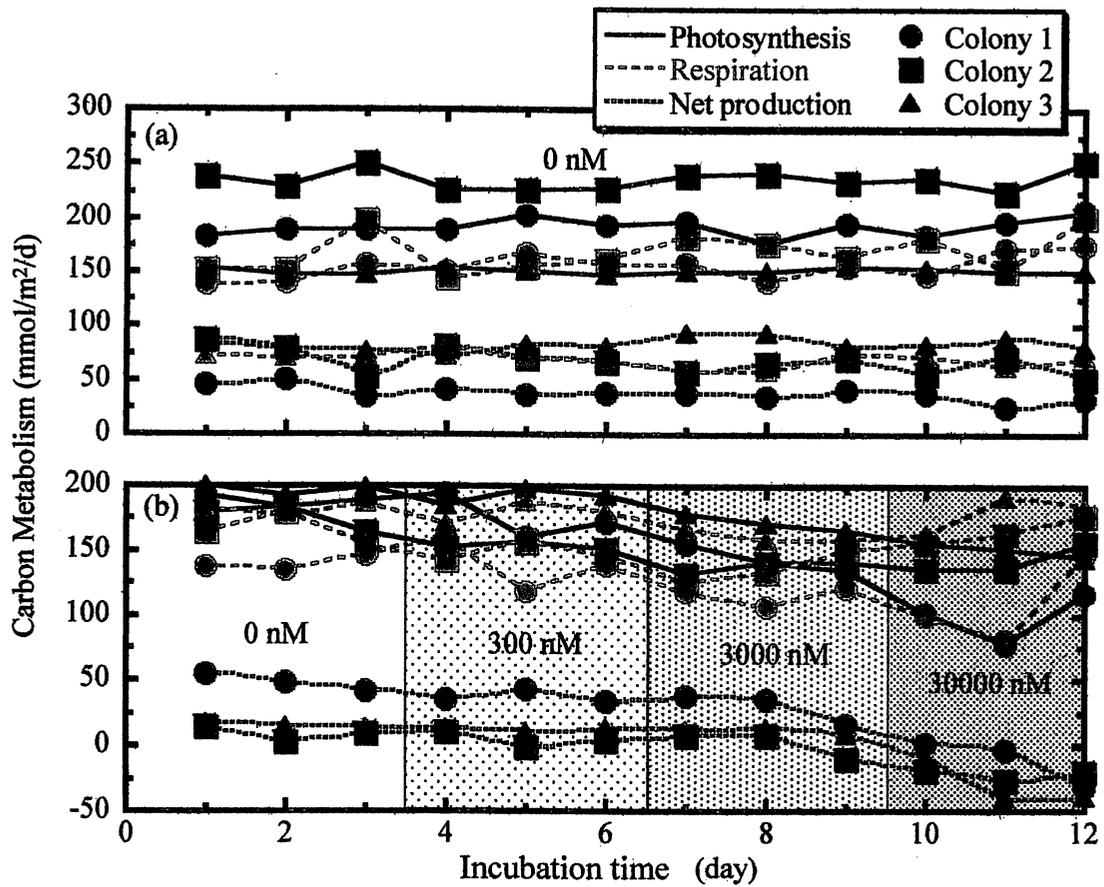


Fig. 14 Variation of organic carbon metabolism
 (a) no addition of hydrogen peroxide
 (b) addition of various hydrogen peroxide concentrations

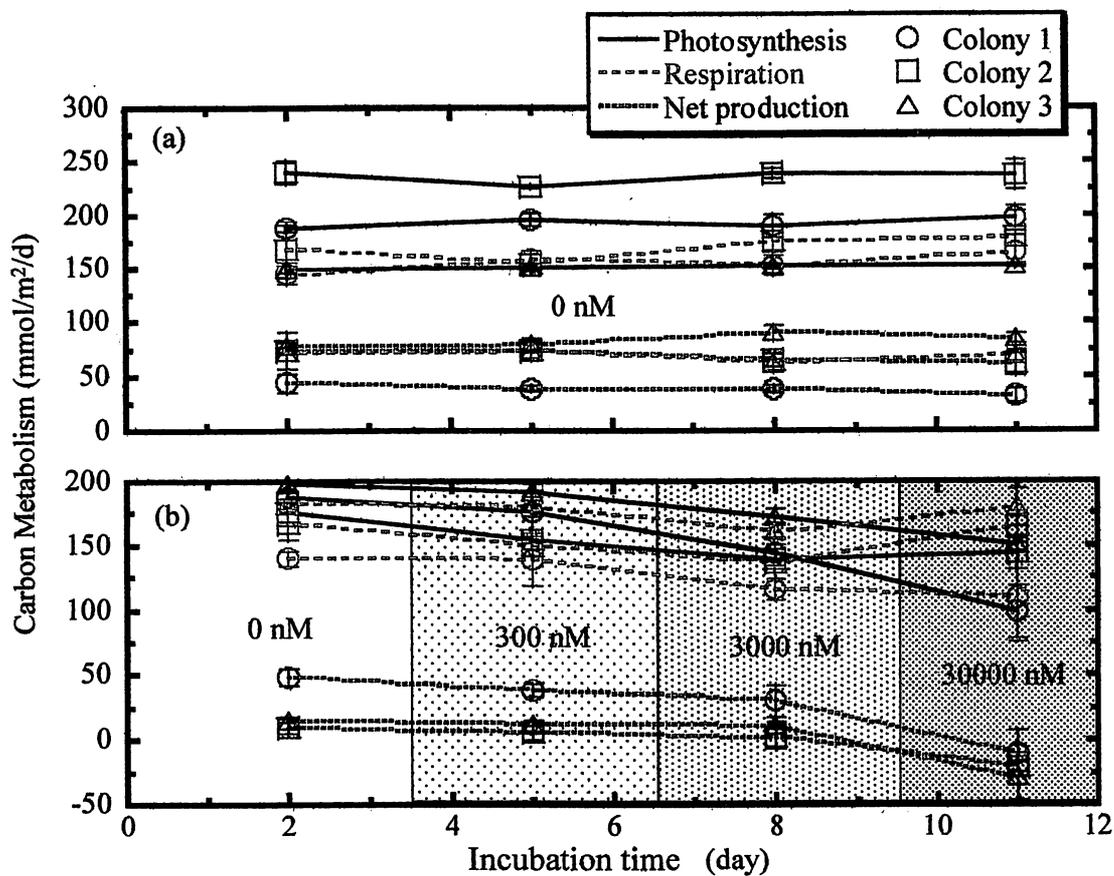


Fig. 15 Variation of organic carbon metabolism
 (average and standard deviation for 3 days each)
 (a) no addition of hydrogen peroxide
 (b) addition of various hydrogen peroxide concentrations

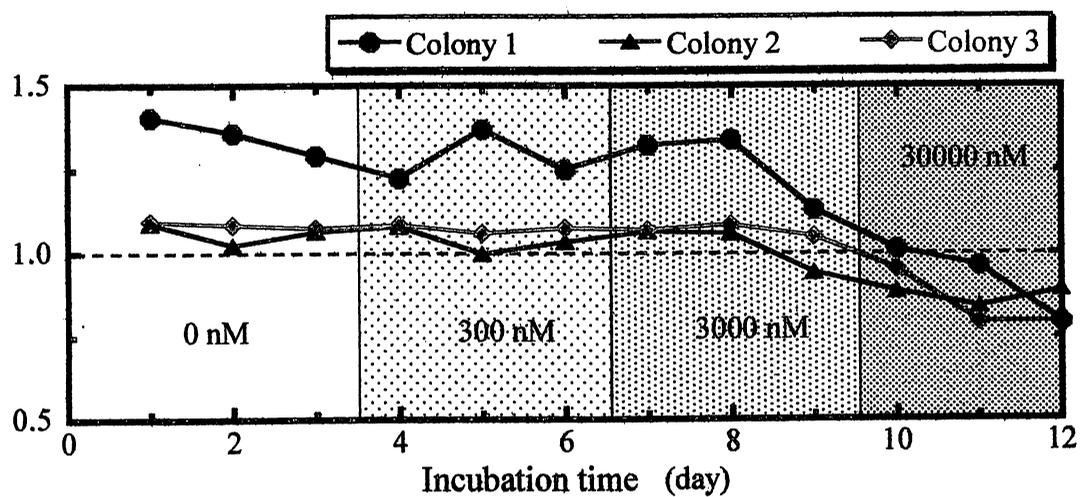


Fig. 16 Variation of photosynthesis / respiration
(addition of various HOOH concentrations)

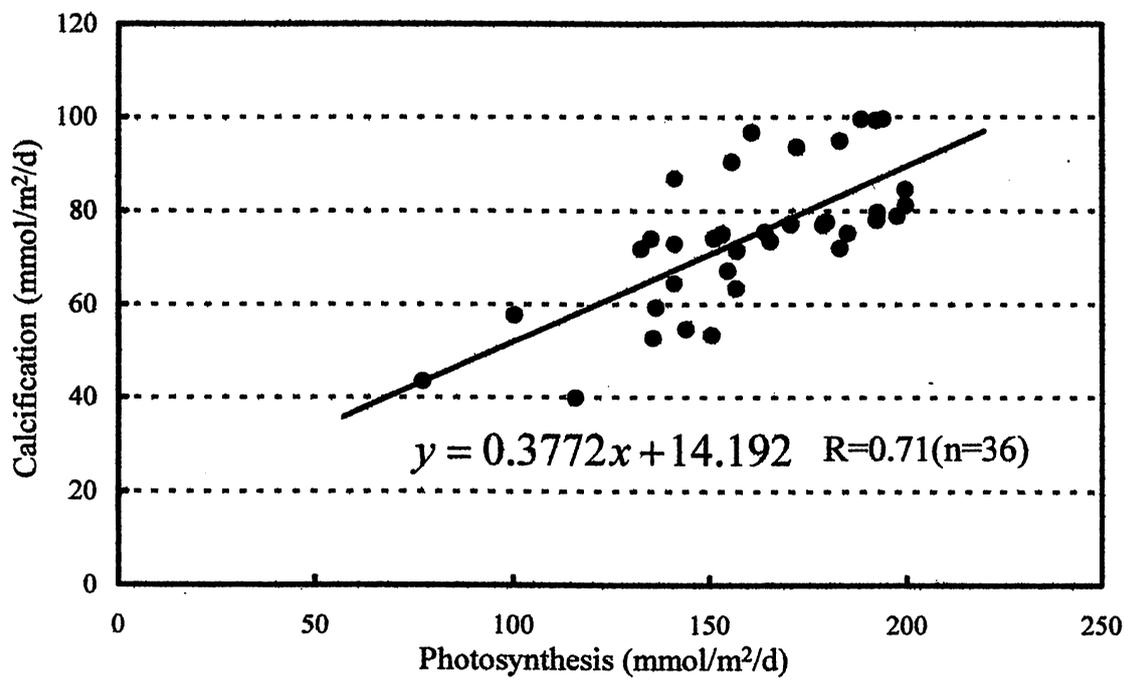


Fig. 17 Relationship between photosynthesis and calcification (addition of various HOOH concentrations)

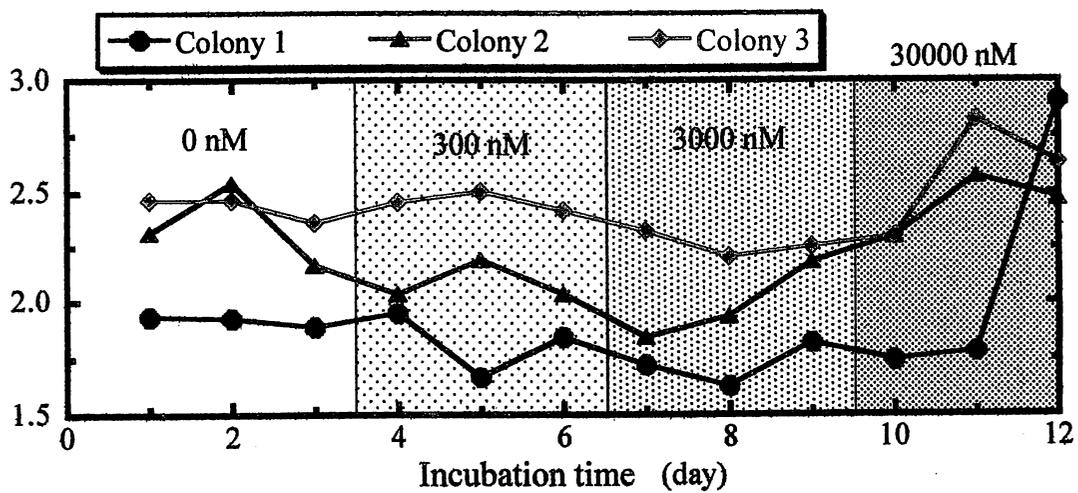


Fig. 18 Variation of photosynthesis / calcification
(addition of various HOOH concentrations)

Table 4 Concentration of chemical species in supplied seawater for no addition of hydrogen peroxide.

Sample	Incubation time(day)	pH	TA (mmol l ⁻¹)	TIC (mmol kg ⁻¹)	Salinity
Coral Colony1	0	8.13	2.37	2.04	34.98
	12	8.15	2.38	2.03	34.94
Coral Colony2	0	8.07	2.35	2.06	35.20
	12	8.04	2.36	2.07	35.28
Coral Colony3	0	7.89	2.41	2.23	27.87
	12	7.94	2.39	2.20	27.93

Table 5 Concentration of chemical species in supplied seawater for addition of hydrogen peroxide.

Sample	Incubation time(day)	pH	TA (mmol l ⁻¹)	TIC (mmol kg ⁻¹)	Salinity
Coral Colony1	0	8.08	2.29	1.99	35.23
	12	8.06	2.30	2.01	35.29
Coral Colony2	0	8.08	2.38	2.07	35.10
	12	8.07	2.39	2.09	35.20
Coral Colony3	0	8.17	2.39	2.03	34.98
	12	8.13	2.41	2.07	34.94
No Coral Colony	0	8.02	2.41	2.13	34.04
	12	8.00	2.40	2.14	34.56

Table 6 Carbon metabolisms with no addition of HOOH ;
 (a) coral colony 1, (b) coral colony 2 and (c) coral colony 3.

(a)	Incubation time (day)	HOOH Concentraion (nM)	Average of Photosynthesis (mmol/m ² /d)	Average of Respiration (mmol/m ² /d)	Average of Calcification (mmol/m ² /d)
	1-3	0	187.2±3.5	144.3±10.1	70.0±2.1
	4-6	0	194.8±6.5	157.3±8.5	72.3±2.8
	7-9	0	189.0±11.0	151.5±8.8	69.5±3.5
	10-12	0	195.9±11.5	164.7±14.7	70.9±1.3

(b)	Incubation time (day)	HOOH Concentraion (nM)	Average of Photosynthesis (mmol/m ² /d)	Average of Respiration (mmol/m ² /d)	Average of Calcification (mmol/m ² /d)
	1-3	0	239.9±10.7	167.0±26.5	111.4±4.6
	4-6	0	226.0±1.1	153.7±8.5	112.5±2.8
	7-9	0	237.9±4.3	174.1±9.6	114.6±3.5
	10-12	0	237.2±14.1	177.5±24.5	109.3±1.1

(c)	Incubation time (day)	HOOH Concentraion (nM)	Average of Photosynthesis (mmol/m ² /d)	Average of Respiration (mmol/m ² /d)	Average of Calcification (mmol/m ² /d)
	1-3	0	148.6±3.4	70.5±0.8	58.0±1.6
	4-6	0	150.4±2.8	72.0±8.0	56.8±3.0
	7-9	0	151.5±2.3	62.3±9.2	58.1±2.2
	10-12	0	151.0±1.3	67.8±5.1	59.0±2.4

Table 7 Carbon metabolisms with addition of various HOOH concentrations ;

(a) coral colony 1, (b) coral colony 2 and (c) coral colony 3.

(a)	Incubation time (day)	HOOH Concentraion (nM)	Average of Photosynthesis (mmol/m ² /d)	Average of Respiration (mmol/m ² /d)	Average of Calcification (mmol/m ² /d)
	1-3	0	187.6±4.6	139.2±6.0	97.9±2.6
	4-6	300	175.4±16.9	138.0±20.7	96.6±3.0
	7-9	3000	143.8±10.6	114.4±7.7	83.8±8.6
	10-12	30000	97.7±19.5	109.0±34.4	47.0±9.4

(b)	Incubation time (day)	HOOH Concentraion (nM)	Average of Photosynthesis (mmol/m ² /d)	Average of Respiration (mmol/m ² /d)	Average of Calcification (mmol/m ² /d)
	1-3	0	175.4±10.1	166.0±12.8	75.1±2.9
	4-6	300	153.6±2.9	148.7±8.2	73.6±1.9
	7-9	3000	138.1±4.9	136.2±13.0	69.8±4.6
	10-12	30000	142.8±12.0	164.6±11.4	58.5±5.4

(c)	Incubation time (day)	HOOH Concentraion (nM)	Average of Photosynthesis (mmol/m ² /d)	Average of Respiration (mmol/m ² /d)	Average of Calcification (mmol/m ² /d)
	1-3	0	197.0±4.3	182.0±4.2	81.3±3.2
	4-6	300	191.5±6.31	179.0±7.9	78.0±2.4
	7-9	3000	171.4±6.7	160.6±5.6	75.9±2.1
	10-12	30000	149.7±5.3	179.0±14.7	58.4±7.6

**Table 8 Relationship between carbon metabolism and added HOOH concentrations ;
(a) photosynthesis, (b) respiration and (c) calcification.**

(a)	HOOH (nM)	Photosynthesis of Colony 1(55.0 cm ²) (mmol/m ² /d)	Photosynthesis of Colony 2(36.6 cm ²) (mmol/m ² /d)	Photosynthesis of Colony 3(44.3 cm ²) (mmol/m ² /d)
	0 nM	187.6	175.4	197.0
	300 nM	175.4(-6.5%)	153.6(-12.4%)	191.5(-2.8%)
	3000 nM	143.8(-23.3%)	138.1(-21.2%)	171.4(-13.0%)
	30000 nM	97.7(-47.9%)	142.8(-18.6%)	149.7(-24.0%)

(b)	HOOH (nM)	Respiration of Colony 1(55.0 cm ²) (mmol/m ² /d)	Respiration of Colony 2(36.6 cm ²) (mmol/m ² /d)	Respiration of Colony 3(44.3 cm ²) (mmol/m ² /d)
	0 nM	139.2	166.0	182.0
	300 nM	138.0(-0.8%)	148.7(-10.4%)	179.0(-1.6%)
	3000 nM	114.4(-17.8%)	136.2(-17.9%)	160.6(-11.7%)
	30000 nM	109.0(-21.7%)	164.6(-0.8%)	179.0(-1.6%)

(c)	HOOH (nM)	Calcification of Colony 1(55.0 cm ²) (mmol/m ² /d)	Calcification of Colony 2(36.6 cm ²) (mmol/m ² /d)	Calcification of Colony 3(44.3 cm ²) (mmol/m ² /d)
	0 nM	97.9	75.1	81.3
	300 nM	96.6(-1.3%)	73.6(-2.0%)	78.0(-4.1%)
	3000 nM	83.8(-14.4%)	69.8(-7.0%)	75.9(-6.6%)
	30000 nM	47.0(-52.0%)	58.5(-22.1%)	58.4(-28.1%)

() indicates changes with respect to the values for [HOOH] = 0 nM

Table 9 Result of photosynthesis by Tukey's multiple comparison test with no addition of HOOH ;
 (a) coral colony 1, (b) coral colony 2 and (c) coral colony 3.

(a)

HOOH (nM)	0	0	0	0
0		n.s.	n.s.	n.s.
0			n.s.	n.s.
0				n.s.
0				

(b)

HOOH (nM)	0	0	0	0
0		n.s.	n.s.	n.s.
0			n.s.	n.s.
0				n.s.
0				

(c)

HOOH (nM)	0	0	0	0
0		n.s.	n.s.	n.s.
0			n.s.	n.s.
0				n.s.
0				

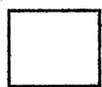
 Significantly Different
  Not Significantly Different

Table 10 Result of photosynthesis by Tukey's multiple comparison test with addition of various HOOH concentrations ;
 (a) coral colony 1, (b) coral colony 2 and (c) coral colony 3.

(a)

HOOH (nM)	0	300	3000	30000
0		n.s.	S. *	S. **
300			n.s.	S. **
3000				S. *
30000				

(b)

HOOH (nM)	0	300	3000	30000
0		n.s.	S. **	S. **
300			n.s.	n.s.
3000				n.s.
30000				

(c)

HOOH (nM)	0	300	3000	30000
0		n.s.	S. **	S. **
300			S. *	S. **
3000				S. **
30000				

 Significantly Different  Not Significantly Different

* P<0.05 ** P<0.01

Table 11 Result of respiration by Tukey's multiple comparison test with no addition of HOOH ;

(a) coral colony 1, (b) coral colony 2 and (c) coral colony 3.

(a)

HOOH (nM)	0	0	0	0
0	/	n.s.	n.s.	n.s.
0	/	/	n.s.	n.s.
0	/	/	/	n.s.
0	/	/	/	/

(b)

HOOH (nM)	0	0	0	0
0	/	n.s.	n.s.	n.s.
0	/	/	n.s.	n.s.
0	/	/	/	n.s.
0	/	/	/	/

(c)

HOOH (nM)	0	0	0	0
0	/	n.s.	n.s.	n.s.
0	/	/	n.s.	n.s.
0	/	/	/	n.s.
0	/	/	/	/



Significantly Different



Not Significantly Different

Table 12 Result of respiration by Tukey's multiple comparison test with addition of various HOOH concentrations ;
 (a) coral colony 1, (b) coral colony 2 and (c) coral colony 3.

(a)

HOOH (nM)	0	300	3000	30000
0		n.s.	n.s.	n.s.
300			n.s.	n.s.
3000				n.s.
30000				

(b)

HOOH (nM)	0	300	3000	30000
0		n.s.	n.s.	n.s.
300			n.s.	n.s.
3000				n.s.
30000				

(c)

HOOH (nM)	0	300	3000	30000
0		n.s.	n.s.	n.s.
300			n.s.	n.s.
3000				n.s.
30000				

 Significantly Different
  Not Significantly Different

Table 13 Result of calcification by Tukey's multiple comparison test with no addition of HOOH ;

(a) coral colony 1, (b) coral colony 2 and (c) coral colony 3.

(a)

HOOH (nM)	0	0	0	0
0	/	n.s.	n.s.	n.s.
0	/	/	n.s.	n.s.
0	/	/	/	n.s.
0	/	/	/	/

(b)

HOOH (nM)	0	0	0	0
0	/	n.s.	n.s.	n.s.
0	/	/	n.s.	n.s.
0	/	/	/	n.s.
0	/	/	/	/

(c)

HOOH (nM)	0	0	0	0
0	/	n.s.	n.s.	n.s.
0	/	/	n.s.	n.s.
0	/	/	/	n.s.
0	/	/	/	/



Significantly Different



Not Significantly Different

Table 14 Result of calcification by Tukey's multiple comparison test with addition of various HOOH concentrations ;
 (a) coral colony 1, (b) coral colony 2 and (c) coral colony 3

(a)

HOOH (nM)	0	300	3000	30000
0		n.s.	n.s.	S.***
300			n.s.	S.***
3000				S.***
30000				

(b)

HOOH (nM)	0	300	3000	30000
0		n.s.	n.s.	S.***
300			n.s.	S.***
3000				S.***
30000				

(c)

HOOH (nM)	0	300	3000	30000
0		n.s.	n.s.	S.***
300			n.s.	S.***
3000				S.***
30000				

 Significantly Different  Not Significantly Different

* P<0.05 ** P<0.01

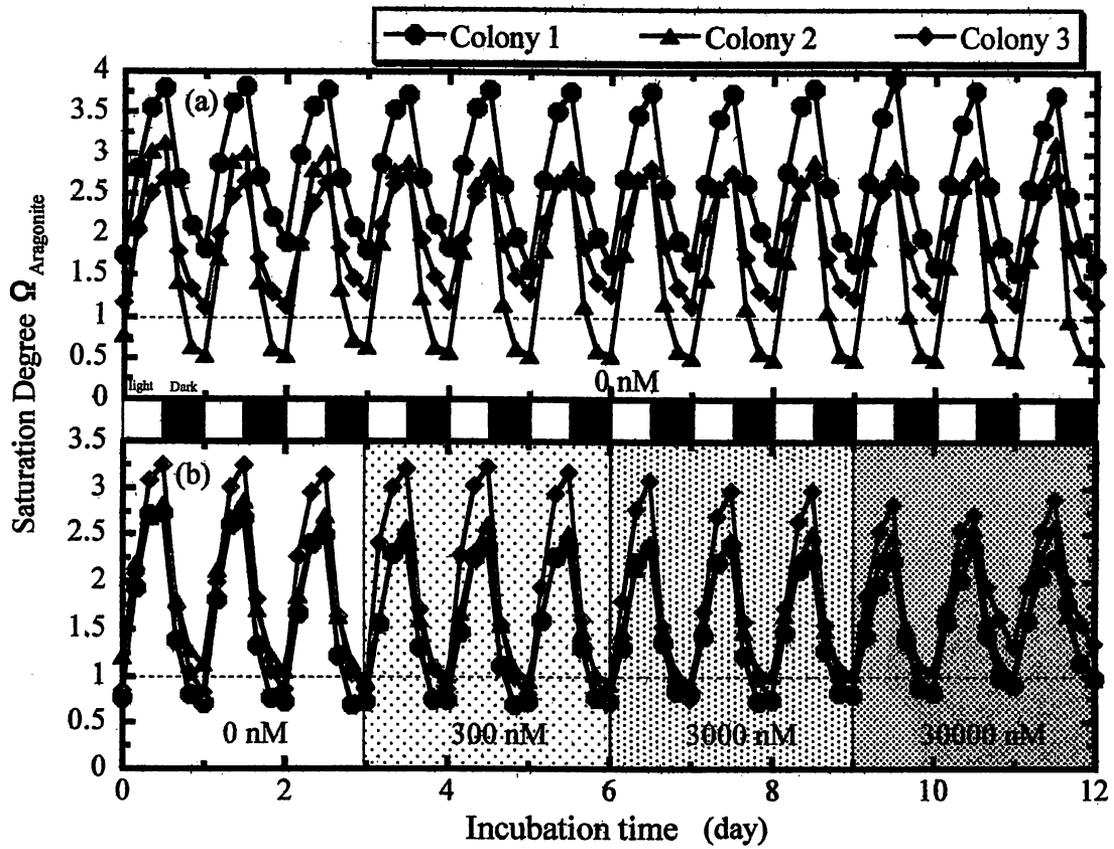


Fig. 19 Variation of saturation degree of $\Omega_{\text{Aragonite}}$ of CaCO_3
 (a) no addition of hydrogen peroxide
 (b) addition of various hydrogen peroxide concentrations

1-4 まとめ

本研究は、サンゴを群体レベルで飼育し、過酸化水素濃度の変化がサンゴ群体の代謝量に与える影響を調べたものである。

以下に本研究で明らかになったことを示す。

(1) サンゴ群体の影響により、サンゴの飼育海水中の pH が明期に増加、暗期に減少、アルカリ度が明期に減少、暗期に増加という日変動を示した。

(2) 過酸化水素濃度を 0 nM で 12 日間一定にすると、サンゴ群体による光合成、呼吸、石灰化など有機・無機炭素代謝量に大きな変動は見られなかった。これより、12 日間の実験で、本実験システムはサンゴにストレスとならないことが証明された。

(3) 過酸化水素濃度の増加に伴い、サンゴ群体による代謝量に大きな変化が見られた。また、一元配置分散分析の結果、過酸化水素はサンゴの光合成および石灰化に影響を及ぼす物質であることが証明された。

(4) 過酸化水素 300 nM 添加時では、光合成、呼吸、石灰化において、過酸化水素 0 nM と比べ、統計学的に有意な差が見られなかった。これより、過酸化水素 300 nM は 3 日間では、サンゴにそれほど影響を与えないことがわかった。

(5) 過酸化水素 3000 nM 添加時では、過酸化水素 0 nM と比べ、光合成で統計学的に有意な差が見られたが、呼吸、石灰化では有意な差はなかった。これより、過酸化水素 3000 nM では、特に光合成に影響が大きいことがわかった。光合成機構は、石灰化機構よりも低濃度の過酸化水素でダメージを受ける可能性が考えられる。

(6) 光合成が石灰化よりも低濃度で阻害されたことから、過酸化水素により、まず褐虫藻の光合成が阻害され、光合成と関係の強い石灰化の減少が起こったことが考えられる。

(7) 過酸化水素 30000 nM 添加時では、過酸化水素 0 nM と比べ、石灰化の減少量は 22.1-52.0 %、光合成の減少量は 18.6-48.0 %であった。これらについて、統計学的に有意な差も見られた。これより過酸化水素 30000 nM で、サンゴによる光合成及び石灰化が大きく阻害されることがわかった。

(8) 光合成や石灰化の阻害は、サンゴ礁の生産力やサンゴ礁の形成に大きく関わる可能性が高いので、今後、過酸化水素濃度の変動に注目する必要があることが考えられる。

(9) 現在の沖縄本島周辺海域における過酸化水素濃度は最大で 300 nM 程度であるが、これ以上過酸化水素濃度が上昇した場合や長期間高濃度が続いた場合、サンゴの生育に大きく影響する可能性が高いと考えられる。

1 - 5 参考・引用文献

- Abramovitch-Gottib, L., D. Katoshevski and R. Vago, 2002. A computerized tank system for studying the effect of temperature on calcification of reef organisms. *J. Biochem. Biophys. Methods*, Vol. 50, pp. 245-252.
- Arakaki, T., Fujimura, H., Hamdun, A. M., Okada, K., Kondo, H., Oomori, T., Tanahara, A. and Taira, H., 2005. Simultaneous measurement of hydrogen peroxide and Fe species(Fe(II) and Fe(tot)) in Okinawa island seawater: impact of red soil pollution. *Journal of Oceanography*, Vol.61, pp. 561-568.
- Chalker, B. E., 1983. Calcification by corals and other animals on the reef. *Perspectives on Coral Reefs*, The Australian Institute of Marine Science by Brian Clouston Publisher, pp. 29-45.
- Coles, S. L. and Jokiel, P. L., 1977. Effects of temperature on photosynthesis and respiration in hermatypic corals. *Mar. Biol.*, Vol. 43, pp. 209-216.
- Cooper, W. J. and Zika, R. G., 1983. Photochemical formation of hydrogen peroxide in surface and ground water exposed to sunlight. *Science*, Vol. 220, pp. 711-712.
- Culberson, C., Pytkowicz, R. M. and Hawley, J. E., 1970. Seawater alkalinity determination by the pH method. *J. Mar. Res.*, Vol. 28, pp. 15-21.
- Dickson, A. G., 1981. An exact definition of total alkalinity and a procedure for the estimation of alkalinity and total inorganic carbon from titration data. *Deep-Sea Res.*, Vol. 28A, pp. 609-623.
- Downs, C. A., Fauth, J. E., Halas, J. C., Dustan, P., Bemiss, J. and Woodley, C. M., 2002. Oxidative stress and seasonal coral bleaching. *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 33, No. 4, pp. 533-543.
- Fitt, W. K., B. E. Brown, M. E. Warner and R. P. Dunne, 2001. Coral bleaching: interpretation of thermal tolerance limits and thermal thresholds in tropical corals. *Coral Reefs*, Vol. 20, pp. 51-65.
- Fujimura, H., Oomori, T., Maehira, T. and Miyahira, K., 2001. Change of coral carbon metabolism influenced by coral bleaching. *Galaxea, JCRS*, Vol. 3, pp. 41-50.
- Fujimura, H., Arakaki, T., A. M. Hamdun, Y. Nakano and T. Oomori, submitted. Effects of seawater temperature on colony-level metabolism and bleaching of *Goniastrea aspera* measured using a continuous-flow complete-mixing system.

J. Exp. Mar. Biol. Ecol.

- Gattuso, J. P., Allemand, D. and Frankignoulle, M., 1999. Photosynthesis and calcification at cellular, organismal and community levels in coral reefs: a review on interactions and control by carbonate chemistry. *American Zoologist*, Vol. 39, pp. 160-183.
- Goldberg, J. and Wilkinson, C., 2004. Global threat to coral reefs: coral bleaching, global climate change, disease, predator plagues, and invasive species. *Status of coral reefs of the world:2004*, Vol. 1, pp.67-92.
- Grant, A. J., Remond, M., People, J. and Hinde, R., 1997. Effects of host-tissue homogenate of the scleractinian coral *Plesiastrea versipora* on glycerol metabolism in isolated symbiotic dinoflagellates. *Marine Biology*, Vol. 128, pp. 665- 670.
- Harned, H. S. and Davis, R. D., 1943. The ionization constant of carbonic acid in water and the solubility of carbon dioxide in water and aqueous salt solution from 0-50 °C. *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 65, pp. 2030-2037.
- Harned, H. S. and Scholes, S. R., 1941. The ionization constant of HCO_3^- from 0-50 °C. *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 63, pp. 1706-1709.
- Hayashibara, T., Iwao, K., Omori, M., 2004. Induction and control of spawning in Okinawan staghorn corals. *Coral Reefs*, Vol. 23, pp. 406-409.
- 日高道雄, 2002. 造礁サンゴの骨格形成と褐虫藻
日本におけるサンゴ礁研究 I, 日本サンゴ礁学会, pp. 59-65.
- 樋口富彦, 2004. 連続流水混合系を用いたサンゴの代謝に関する研究
琉球大学理学部海洋自然科学科卒業論文
- Hoegh-Guldberg, O. and Smith, G. J., 1989. The Effect of sudden changes in temperature, light and salinity on the population density and export of zooxanthellae from the reef corals *Stylophora pistillata* Esper and *Seriatopora hystrix* Dana. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, Vol.129, pp. 279-303.
- 伊古田博嗣, 2005. 大気・海水間における過酸化(過酸化水素及び有機過酸化)の挙動について
琉球大学理学部海洋自然科学科卒業論文
- Johnson, K. S., Willason, S.W., Wiesenburg, D. A., Lohrenz, S. E. and Arnone, R. A., 1989. Hydrogen peroxide in the western Mediterranean Sea: a tracer for vertical advection, *Deep-Sea Res.*, Vol. 36, pp. 241-254.

- Kawaguti, S., 1944. On the physiology of reef corals VI. Zooxanthella of the reef corals is *Gymnodinium* sp., Dinoflagellata; its culture in vitro. *Palao Trop Biol Stn Stud*, Vol. 2, pp. 675-679.
- Kinsey, D. W., 1983. Standards of performance in coral reef primary production and carbon turnover. In D. J. Barnes (Ed.), *Perspectives on coral reefs*, pp. 209-219. Australia: Australian Institute of Marine Science by Brian Clouston Publisher.
- Lesser, M. P., 1997. Oxidative stress causes coral bleaching during exposure to elevated temperatures. *Coral Reefs*, Vol. 16, pp. 187-192.
- Lesser, M. P., Stochaj, W. R., Tapley, D. W. and Shick, J. M., 1990. Bleaching in coral reef anthozoans: effects of irradiance, ultraviolet radiation, and temperature on the activities of protective enzymes against active oxygen. *Coral Reefs*, Vol. 8, pp. 225-232.
- Lyman, J., 1957. Buffer mechanism of sea water. *Ph.D. Thesis*, University of California, Los Angeles, pp.196.
- Marsh, J. A., 1970. Primary productivity of reef-building calcareous red algae. *Ecology*, Vol. 51, pp. 255-263.
- Mehrbach, C., Culberson, C. H., Hawley, J. E. and Pytkowicz, R. M., 1973. Measurement of the apparent dissociation constants of carbonic acid in seawater at atmospheric pressure. *Limnol. Oceanogr.*, Vol. 18, pp. 897-907.
- Miller, W. L. and Kester, D. R., 1988. Hydrogen peroxide measurement in seawater by (p-Hydroxyphenyl) acetic acid dimerization. *Analytical Chemistry*, Vol. 60, pp. 2711-2715.
- Millero, F. J. and Poisson, A., 1981. International one-atmosphere equation of state of seawater. *Deep-Sea Res.*, Vol. 28A, pp. 625-629.
- Morse, D. E., Duncan, H., Hooker, N. and Morse, A., 1977. Hydrogen peroxide induces spawning in mollusks, with activation of prostaglandin endoperoxide synthetase. *Science*, Vol. 196, pp.298-300.
- Mucci, A., 1983. The solubility of calcite and aragonite in seawater at various salinities, temperatures, and one atmosphere total pressure. *Amer. J. Sci.*, Vol. 283, pp. 780-799.
- 中島仁美, 岡田孝一郎, 藤村弘行, 新垣雄光, 棚原朗, 2004. 沖縄島沿岸の海水中で光化学的に生成する過酸化水素 分析化学, Vol. 53, No 9, pp. 891-897.

- Nakamura, T. and Van Woessik, R., 2001. Water-flow rates and passive diffusion partially explain different survival of corals during 1998 bleaching event. *Marine Ecology Progress Series*, Vol. 212, pp. 301-304.
- Ohde, S. and Hossain, M. M. M., 2004. Effect of CaCO₃ (aragonite) saturation state of seawater on calcification of Porites coral. *Geochemical Journal*, Vol. 38, pp. 613-621.
- 岡田孝一郎, 2005. 光化学による環境中での鉄循環メカニズムの探求
琉球大学大学院理工学研究科修士論文
- 岡田孝一郎, 中島仁美, 藤村弘行, 新垣雄光, 棚原朗, 大森保, 2005.
Ferrozine 試薬を用いる高速液体クロマトグラフィーによる沖縄
島沿岸海水中の鉄(II)の光化学的挙動の研究 *分析化学*, Vol. 54,
No 9, pp. 861-867.
- 大見謝辰男, 2004. 陸域からの汚染物質の流入負荷 *日本のサンゴ礁*, pp. 66-70
- Orr, J. C., Fabry, V. J., Aumont, O., Bopp, L., Doney, S. C., Feely, R. A.,
Gnanadesikan, A., Gruber, N., Ishida, A., Joos, F., Key, R. M.,
Lindsay, K., Maier-Reimer, E., Matear, R., Monfray, P., Mouchet, A.,
Najjar, R. G., Plattner, G.K., Rodgers, K. B., Sabine, C. L.,
Sarmiento, J. L., Schlitzer, R., Slater, R. D., Totterdell, I. J.,
Weirig, M.F., Yamanaka, Y. and Yool, A., 2005. Anthropogenic ocean
acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying
organisms. *Nature*, Vol. 437, pp. 681-686.
- Owen, B. B., 1934. The dissociation constant of boric acid from 10-50 °C.
J. Am. Chem. Soc., Vol. 56. pp. 1695-1697.
- Palenik, B., Zafiriou, O. C. and Morel, F. M. M., 1987. Hydrogen peroxide production
by marine phytoplankter. *Limnol. Oceanogr.*, Vol. 32, pp. 1365-1369.
- Plummer, L. M. and Buesenberg, E. 1982. The solubilities of calcite, aragonite and
vaterite in CO₂-H₂O solutions between 0 and 90 °C and an evaluation of
the aqueous model for the system CaCO₃-CO₂-H₂O.
Geochim. Cosmochim. Acta, Vol. 46, pp. 1011-1040.
- Pires, A. and Hadfield, M. G., 1991. Oxidative breakdown products of Catecholamines
and hydrogen peroxide induce partial metamorphosis in the nudibranch
Phostilla sibogae Bergh (Gastropoda: Opisthobranchia).
Biol. Bull., Vol. 180, pp. 310-317.
- Sakugawa, H., Kaplan, I. R., Tsai, W. and Cohen, Y., 1990. Atmospheric hydrogen
peroxide. *Environ. Sci. Technol.*, Vol. 24, No. 10, pp. 1452-1462.

- Sarthou, G., Jeandel, C., Brisset, L., Amouroux, D., Besson, T. and Donard, O. F. X., 1997. Fe and H₂O₂ distributions in the upper water column in the Indian sector of the Southern Ocean. *Earth and Planetary Science Letters*, Vol. 147, pp. 83-92.
- Smith, S. V., 1973. Carbon dioxide and metabolism in marine environments. *Limnol. Oceanogr.*, Vol. 18, pp. 106-120.
- Smith, S. V. and Key, G. S., 1975. Carbon dioxide and metabolism in marine environments. *Limnol. Oceanogr.*, Vol. 20, pp. 293-495.
- Smith, S. V. and Kinsey, D. W., 1978. Calcification and organic carbon metabolism as indicated by carbon dioxide. *Coral Reefs: research methods, Unesco Paris*, pp. 469-484.
- Thompson, A. M. and Zafiriou, O. C., 1983. Air-seafluxes of transient atmosphere species. *J. Geophys. Res.*, Vol. 88, pp. 6696-6708.
- 渡慶次亮子, 2004. 瀬底島サンゴ礁域における群集代謝量の動態解析
琉球大学大学院理工学研究科修士論文
- Wilkinson, C., 1998. The 1997-1998 mass bleaching event around the world. *Status of coral reefs of the world:1998*, pp.15-38.
- Zika, R., Saltzman, E., Chameides, W. L. And Davis, D. D., 1982. H₂O₂ levels in rain water collected in South Florida and the Bahama islands. *J. Geophys. Res.*, Vol. 87, pp. 5015-5017.

参考文献

- Zeebe, R. E. and Wolf-Gladrow, D., 2001 CO₂ in seawater; Equilibrium, Kinetics, Isotopes. Elsevier
- Kirk, J. T. O. 著 山本民次 訳, 2002 水圏の生物生産と光合成, 恒星社厚生閣
- J. C. Miller, J. N. Miller 著 宗森信 訳, 2001 データのとり方とまとめ方
—分析化学のための統計学(第7版), 共立出版
- 中野義勝, 2004. 地球環境変動と白化現象 日本のサンゴ礁 pp. 44-50

謝 辞

本研究報告書をまとめるにあたり、今回の研究資金援助を頂いた日本学術振興会と研究代表者が所属している琉球大学に研究の機会と場所を与えて頂き感謝いたします。また、研究用のサンゴ採取を許可していただいた沖縄県およびサンゴ飼育に協力いただいた琉球大学熱帯生物圏研究センター瀬底実験所に厚く謝意を表します。

今回の報告書は、新垣研究室に所属する学生（岡田孝一郎君、中島仁美さん、金城美夏さん、伊古田博嗣君、黒木由貴子さん、上原正也君、斉藤究君、東江栄作君、小谷有司君、半田大士君）の卒業研究および修士論文をまとめたものです。特に、第1章は、樋口富彦君の修士論文をまとめたものです。

また、先の研究費補助金で博士研究員として連続流水混合実験システムの開発を行ってくれた藤村弘行君には感謝いたします。

2007年3月31日

新垣 雄光