



Title	海洋と湖沼における光合成・環境要因の測定法
Author(s)	鈴木, 祥弘
Citation	低温科学, 67, 143-148 光合成研究法. 北海道大学低温科学研究所, 日本光合成研究会共編
Issue Date	2009-03-31
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/39112
Type	bulletin (article)
Note	2章 個体・環境の測定 4. 藻類の光合成関連測定 a
File Information	67-023.pdf



[Instructions for use](#)

4. 藻類の光合成関連測定

a. 海洋と湖沼における光合成・環境要因の測定法

鈴木 祥弘¹⁾

海洋での国際共同研究では中心となる測定項目について、共通の観測・測定手法が採用され、データの質と互換性が保障されている。本節では、共通手法のうち、本章の1, 2節で陸上生態系について述べられたものに相当する部分を紹介し、さらに、溶存酸素による測定法について補足する。

An introduction to universal protocols for estimation of primary productions and environment factors in lakes and ocean.

Yoshihiro Suzuki

In international projects to study primary productions and ocean carbon flux in the ocean, universal protocols for the core measurements were adopted for quality-guaranteed and comparable data sets in each experiment. One of these universal protocols in JGOFS will be introduced, here. Some additional protocols for estimating dissolved O₂ will be explained.

4.a.1 概説

国際共同研究での共通手法

海洋では陸上に匹敵する光合成が行われている¹⁾²⁾。また、海洋で行われる光合成は、「生物ポンプ」と呼ばれる機構の主要素であり、大気CO₂の海洋の中・深層への移動を促進する働きを担っている³⁾。このため、海洋で行われる光合成とそれを支える微細藻類の生物量（バイオマス）や光合成に影響を与える環境要因について、多くの測定と研究が精力的に行われていることは、全球海洋フラックス合同研究計画 (Joint Global Ocean Flux Study, JGOFS; <http://ijgofs.whoi.edu/>) や世界海洋循環実験計画 (World Ocean Circulation Experiment, WOCE; <http://www.noc.soton.ac.uk/OTHERS/woceipo/ipo.html>), これに付随する様々なプロジェクトとその成果からも明らかである。既に終了しているこれらの研究はさらに発展継承され、2008年11月現在、全球海洋観測システム計画 (Global Ocean Observing system, GOOS; <http://www.ioc-goos.org/>) などのプロジェクトが推進されている。

これら全地球規模の共同研究では、相互比較のためのデータの互換性と質の保障が重要である。このため、プロジェクトでは共通の観測・測定手法が採用される。こうした手法をまとめたものに Protocols for the Joint Global Ocean Flux Study (JGOFS) Core Measure-

ments (全球海洋フラックス合同研究 (JGOFS) における観測・測定手法, 以降 JGOFS-Protocols) がある。改訂版が [http://ijgofs.whoi.edu/Publications/Report_Series/reports.html #No.19](http://ijgofs.whoi.edu/Publications/Report_Series/reports.html#No.19) に公開されており、また、日本語翻訳版は1995年に日本海用データセンターから刊行されている。JGOFS-Protocolsには本書の(2)の1, 2で述べられた陸上生態系での測定を海洋で行うための手法が記されており、湖沼や河川などの陸水を含む水界での測定において標準的な手法として参考にすべきものである。本節では、JGOFS-Protocols 日本語版を利用するのに必要な簡単な説明を行い、さらに、溶存酸素の測定に関して説明を付け加えるものとする。

海洋での環境要因とバイオマスの測定

海洋での光合成や環境要因の測定は、基質である水の特性により、陸上での測定と異なる点がある。海洋では水深とともに様々な環境要因が変化する³⁾。たとえば、水の光吸収により、水深とともに光強度が低下し、水の吸光特性により光質が鉛直方向に変化する。海域により溶存成分や懸濁粒子が異なるため、光強度や光質の変化は海域により異なる⁴⁾。また、吸収した光で暖められた表面の海水と深部の海水には温度と密度に差が生じる。さらに、風や波浪、結氷などによって海水が攪拌されて鉛直方向の環境勾配は複雑に変化する³⁾⁵⁾。これに対応して微細藻類が増殖することで、光、栄養塩類、無機炭素や有機炭素、酸素濃度などの環境要因の勾配はさらに複雑に変化することになる。このような鉛直方向の環境勾配を測定するために海洋ではCTDセンサー (Conductivity

1) 神奈川大学理学部

(電気伝導度), Temperature (温度), Depth (圧力, 水深))に加えて様々なセンサーを装備し, 複数の採水器(目的によりニスキン採水器や GO-FLO 採水器が使われる)をロゼット型に配置した機器をウインチで海中に降下させて測定を行う。装備された溶存酸素計(D. O.メーター)やクロロフィル蛍光測定装置のデータは, 採水された試水で測定されたD. O.や試水中のプランクトンのクロロフィルa濃度と比較・校正されて利用される。採水された試水を用いて, 塩分, ウィンクラー方による溶存酸素の測定, 電量滴定法による全無機炭素濃度の測定, 硝酸塩・亜硝酸・リン酸・反応性ケイ酸塩の定量などの環境要因や, 分光法や蛍光分析法によるクロロフィルaとフェオ色素, 粒状有機炭素と粒状窒素, 溶存有機炭素などのバイオマスの測定が行われる(JGOFS-Protocols 参照)。

海洋での光合成・一次生産の測定

一般に光合成反応は水とCO₂から炭水化物を生成する以下のような反応で表される。



この式から明らかなように, 光合成はCO₂の吸収やO₂の発生により測定が可能である。実際には, 光合成と平行して行われる呼吸により発生するCO₂の放出やO₂の吸収の速度(R)によって, 見かけ上のCO₂の吸収やO₂の発生の速度(純光合成速度; Pn)は, 光合成で生じるCO₂の吸収やO₂の発生の速度(総光合成速度; Pg)より低い値を示す。この関係は,

$$\text{Pg} = \text{Pn} + \text{R}$$

の式で表すことができる。無機炭酸イオンが比較的高濃度で存在する海洋では, 通常, 光合成がCO₂の不足で制限されることは無く, 光依存性の呼吸やO₂の消費は比較的小さいと考えられている²⁾。このため, 光照射下の呼吸速度と遮光条件下での光合成速度が等しいものと仮定して, RとPnに加算することでPgが求められることが多い。一方, 陸上植物以上に考慮しなければならない問題に, 光合成によるO₂発生とCO₂吸収の比である光合成商(PQ)がある。陸上植物は光合成産物の多くを澱粉などの炭水化物として蓄積し, セルロースなどの炭水化物を主成分とする幹や枝などの膨大な支持組織を形成する。これに対し, 海中の微細藻類はその多くを光合成を行う細胞の形成に使う。このため微細藻類は蛋白質として大量の窒素原子を含み, C:Nは7以下(通常C:N:P=106:16:1 Redfield ratio)に抑えられている。多くの場合, この窒素原子は硝酸塩から同化されるため, これに

伴ってO₂が発生することになる。C:N比が約7のバイオマスが形成される場合でも,



となる。すなわち1.00 molの炭素を同化するために, 1.41 molのO₂が発生することになる(PQ=1.41)⁶⁾。微細藻類で光合成により固定されたエネルギーを考えると, CO₂の取り込みよりもO₂の発生により求められた速度の方が適切であることが分かる。

光合成速度・一次生産速度はCに基づいてCO₂濃度変化や炭素同位体の¹⁴C, ¹³Cの取り込み速度として測定されたり, O₂に基づいて溶存O₂の変化として測定されたりするが, 目的に応じて使い分けの必要がある。さらに, 粒状有機炭素やクロロフィル濃度などのバイオマスの変化(JGOFS-Protocols 参照)や人工衛星からの海色データに基づく表層のクロロフィル濃度の変化からも一次生産速度が見積もられる²⁾。

4.a.2 溶存酸素濃度の変化に基づく光合成速度の測定

溶存酸素濃度の変化を測定する方法として, 1. O₂電極法による電気的測定 2. 蛍光錯体を用いた分光学的測定 3. ウィンクラー法による化学的測定が挙げられる。ここではこれらの方法の簡単な特徴を挙げる。ウィンクラー法については次節で実際の測定法を述べる。

O₂電極法による電気的測定

O₂電極法は, 溶存酸素をクラークタイプの電極で検出する方法⁷⁾で, 上述の海中に降下するD. O.メーターにも利用されている。培養細胞などの光合成速度の測定に用いられる電極は, 薄いテフロン膜を用いることなどにより, 感度や応答性が高く, 校正を頻繁に行うことで僅かな酸素濃度の変化を正確に測定することが可能である(2.c参照)。植物の単離葉緑体を用いHill反応などの実験に用いられるのもこのタイプの測定装置である。O₂電極では測定に伴い陽極のAgが酸化され, 同時に試水中のO₂が消費される。測定条件でバックグラウンドとして電極のO₂消費速度を求めておくことや電極の内部抵抗が変化しシグナルがドリフトすることに注意する必要がある。

蛍光錯体を用いた分光学的測定

O₂電極とほぼ同じ利用法が可能なものに, 酸素濃度により蛍光強度の変化する蛍光錯体を塗布した光ファイバーセンサー(Pst3 oxygen sensor, ドイツPreSens社; <http://www.presens.de/>)がある。蛍光錯体セン

サーは0-500%大気飽和(すなわち0-100%濃度)の酸素濃度が気相でも液相でも測定可能であり、酸素濃度の時間変化をPCソフト上で詳細に追跡することが可能である。頑丈センサーは、土壤中に差し込むことも可能であり、センサー自身がO₂を消費することがないため、O₂電極よりも簡便に測定ができる。近年、呼吸などの測定に利用される例が増えている^{8),9)}。

ウィンクラー法

Winklerの化学的な溶存酸素濃度測定法を、光合成速度の測定に応用するものである。通常は4.a.3で述べる明暗瓶法での溶存O₂の測定に用いられるが、現在最も良く利用されるのは、水質の代表的指標である化学的酸素要求量(Chemical Oxygen Demand, COD)や生物化学的酸素要求量(Biochemical oxygen demand, BOD)の測定に対してである。培養前後のある時点での酸素濃度を求めるものであり、培養中の酸素濃度変化やそれにより求められる光合成速度の時間変化を見ることはできない。しかしながら、1. BODやCODの測定と機材を共有でき、機材が比較的安価であること、2. 環境中とほぼ同じ条件で長時間培養が可能であり、生物に負荷をかけることなく長時間の測定が可能である明暗瓶法に適用されること、3. 酸素濃度の測定であり、硝酸同化や呼吸も考慮できることなど、有用な点も多い。

4.a.3 ウィンクラー法と明暗瓶法による光合成測定の実際

4.a.3.1 ウィンクラー法

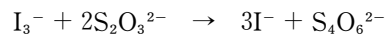
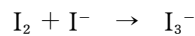
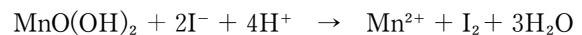
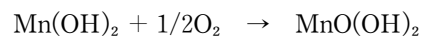
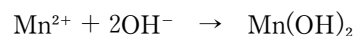
以下に述べる溶存酸素濃度の化学的測定法は、Winklerの方法を実際の光合成の測定に適用したLobbanら(1988)¹⁰⁾や渡辺(1981)¹¹⁾の方法に基づいている。

分析の原理

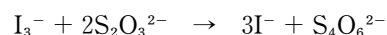
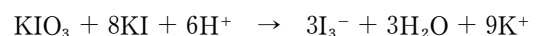
強いアルカリ性の下でMn(II)²⁺は、Mn(OH)₂の白色沈殿を形成する。この際、Mn(OH)₂は、溶存酸素と化学的に結合して、第二水酸化マンガン(MnO(OH)₂)の茶褐色の沈殿物を形成する。現場で試水に塩化マンガンとヨウ化カリ・苛性ソーダ溶液(後述)を加えて十分に反応を進めると、全ての溶存酸素はこの沈殿に取り込まれ固定される。これらの沈殿は比較的安定であり、空気から遮断した瓶中、冷暗所で一定期間保持できる。

実験室へ移動後、試水を硫酸(塩酸)でpH 1.0~2.5の酸性にすると、沈殿した水酸化物が溶解して、Mn(III)イオンが遊離し、予め加えてあったヨウ素イオンをヨウ素に酸化する。このヨウ素は、周囲の過剰なヨウ素イオンとともに錯体を形成する。この錯体が存在する間は、

平衡状態で遊離されたヨウ素により、ヨウ素・澱粉反応による青紫色の呈色が見られる。チオ硫酸イオンを加えると、この錯体は再び還元されてヨウ素イオンとなる。青紫色を消すのに必要なチオ硫酸イオンの量により、生じたMnO(OH)₂の量を求めることができる。分光器によりヨウ素錯体の紫外部の吸収を測定して、チオ硫酸イオンにより生じたヨウ素錯体の消失検出し、自動的に酸素量を求める方法もある。上記の反応に対する化学等量式は以下のとおりである。



滴定に用いるチオ硫酸塩は大気中で酸化されて、その組成が変わるので、1次標準物質(ヨウ素酸カリウム)で滴定直前に標準する必要がある。ヨウ素酸カリKIO₃を正確に秤量してメスフラスコで溶解し、正確な濃度の溶液を得る。この溶液一定体積をビーカーにとり、KIの結晶を添加すると、KIO₃一分子につき三分子のI₃⁻が生じて、溶液が赤褐色に染まる。これに適量蒸留水を加えて濃度を調整し、チオ硫酸ナトリウム水溶液で滴定すると、滴定に要した量から、チオ硫酸イオンの濃度が算出される。上記の反応に対する化学等量式は以下のとおりである。



試薬

塩化マンガン水溶液:

MnCl₂·4H₂O 150 gを蒸留水(D. W.)に溶かし、最終的に250 mlとする(塩化マンガンの代わりに硫酸マンガンを用品でも良い)。褐色のプラスチック瓶中で保存する。

ヨウ化カリ・苛性ソーダ溶液:

NaI 150 gを150 mlのD. W.に溶かす。もし、溶液の色が黄褐色に着色したら、改めて作り直す。水で冷やしながらNaOH 80 gを加え、最終的にD. W.で250 mlとする。褐色のプラスチック瓶中で保存する。

これら二溶液は試料に添加する際の作業で、試水などにより汚染され易い。使用前に、小瓶(50 ml フアルコンチューブなど)に分注して用いると良い。

濃硫酸(濃塩酸):

100 mlのD. W.に100 mlの濃硫酸(濃塩酸)(特級)をゆっくりと加えて希釈する。明暗瓶法への利用では塩酸

で代用できる場合が多いが、酸化還元反応をとともなう BOD や COD の測定には適さない。

呈色用澱粉溶液：

可溶性澱粉 0.25 g に D. W. 25 ml を徐々に加え、ガラス棒などで攪拌し糊状にする。これに沸騰した D. W. 25 ml を加えてさらに攪拌して調整する。

チオ硫酸ナトリウム：

酸素濃度や培養瓶の容量に合わせて、滴定の精度が維持できるように適切な濃度に調整する。Na₂S₂O₃・5H₂O 2.5 g を D. W. 1000 ml に溶解すると約 10 mM の溶液が調整できるが、小容量の試料に用いる際は、より希薄な溶液を用いると十分な容量を滴下できる。

ヨウ素酸カリウム標準液：

デシケーターで充分乾燥させた KIO₃ を正確に秤量し、メスフラスコ中で D. W. を加え正確に 1000 ml とする。(356.7 mg を秤量すると 10.0 mM の溶液が得られるが、この前後の重量で正確な濃度が求めれば、計算の際に補正できる)。

装置

試料固定用マイクロピペッター：1000 μl を正確に測定できるもの。チップを交換して使っても良いが、できれば塩化マンガン水溶液とヨウ化カリ・苛性ソーダ溶液用に 2 本用意する。

マグネチックスターラーと攪拌子

デジタルビュレット：先端に適切な口径のシリコンチューブを取り付けて、試料の底に直接、チオ硫酸ナトリウム溶液を入れられるようにする。

滴定箱：終点を見易くするため、白色の板などでスターラーを囲えるようにしておく。照明も終点の見やすいものを工夫する。

廃液入れ：ポリタンクにプラスチックの漏斗などをつけておく。廃液は強酸性なので注意が必要である。

操作

チオ硫酸ナトリウム溶液の濃度

- ・チオ硫酸ナトリウム溶液の入った瓶にデジタルビュレットを設置し、ビュレットの先端に硬質のシリコンチューブを接続しておく。チューブの先までチオ硫酸ナトリウム溶液を満たし、ビュレットの操作とともに先端から溶液が流れ出るようにする。
- ・マイクロピペッターまたはホールピペットを用いて、ヨウ素酸カリウム標準液 10 ml を滴定用ピーカーに正確にはかりとり、ヨウ化カリの結晶を少量加える。側壁についた標準液を洗い落とすように、約 2 ml の濃硫酸(濃塩酸)溶液を加えると、ヨウ素が生じ赤褐色になる。
- ・ピーカーにビュレットに取り付けたチューブの先端を

入れ、滴定を開始する。ピーカー中の攪拌子を回転させながら、予想される終点付近の容量までチオ硫酸ナトリウムを加えると赤褐色が薄くなる。ここで呈色用澱粉を加えると青紫に呈色する。濃い赤褐色のままです澱粉を加えると、色が消えるまでにタイムラグが生ずる場合があるので注意する。この場合、終点付近で慎重に滴定を行う必要がある。青紫色が消えるまで、さらに少量ずつチオ硫酸ナトリウムを加える。

- ・終点までに必要とした液量から濃度の決定が決定できる。
- ・攪拌子を外側から磁石などで固定し、廃液を廃液入れに集める。ピーカーを D. W. で 2 度リンスし、次の実験に用いる。リンスした廃液は廃液入れに捨てる。

酸素の固定

- ・試水を細口瓶にとる(4.a.3.2 参照)。細口瓶の蓋を取り、塩化マンガン 1000 μl とヨウ化カリ・苛性ソーダ溶液 1000 μl を加える(50-60 ml 細口瓶の場合、瓶の容量に応じて加える試薬の量は調整する)。この際、マイクロピペッターのチップの先端を水中に十分に浸し、気泡が水中に混入しないように留意する。
- ・気泡が入らないように思い切って蓋をする。躊躇しながら蓋をすると気泡が入る。気泡が入った場合にはふたを開け、再び 2 種類の試薬を加えてから、蓋をする。加えた試薬の量は記録しておく。加えた試薬の容積分だけ試水の体積が減少したと考えて計算する。
- ・気泡が入らないように注意し、強く栓を抑えながら瓶を激しく振る。十分に攪拌して全ての酸素を固定する。
- ・細口瓶は冷暗所で、(培地に合わせて)水または海水に浸けて、瓶を立てたまま静置しておく。沈殿が沈んだ時点でもう一度激しく振って、溶存酸素を完全に固定する。
- ・細口瓶を冷暗所で、(培地に合わせて)水または海水に浸けて、瓶を立てたまま静置し、6 時間以上放置する。

ヨウ素イオンの酸化

- ・沈殿を底に沈めたまま、静かに細口瓶を取り出し、口周辺の水を拭き取る。
- ・栓を開け、沈殿が上層に拡散しないよう注意しながら、静かに濃硫酸(濃塩酸) 1 ml を加え、気泡が入らないように栓をする。
- ・瓶を良く振り、全ての沈殿が溶解して溶液が褐色透明になったことを確認する。

ヨウ素イオンの滴定

- ・細口瓶から滴定用のピーカーに試水を完全に移す。硫酸で共洗いしても良い。

- ・チオ硫酸ナトリウム溶液の入った瓶にデジタルビュレットを設置し、ビュレットの先端に硬質のシリコンチューブを接続しておく。チューブの先までチオ硫酸ナトリウム溶液を満し、ビュレットの操作とともにチューブの先端から溶液が流れ出る様にする。
- ・ビーカーにビュレットに取り付けたチューブの先端を入れ、滴定を開始する。
- ・ビーカー中の攪拌子を回転させながら、予想される終点付近の容量までチオ硫酸ナトリウムを加える。ここで呈色用澱粉を加え、青紫色が消えるまでさらに少量ずつチオ硫酸ナトリウムを加える。終点までに必要とした液量から濃度の決定が決定できる。
- ・攪拌子を外側から磁石などで固定したまま、廃液を廃液入れに集める。強い酸性であることに注意する。集めた廃液は炭酸水素ナトリウム（工業用の安価なものでかまわない）を過剰に加えて、弱アルカリ性にしてから廃棄する。

4.a.3.2 明暗瓶法

原理

明暗瓶法は二本の瓶に光合成生物を含む試料を封入し、一本に光を当てて光合成を行わせ(明瓶)、もう一本の瓶を遮光して光合成を行わずに(暗瓶)、適切な時間培養する方法である。その間に二本の瓶に生じた差から光合成速度が求められる。通常は明瓶、暗瓶ともに各三本以上用いる。培養開始時の状態を測定するために、明瓶暗瓶以外にもう一組の瓶を用意することもある。光合成により生じる変化として、溶存酸素濃度、溶存無機炭素濃度、 ^{13}C や ^{14}C の生物(懸濁粒子)への取り込み、生物量(クロロフィル濃度)の変化などが測定される。この変化は単位容積あたり、単位生物量あたりの変化に換算され、単位時間あたり(時、日、年)の速度として求められる。瓶中の環境変化が光合成や呼吸に影響を与えないよう、試料の濃度や培養時間は十分に考慮する必要がある。海洋や湖沼の単位面積あたりの生産速度に換算されることもある。海洋や湖沼の現場培養に関しては JGOFS protocols を参照していただきたい。ここでは実験室において液体培地中で培養中の微細藻類の1日の光合成速度を求める方法を例示する。

材料

培養中の微細藻類：培地 2000 ml 中で対数増殖期にある細胞を用いる。

低速スターラーと攪拌子

シリコンチューブ(直径 5 mm 程度) 50 cm

プラスチックバット

共栓付き細口試薬瓶：希塩酸に1日以上つけて重金属を

除き、十分に洗浄したもの。乾燥重量と D. W. を満たした状態の重量の差から、容積を正確に求めておく。測定した際の共栓と瓶の対応付けをしておく。12 本

温度制御可能な水槽：培養中に空気が入らないように、培地の基質(水や海水)を入れておき、培養温度と同じ温度にしておく。

照明：培養に用いている照明を使う。光強度は適切に調整する

方法

- ・培養中の微細藻類をスターラーで静かに攪拌し、均一に混ぜる。
- ・シリコンチューブを用いて、サイフォンで細口瓶に微細藻類を移す。チューブの先端を瓶の底付近まで差し込んで、培地を流入させる。
- ・細口瓶はバットの上に置く。瓶に培地が充たされてもそのまま移動を続け、瓶の上部より培地をあふれさせる。瓶の容積の2倍程度あふれたところで、チューブを取り出しながら送液を停止する。
- ・細口瓶 12 本に順次培地とそれに含まれる微細藻類を充たす。
- ・気泡が入らないように注意しながら、すべての瓶に栓をする。
- ・12 本から無作為に 4 本ずつ選び、3 組に分ける。
- ・1 組に黒色ビニール(アルミホイル)を巻き遮光する。もう一組とともに水槽に立てたまま沈め、照明を当てて培養を開始する。
- ・残った一組(イニシャル瓶)のうち三本にウィンクラー法の試薬を添加して、溶存酸素を固定する。残りの一本はバイオマスの測定に用いる。(濾過後、有機溶媒で抽出し、蛍光法や分光法でクロロフィル濃度を決定する。細胞あたりの速度を算出する場合には、細胞密度を顕微鏡観察で求める。)
- ・培養後、明瓶と暗瓶、各三本で溶存酸素を固定し、残った各一本でバイオマスを測定する。
- ・培養中に生じた明瓶とイニシャル瓶の差、暗瓶とイニシャル瓶の差から純光合成量と呼吸量を求める。
- ・培養後のバイオマスの変化を考慮し、培養期間中に対数増殖していることを仮定して、培養期間中の平均バイオマスを求める。
- ・光合成量と呼吸量を培養時間と平均バイオマスで換算して、単位生物量、単位時間あたりの純光合成速度(P_n)と呼吸速度(R)とし、両者から総光合成速度(P_g)を算出する。
- ・明暗周期をつけて培養している場合には、この周期にあわせて実験を行う。暗期の呼吸を同様に求めると、

1日あたりの Pn, R, Pg を求めることが出来る。

参考文献

- 1) The Carbon Cycle (Office for Interdisciplinary Earth Studies Global Change Institute, Volume 6), ed. T. M. L. Wigley, D. S. Schimel, Cambridge Univ Pr (Sd), 2000, p. 38-49.
- 2) Aquatic photosynthesis, Paul G. Falkowski, John A. Raven, Blackwell Science, 1997, p.1-32.
- 3) Biological oceanography, Carol M. Lalli and Timothy R. Parsons, Oxford [England]; Butterworth Heinemann, 1997.
- 4) Light and photosynthesis in aquatic ecosystems, John T. O. Kirk, Cambridge: Cambridge University Press, 1994.
- 5) Polar Marine Diatoms, Linda Medlin, Julian Priddle, Balogh Scientific Books, 1990.
- 6) Algal photosynthesis, Richard J. Geider and Bruce A. Osborne, New York: Chapman and Hall, 1992.
- 7) The use of the oxygen electrode and fluorescence probes in simple measurements of photosynthesis, David Walker, Oxygraphics Ltd, 1990
- 8) New and Fast Method To Quantify Respiration Rates of Bacteria and Plankton Communities in Freshwater Ecosystems by Using Optical Oxygen Sensor Spots, Mareike Warkentin, Heike M. Freese, Ulf Karsten, and Rhen Schumann, APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Nov. 2007, p.6722-6729.
- 9) A new method for continuous measurements of O₂ in surface water in combination with pCO₂ measurements: Implications for gas phase equilibration, B. Schneider, B. Sadkowiak, F. Wachholz, Marine Chemistry **103** (2007) 163-171
- 10) Experimental phycology, [edited by] Christopher S. Lobban, David J. Chapman, Bruno P. Kremer; sponsored by the Phycological Society of America, Cambridge; Cambridge University Press, 1988. p.64-82.
- 11) 水圏における光合成および一次生産の測定法, 渡辺泰徳, 光合成研究法(加藤栄, 宮地重遠, 村田吉男編), 共立出版株式会社, 1981, p.110-138.