

東京大学大学院新領域創成科学研究科
環境学研究系自然環境学専攻
地球海洋環境学分野

2009 年度

修士論文

酸性化海水がサンゴの石灰化および
骨格の微量元素比に与える影響

Effects of acidified seawater on calcification and
trace elements of coral skeletons

2010 年 1 月 29 日提出

2009 年度 3 月修了

指導教官 川幡穂高 教授

086613 小崎 沙織

目次

I. 序論

- 1.1 海洋酸性化と造礁サンゴ
- 1.2 古環境復元のプロキシとしてのサンゴ骨格
- 1.3 目的

II. 材料と方法

2.1 サンゴの水槽飼育実験

2.1.1 水槽飼育実験の概要

- A. 精密 $p\text{CO}_2$ 制御装置によるコユビミドリイシ幼サンゴ飼育実験
- B. 精密 $p\text{CO}_2$ 制御装置によるコユビミドリイシ成体飼育実験
- C. 簡易 pH 制御装置によるハマサンゴ飼育実験

2.1.2 採集とサンゴ片の作成

- A. コユビミドリイシ幼サンゴ
- B. コユビミドリイシ成体
- C. ハマサンゴ

2.1.3 飼育実験装置の概要

- 2.1.3.1 精密 $p\text{CO}_2$ 制御装置 (AICAL 装置)
- 2.1.3.2 簡易 pH 制御装置

2.1.4 その他の実験条件と方法

- 2.1.4.1 海水
- 2.1.4.2 水温、水流
- 2.1.4.3 光量
- 2.1.4.4 pH
- 2.1.4.5 飼育水槽と実験装置のメンテナンス
- 2.1.4.6 炭酸系パラメータ

2.2 生物学的評価

- 2.2.1 骨格成長量測定
- 2.2.2 PAM 蛍光測定
- 2.2.3 褐虫藻密度、クロロフィル量測定

2.3 骨格分析（微量元素比）

2.4 統計解析

III. 結果

3.1. 飼育期間中の水温、炭酸系パラメータ

3.2. 石灰化量

3.3. 光合成パラメータ

3.4. 骨格分析（微量元素比）

IV. 考察

4.1 酸性化海水が造礁サンゴの石灰化に及ぼす影響

4.2 酸性化海水が骨格の微量元素比に与える影響

V. 結論

VI. 参考文献

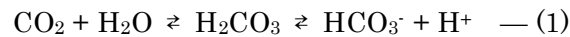
VII. 謝辞

VIII. 図表

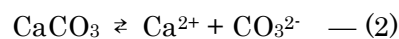
I. 序論

1.1 海洋酸性化と造礁サンゴ

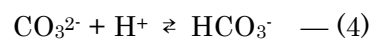
近年、人間活動による大気中の二酸化炭素濃度上昇によって、地球温暖化と共に海洋酸性化が地球環境問題の一つとして注目されている (Hoegh-Guldberg et al., 2007)。大気中の二酸化炭素濃度が上昇すると、海洋への二酸化炭素吸収が促進され、海洋表層の二酸化炭素分圧 ($p\text{CO}_2$) が上昇する。海洋へ溶け込んだ二酸化炭素は、水と反応して炭酸を形成し、さらに解離して水素イオンを放出するため、海洋表層の pH が低下する (式(1))。



気候変動に関する政府間パネル (IPCC) 第 4 次報告書 (2007) によれば、現在大気中の二酸化炭素濃度は毎年 0.5% 上昇しており、2065 年には産業革命前の 2 倍の二酸化炭素濃度になると予測されている。また、Caldeira and Wickett (2003) は、産業革命前と比べ現在の海洋表層 pH はすでに 0.1 ほど低下しており、2300 年には海洋表層 pH が最大で現在よりも 0.7 低下すると報告した。このような海洋の pH の急激な低下は、過去 42 万年間では起こらなかった現象であり (Hoegh-Guldberg et al., 2007)、海洋生態系への影響が懸念されている。特に影響を強く受けると考えられているのは、炭酸カルシウム骨格を形成する石灰化生物である。石灰化生物は、海洋中に存在するカルシウムイオン (Ca^{2+}) と炭酸イオン (CO_3^{2-}) を使って炭酸カルシウム骨格を形成する (式(2))。炭酸カルシウム飽和度は、下記の式 (3) で定義され、海洋中のカルシウムイオン濃度は概ね一定であるため炭酸イオン濃度に強く依存する。しかし、海洋酸性化が進行すると上記の式 (1) で放出された水素イオンと炭酸イオンが反応して炭酸水素イオンが形成されることにより、海洋中の炭酸イオン濃度が低下し (式(4))、また炭酸カルシウム飽和度も低下する。



$$\Omega = [\text{Ca}^{2+}][\text{CO}_3^{2-}] / K_{\text{sp}} \quad \text{— (3)}$$



炭酸カルシウムを形成する海洋生物では、貝類、有孔虫、翼足類、円石藻、石灰藻など様々な生物が挙げられるが、熱帯・亜熱帯に広がるサンゴ礁生態系において、今後の海洋酸性化の影響が特に懸念されているのは造礁サンゴ (以下サンゴ) である。サンゴは、その大部分が刺胞動物門花虫綱六放サンゴ亜綱イシサンゴ目に属し、体内に褐虫藻と呼ばれる渦鞭毛藻を共生させている。この褐虫藻は光合成によってサンゴの貴重な栄養源となる有機物を生産し、さらにサンゴの石灰化を促進する働きを持っている。全海洋のわずか 0.2% を占めるサンゴ礁に海洋生物の 25% が生息していると言われており、その基盤をなすのがサンゴである。また、サンゴ礁は全球の炭素循環に寄与しているとも言われ (Suzuki and Kawahata, 2003)、サンゴの石灰化はサンゴ礁生態系において重要な役割を担っている。

Orr et al. (2005) は、サンゴの生息する低緯度海域の炭酸イオン濃度に関して、高緯度海域よりも濃度は高いものの、産業革命前から現在までの低下は $29 \mu\text{mol/kg}$ であり、高緯度海域の低下 ($18 \mu\text{mol/kg}$) よりも急激であると指摘している。そして 2100 年には、 $149 \pm 14 \mu\text{mol/kg}$ と産業革命前と比べ 45%の低下を予測している。

また、海洋酸性化の影響が実際に現生のサンゴ礁に現れていることを示唆する研究も報告されている。オーストラリアのグレートバリアリーフ (GBR) で 2 つの海域から採集した 38 群体の塊状ハマサンゴの骨格を分析したところ、16 年間で約 20%の石灰化の低下が確認された (Cooper et al., 2008)。さらに、De'ath et al. (2009) は、同じ GBR で 69 の海域から 328 群体の塊状ハマサンゴを採集し調査した結果、過去 400 年間安定していた石灰化速度が 1990 年から急激に 14.2%低下していることを明らかにした。野外では、物理的、化学的、生物学的なあらゆる要因が相互に絡み合った複合ストレスの影響が考えられ、野外におけるサンゴの石灰化の低下を海洋酸性化のみに関連づけることは難しい。しかし、モデル計算や環境を制御した室内実験により、近年確認されるサンゴの石灰化速度の低下の原因として海洋酸性化が主要な要因となっていることは認識されつつある。

海洋酸性化がサンゴへ及ぼす影響については、室内水槽実験からメソコスム実験まで、これまで数多くの研究がなされてきている (e.g. Gattuso et al., 1998; Marubini et al., 2003; Leclercq et al., 2002; レビューとして Kleypas et al., 2006; 諏訪ら, 2010)。多くの実験結果から、酸性化海水がサンゴの生育に負の影響を及ぼすことが報告されているが、それらの影響の度合いは幅広く、矛盾した結果も得られている。その原因として、対象サンゴ種、酸性化海水の調整の方法 (二酸化炭素ガスまたは薬品添加)、実験期間、季節性など様々な実験条件の違いが挙げられる。また、海水中の CO_2 濃度が上昇し、炭酸系組成が変化することで、サンゴの体内に共生している褐虫藻の光合成の効果が増し、石灰化が促進されることも示されている (Marubini et al., 2008)。このように褐虫藻への影響等も考慮しながら、将来予測される海洋酸性化がどの程度サンゴに影響するのかをより正確に見積もるためには、環境要因を精密に制御した飼育実験による評価が不可欠である。

また海洋酸性化の影響について、サンゴの生活史全体への影響を評価することも重要である。海洋生物の初期生活史は、周囲の環境変動をより受けやすいことが指摘されている (Kurihara, 2008)。例えば酸性化海水によって、ウニや二枚貝の幼生の奇形、サンゴの精子鞭毛運動の低下などが報告されている (Morita et al., 2009)。しかし、サンゴ成体の影響評価に比べ、サンゴの初期生活史への海洋酸性化の影響についての知見は未だ十分でない。また、同種で成体と幼体への影響を評価した研究も行われていない。

1.2 古環境復元のプロキシとしてのサンゴ骨格

サンゴ骨格は、古環境を復元する上で非常に有用であることが知られている。サンゴは成長速度が速く、特に塊状のハマサンゴ属は数百年にわたって生存するものもあり、その骨格は長期の環境記録を保持している。骨格は、サンゴ体液や海水中から各種元素や有機物を取り込むため、特定の環境条件が記録されている。また、成長軸に沿って樹木に似た年輪を形成するため、高い時間分解能での復元が可能である。一方で、サンゴが生息する熱帯域では測器による過去の環境記録が不足しており、サンゴ骨格は過去の環境を復元する上で貴重な試料である。こうした背景を元に、これまで古環境復元のプロキシとしてサンゴ骨格の研究が数多く進められてきた。

まず始めに期待されたのが海水温の復元である。エルニーニョ・南方振動や西太平洋暖水塊は熱帯域の固有振動であるが、周期性を持つことが知られており、そのメカニズムを解明するには熱帯域の海水温や降雨量の変動を知ることが重要である。骨格形成時の水温指標としては、酸素同位体比 ($\delta^{18}\text{O}$) が最も広く研究されてきた。しかし、塩分（海水の酸素同位体比）や骨格成長速度 (Suzuki et al., 2005) にも依存することが分かってから、新たな古水温計として微量元素比が注目されている。これまで Sr/Ca 比、Mg/Ca 比、Ba/Ca 比、U/Ca 比などが水温の間接指標として有用性が期待されている。これらの微量元素は海水中の濃度変動がほとんどないため、特定の環境要因によって骨格への取り込み量が増減すると考えられる。その中でも、Sr/Ca 比は水温のみに依存することが明らかになってきており、より精密な水温指標として実際に化石サンゴを用いた古環境の復元の試みがされている。

近未来における海洋酸性化の問題が深刻化されている現在、過去の海洋の pH 変動を復元することは急務である。これまで海水の pH の間接指標として、ホウ素の同位体比 ($\delta^{11}\text{B}$) が注目され研究が進められている (Reynaud et al., 2004; 鈴木ら, 2007)。しかし、ホウ素同位体比の測定は表面電離型質量分析法 (TIMS) など高精度な測定法が必要であるため、誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) や誘導結合プラズマ発光分光分析法 (ICP-AES) を用いた、より簡便に測定可能な微量元素の間接指標としての有用性に期待がかかる。骨格組成の評価には環境要因を制御した飼育実験が必須であるが、海水の pH の間接指標となる微量元素は未だ確立されていないのが現状である。

1.3 目的

以上の背景を元に、本研究では二つの目的を挙げる。

- ・ 近未来（～今世紀末）に想定される海洋酸性化がサンゴの石灰化に及ぼす影響の解明
- ・ 古環境復元に応用可能な海水のpH（pCO₂）の間接指標となる微量元素の検討

本研究では、サンゴ礁域の浅瀬に生息する普通種であるコリンボース型の枝状群体のコユビミドリイシ *Acropora digitifera* と塊状群体のハマサンゴ *Porites australiensis* を対象サンゴ種とした。一般に、ミドリイシ属は成長速度が速く飼育しやすい特徴を持ち、これまでの室内実験で多く扱われている種である。また、配偶子が得られやすく、変態ペプチドによる幼サンゴ作成も可能であるため（Iwao et al., 2002）、環境変化をより受けやすいであろう初期生活史段階の石灰化の評価に適している。一方、塊状のハマサンゴ属は成長速度が比較的遅いことから実験対象としてあまり扱われていないが、寿命が長く数百年以上にわたる記録を骨格に保持する群体が自然界に存在するため、古環境復元に広く利用されている種である。

これら二種のサンゴを対象とし、異なるpCO₂環境下で他の環境要因を一定に制御したサンゴの精密飼育実験を行い、酸性化海水がサンゴの石灰化および骨格の微量元素比に与える影響の解明を試みた。

II. 材料と方法

2.1 サンゴの水槽飼育実験

2.1.1 水槽飼育実験の概要

サンゴの採集および水槽飼育実験は、琉球大学熱帯生物圏研究センター瀬底研究施設（以下、瀬底研究施設）にて行った（Fig. 1）。

A. 精密 $p\text{CO}_2$ 制御装置によるコユビミドリイシ幼サンゴ飼育実験

コユビミドリイシを対象種とし、幼生を変態誘引して得られた幼サンゴを、精密 $p\text{CO}_2$ 制御装置によって海水の $p\text{CO}_2$ を 300、400 (control)、600、800、1000ppm の 5 段階に設定した条件下で、10 日間（実験期間：2009 年 7 月 1 日～7 月 11 日）水槽内で飼育した。水温 27°C 、光量 $50\sim 60 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ とした。

B. 精密 $p\text{CO}_2$ 制御装置によるコユビミドリイシ成体飼育実験

コユビミドリイシを対象種とし、海水の $p\text{CO}_2$ を 300、400 (control)、600、800、1000ppm の 5 段階に設定した条件下で、4 週間（実験期間：2009 年 7 月 21 日～8 月 17 日）水槽内で飼育した。水温 27°C 、光量 $80\sim 90 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ とした。

C. 簡易 pH 制御装置によるハマサンゴ飼育実験

ハマサンゴを対象種とし、海水の pH を 7.4、7.6、8.0 (control) の 3 段階に設定した条件下で、8 週間（実験期間：2009 年 9 月 17 日～11 月 11 日）水槽内で飼育した。水温 27°C 、光量 $120\sim 140 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ とした。

2.1.2 採集とサンゴ片の作成

A. コユビミドリイシ幼サンゴ

2009 年 6 月 1 日に沖縄県北部瀬底島南端の礁池において、スキューバ潜水により、成熟サイズ（直径 20cm 以上）に達したコユビミドリイシの群体を 10 群体採集した。断片化によってできた同一クローン群体の採集を避けるため、10m 程度の間隔をあけて採集を行った。採集した群体は、瀬底研究施設の屋外水槽に静置した。

6 月 11 日に産卵した 5 群体からバンドルを採集し、採集したバンドルすべてを掛け合わせて受精させ、48 時間後に幼生を得た。幼生は、実験開始日まで閉鎖水槽内で飼育を行い、1 日に 1 回程度 $180 \mu\text{m}$ のプランクトンネットを用いて水換えを行った。

実験開始日の3日前に、変態誘引物質を用いた幼生変態能力の確認のための予備試験を行った。変態誘引物質は、ペプチド Hym-248 (Iwao et al., 2002) を滅菌海水 (<22 μ m、MFSW) に溶かし、濃度を 2×10^{-4} M に調整し使用した。6 穴プレート内でペプチド Hym-248 20 μ L に、マイクロピペットを用いて幼生が 4 匹以上入るように海水を 20 μ L 加えた。24 時間後に幼生の変態および着底が確認されたため、本実験用のプレート作成を行った。6 穴プレートを 5 プレート作成し、1 穴に幼生が 20 匹前後着底するように変態誘引を行った (Fig. 2 (a), (b), (c))。着底を確認した後、プレートをランダムに選び、各 pCO₂ 処理区内の実験水槽に設置した。

B. コユビミドリイシ成体

採集は、2009 年 7 月に瀬底研究施設前の礁池においてスノーケルで行った。断片化によってできた同一クローン群体の採集を避けるため、10m 程度の間隔をあけ、ニッパーを用いて 21 群体から枝を採集した。

採集した枝片は、中軸ポリブを残して 2~3cm の長さで切断し、瞬間接着剤（アロンアルファ、東亜合成（株））でプラスチックねじに固定し、屋外水槽で約 2 週間養生させた (Fig. 2 (a), (e), (f))。養生後、21 群体からそれぞれ 5 本をランダムに選び、各 pCO₂ 処理区内の実験水槽に設置した。

C. ハマサンゴ

採集は、沖縄県北部にある瀬底大橋の下で 2009 年 8 月の大潮の干潮時に行った。鋸とタガネを用いて、種同定済み（島田, 2008 (Veron, 2000 による)）の群体を 3 群体採集した。

採集したハマサンゴは、木工用バンドソーを用いて大きさが約 2×2cm となるように切り出し、瞬間接着剤（アロンアルファ、東亜合成（株））で 3×3cm のアクリル板に固定した。骨格分析用の成長部分を得るために、アクリル板に沿って骨格が成長していくように固定した。作成したサンゴ片は、屋外水槽で約 3 週間養生させた (Fig. 3 (a), (b))。養生後、3 群体からそれぞれ 30 片をランダムに選び、養生中に成長した部分を削り取った後、各 pH 処理区内の実験水槽に設置した。

2.1.3 飼育実験装置の概要

本研究では、2 種類の $p\text{CO}_2$ または pH 制御装置を使用した。

2.1.3.1 精密 $p\text{CO}_2$ 制御装置 (AICAL 装置) (Fig. 4 (a), (b))

精密 $p\text{CO}_2$ 制御装置 (AICAL 装置) は、二酸化炭素ガスの供給によって海水の二酸化炭素分圧を調整し、その誤差を数十 ppm 以下で精密に制御できる装置 (紀本電子工業 (株)) である。本実験では、産業革命以前から今世紀末に予測されている $p\text{CO}_2$ 値である 300、400 (control)、600、800、1000ppm の 5 段階に設定した。装置に送り込まれた海水は、二酸化炭素ガスの添加によって設定した各 $p\text{CO}_2$ 濃度に調整され気液平衡に達した後、ペリスタポンプによって流量毎分 150 ml のかけ流しで、飼育水槽 (12L、GEX 製マリーナガラス水槽 S : 315×185×244mm) に供給した。飼育実験期間中、1 時間ごとに装置内で調整された海水の $p\text{CO}_2$ 値を自動的に記録した。

2.1.3.2 簡易 pH 制御装置

簡易 pH 制御装置は、精密 $p\text{CO}_2$ 制御装置と同様に海水に二酸化炭素を供給し、簡易 pH 計によって海水の pH を制御する装置 (上記の精密 $p\text{CO}_2$ 制御装置に対して「簡易」と呼称する) である。具体的には、二酸化炭素流量制御用の電磁弁 ((株) アクアベース、100V 交流電源用) を取り付けた液化炭酸ガスボンベから二酸化炭素を供給し、簡易 pH 計 (Micro pH、(株) アクアベース) によって海水の pH を一次水槽にて調整した。各 pH に調整された一次水槽の海水は、ペリスタポンプ (MASTER FLEX, Cole-Parmer Instrument Company) によって流量毎分 200mL のかけ流しで、飼育水槽 (12L、GEX 製マリーナガラス水槽 S : 315×185×244mm) に供給した。本実験では、飼育水槽の pH が pH7.4、7.6、8.0 (control) の 3 段階になるように設定した。

2.1.4 その他の実験条件と方法

2.1.4.1 海水

瀬底研究施設前から採水した生海水を孔径 $10\mu\text{m}$ と $1\mu\text{m}$ のフィルター (ポリプロピレン製、オルガノ (株)) でろ過し、実験に使用した。

2.1.4.2 水温、水流

飼育水槽の水温は、沖縄の夏季平均水温に近い 27°C に設定した。水槽内にデジタルサーモスタット (POWER THERMO ET-30B, ET-30、コトブキ (株)) を

設置し、設定水温より高くなった場合にヒーター（MICRO SAFE POWER-HEATER 150、（株）EVERES）が作動するようにした。また、飼育水槽を大型浴槽に入れ、クーラー（ZENSUI、NISSO）によって冷却水を循環させ、外側から水温の冷却を行った。

各水槽内には、水温ロガー（サーモクロンSL、KNラボラトリーズ）を設置し、30分毎に水槽内の水温を記録した。また、防水型電子温度計（SATO）により、週に2回水温の計測を行った。

各水槽内の水温を一定にし、またサンゴの健康状態を維持するためには適度な水流が必要であるため（Nakamura et al., 2005）、水中フィルターポンプ（MINI BOX 120、コトブキ（株））を入れ、海水を循環させた。

2.1.4.3 光量

光量は、メタルハライドランプ（FUNNEL 2 150W、カミハタ）を使用した。照射時間は、12時間ごとの明暗周期（午前7時から午後7時まで点灯）とした。週に2回、光量子計（QSL2100、Biospherical Instruments Inc.）を用いて測定を行い、設定光量の確認を行った。

2.1.4.4 pH

週に2回、簡易 pH 計（713 pH meter、Metrohm）で飼育水槽の海水の pH の測定を行った。毎回の測定時には、標準溶液として NBS scale と Seawater scale の Tris と AMP（Dickson et al., 2007）を用いて較正を行い、pH は Seawater scale で算出した。

2.1.4.5 飼育水槽と実験装置のメンテナンス

約2週間に1回の頻度で、飼育水槽内に付着した藻を除去するため水槽掃除を行った。またサンゴ片に付着した藻も、約3日に1回程度、歯ブラシ等を用いて適宜除去した。

各飼育実験期間の間に、実験装置内の掃除および部品の交換等を行った。

2.1.4.6 炭酸系パラメータ

飼育海水の炭酸系各種パラメータは、化学平衡計算プログラム CO₂ SYS（Lewis and Wallace, 1998）を用いて算出した。

2.2 生物学的評価

2.2.1 骨格成長量測定

成体サンゴ片の骨格成長量は、水中重量法によって計測した (Davies, 1989, Fig. 5 (a))。本実験では、床下秤量が可能な電子天秤 (PL303、METTLER TOLEDO (株)、最小表示0.001 g) に釣り糸でサンゴ片をつるし、天秤の下に海水を満たした水槽を設置し、海水中で重量の測定を行った。

サンゴ骨格の比重は2.94と海水に比べ重く、一方サンゴ組織や粘液は海水の密度に非常に近い比重であり、サンゴ全体に占める割合も小さい。そのため、海水中でサンゴの重さを測定した場合、サンゴの組織や粘液の重量は無視することができ、ほぼサンゴ骨格の重量のみが得られる。操作が単純で非破壊的であるため、サンゴの成長の経時変化を見る場合には適している。

測定した水中重量の値から骨格成長率を求め、成長率とした。

$$\text{骨格成長率 (\%)} = \text{実験期間中の重量変化} / \text{実験開始時の重量} \times 100$$

測定は、飼育実験開始前と実験期間中および終了後に行い、実験期間中は週に1回行った。

幼サンゴは、実験終了後、ウォーターピック (EW1250-W、National 社) で組織を剥離し乾燥させた後に (Fig. 2 (d))、プレートから骨格が崩れないよう剥がし取り、マイクロ重量天秤 (Cahn C-35、Thermo 社) によって骨格重量を測定した。各 pCO₂ 処理区につき、プレートからランダムに選んだ計 60 試料の骨格重量の測定を行った。

2.2.2 PAM 蛍光測定

成体サンゴ片について、Diving-PAM Underwater Fluorometer (Walz 社) を用いて光合成活性指数 (Fv/Fm) を測定した。測定 1 時間前にサンゴ片を暗条件下に静置した。コユビミドリイシは飼育実験開始前と実験期間中および終了後に測定を行い、実験期間中は隔週に行った。ハマサンゴは実験終了後に行った。

2.2.3 褐虫藻密度、クロロフィル量測定

成体サンゴ片について、単位面積あたりの褐虫藻密度とクロロフィル量の測定を行った。コユビミドリイシは実験開始前と終了後に、ハマサンゴは実験終了後に行った。

コユビミドリイシは枝片の中間部約 1 cm をニッパーで切断し、ハマサンゴは 1cm×1cm の穴の開けたアルミホイルをサンゴ片に貼り付けた。サンゴ片をユニパックの中に入れ、ウォーターピックでろ過海水 (>1 μm) を用いて、組織を剥離した (Fig. 5 (b))。剥離した組織が懸濁した海水を、ホモジェナイザー (1800 rpm、Iuchi 社) で攪拌し (Fig. 5 (c))、懸濁液を遠心分離機 (Sorvall RT 7 Legend Centrifuge、GMI 社) を用い、3000 rpm×5 min で沈殿させた。上澄み液を捨て、10 ml の新し

いろ過海水を加えボルテックスで攪拌、遠心分離の作業を3回繰り返した後、再び10 mlのろ過海水を加え、褐虫藻のカウントおよびクロロフィル量の測定を行った。

褐虫藻のカウントには、光学顕微鏡（CX-31、×40、オリンパス社）、血球計算盤（Thoma、Erma社）を用いた。3回のカウントを行い、その平均値を結果に示した。

クロロフィル量測定は、10 ml の懸濁液を遠心分離機により再び沈殿させ、1.5 ml のエッペンドルフチューブに移し変えた。上澄み液を捨てた後、アセトン（90 %）を1 ml 加え、4 °C以下で24時間以上静置した。測定は、紫外可視分光光度計（UV-1800、（株）島津製作所）を用いて行った。クロロフィル量はJeffrey and Humphery（1975）の下記の計算式を用いて吸光度から1 cm²あたりの量として算出した。

$$\text{Chlorophyll a} = 11.43E_{663} - 0.64E_{630}$$

$$\text{Chlorophyll c1+c2} = 27.09E_{630} - 3.63E_{663}$$

ここで、E₆₃₀、E₆₆₃ はそれぞれ波長630 nm、663 nm での吸光度である。本実験では、630 nm、663 nm、750 nm の3 波長について吸光度を測定した。測定後にReferenceである750 nm の測定値を差し引いて、上記の式に代入してクロロフィル量を求めた。

2.3 骨格分析（微量元素比）

骨格分析は、独立行政法人産業技術総合研究所にて行った。

飼育実験終了後、ウォーターピックを用いてサンゴ片から組織を剥離し、骨格のみにした。成体サンゴは、実験期間中に成長した部分をデンタルドリルで削り、mili-Qで超音波洗浄した後、メノウ乳鉢で粉末状にして分析に供した。1サンプルにつき、コユビミドリイシは150 μg、ハマサンゴは80 μg、幼サンゴは1ポリブを使用した。

秤量した分析用の試料を、内部標準としてSc、Y、Biを加えた2%の硝酸溶液10mlに溶解させ、誘導結合プラズマ質量分析装置 ICP-MS (Model 4500, Hewlett Packard社) で測定を行った。対象元素をMg、Ca、Sr、Ba、Uの5種類とし、Mg/Ca比、Sr/Ca比、Ba/Ca比、U/Ca比を求めた。標準試料として、サンゴの標準試料JCp-1（独立行政法人産業技術総合研究所地質調査総合センター、Okai et al., 2002）を使用し、5試料毎に1回の間隔で測定を行った。

2.4 統計解析

統計解析は、すべて統計解析ソフトウェア JMP7.1.2（SAS Institute Japan（株））を用いて行った。

III. 結果

3.1 飼育期間中の水温、pH、炭酸系パラメータ

飼育実験期間中の水温変化、pH 測定の結果、およびそれらの結果を元に算出した飼育海水の炭酸系パラメータの結果を示す。

3.1.1 水温

データロガーによる各飼育期間中の水温変化を Table 1 に示す。水温は、どの飼育期間でも $27^{\circ}\text{C} \pm 0.1 \sim 0.7^{\circ}\text{C}$ の誤差範囲であり、水槽掃除の間を除いては一定した水温を維持することができた。

3.1.2 pH

飼育期間中週 2 回、飼育水槽中の海水の pH 測定を行った。各飼育期間中の測定結果を Table 1 に示す。飼育期間中の pH-sws の誤差範囲は、 $\pm 0.01 \sim 0.04$ に収まっており、pH 測定の結果からも海水の pCO_2 が安定して維持されていることを確認した。

3.1.3 炭酸系パラメータ

各飼育期間中の水温、pH、および AICAL 装置内で記録された pCO_2 のデータを元に、 CO_2 SYS による飼育海水の炭酸系パラメータを算出した。瀬底研究施設の屋外水槽での採水分析によって得られた夏季の塩分 (Salinity : 34.5)、また 2009 年 8 月 24 日に行った飼育水槽から採水した分析結果による全アルカリ度 (TA : $2230 \mu\text{mol/kg}$) を用いた。各飼育実験の炭酸系パラメータ (pCO_2 , HCO_3^- , CO_3^{2-} , Ω_{arag}) の結果を Table 1 に示す。

AICAL 装置による飼育期間中の pCO_2 の誤差範囲は $\pm 17 \sim 78 \text{ppm}$ と、概ね安定した pCO_2 が維持できた。

3.2 石灰化量

異なる酸性化海水下で行った各飼育実験のサンゴの石灰化量を幼サンゴは骨格重量から、成体サンゴは骨格成長率から求めた。統計解析の結果は Table 4 に示した。

A. コユビミドリイシ幼サンゴ

酸性化海水中で飼育した 10 日後の幼サンゴの骨格重量は、 $p\text{CO}_2$ の上昇に伴って一定した減少傾向を示し、各 $p\text{CO}_2$ の処理間で有意差が見られた (Fig. 6, Table 2 (a))。多重比較検定を行った結果、300ppm および 400ppm と 800ppm に有意な差が見られた (one-way ANOVA, $F_{4,299} = 9.97$, $p < 0.05$, *post hoc* Tukey-HSD test)。骨格重量は $47.8 \sim 154.8 \mu\text{g}$ と全体的に幅広く (標準偏差 = $15.6 \sim 19.5$)、個体による成長差が見られた。

B. コユビミドリイシ成体

酸性化海水中で飼育を行った 4 週間後のコユビミドリイシの成体サンゴ片の骨格成長率を Fig. 7、Table 2 (b) に示す。飼育期間中に死亡したサンゴ片があり、それらは除去して、実験終了後までに生存したサンゴ片から骨格成長率を求めた。最終的なサンプル数は、Table 2 (b) に記載した。 $p\text{CO}_2$ による成長率の変化は見られず、群別別に見てみるとそれぞれ成長率は異なったが、どの群体に関しても $p\text{CO}_2$ に対して成長率の有意な上昇または低下は見られなかった。

C. ハマサンゴ

酸性化海水中で飼育を行った 8 週間後のハマサンゴのサンゴ片の骨格成長率は、pH の低下に伴い有意な低下が見られた (two way-ANOVA, $F_{8,89} = 21.24$, $p < 0.05$, *post hoc* Tukey-HSD test, Fig. 8, Table 2 (c))。すべての群体について pH に対する骨格成長率の有意な低下が確認されたが、群体によって成長率は異なり、群体間でも有意差が見られた。

3.3 光合成パラメータ（光合成活性指数、褐虫藻密度、クロロフィル量）

飼育期間前、飼育期間中および期間後に行った、コユビミドリイシとハマサンゴの成体の光合成パラメータの結果を示す。統計解析の結果は Table 5 に示した。

B. コユビミドリイシ

飼育期間中のPAM蛍光測定による光合成活性指数の結果をFig. 9に示す。飼育期間中に死亡したサンゴ片を除き、各pCO₂処理区ですべて生存した11群体の結果をまとめた。

群体養生後、屋外水槽から室内に移動した直後は、光量が低下したために光合成活性指数は上がったが、酸性化海水下での飼育期間中においては一定した値で、pCO₂による変化も見られなかった。

褐虫藻密度とクロロフィル量測定に関しては、飼育開始前に各群体から1試料、飼育終了後に21群体から5群体を選び、各pCO₂処理区について計25本の測定を行った。同じ群体による飼育期間前後の比較と各pCO₂処理区の測定結果、また群体別の比較を行った結果をFig. 10、11、Table 3 (a)、(b)に示す。

褐虫藻密度について、飼育実験前後および pCO₂ 処理間、また群体間でも値の違いは見られなかった。クロロフィル量に関しては、わずかに pCO₂ の上昇に伴って低下する傾向が見られたが、飼育実験前後および pCO₂ 処理間、群体間を比較しても有意差は見られなかった。

C. ハマサンゴ

飼育実験終了後、すべてのサンゴ片においてPAM蛍光測定を行った。どの群体も、pHの低下と共に光合成活性指数の有意な低下が見られ、また群体間でも値が異なった（two way-ANOVA, $F_{8,89} = 32.84$, $p < 0.0001$, *post hoc* Tukey-HSD test, Fig. 12, Table 3 (c)）。

褐虫藻密度とクロロフィル量測定の結果では、pH 処理間で違いは見られなかった。クロロフィル量では群体間で値に有意差が見られたものもあった（Fig. 13, 14, Table 3 (d), (e)）。

3.4 骨格分析（微量元素比）

骨格分析は、ICP-MS による測定から Mg/Ca 比、Sr/Ca 比、Ba/Ca 比、U/Ca 比の 4 つの微量元素比を求めた。各元素比の測定誤差は、1.4%、0.2%、4.3%、1.0%であった。

A. コユビミドリイシ幼サンゴ

各 pCO₂ 処理区につき 8 試料を分析に供し、幼サンゴ 1 試料につき 1 回の測定を行った。

Ba/Ca 比に関して、pCO₂ が上昇するにつれて増加する傾向が見られたが ($r^2=0.36$, $p<0.05$)、他の微量元素比については明瞭な傾向は認められなかった (Fig. 15)。

また、骨格成長率に対する微量元素比を比較してみたところ、特に有意な相関は見いだされなかった (Fig. 16)。

B. コユビミドリイシ成体

測定には、褐虫藻密度およびクロロフィル量測定と同じ 5 群体を選び、pCO₂ 処理ごとに計 25 試料を分析に供した。1 試料につき 1 回測定を行った。

Mg/Ca 比、U/Ca 比に関して、pCO₂ が上昇するにつれて有意に増加する傾向が見られた。(Mg/Ca : $r^2=0.23$, U/Ca : $r^2=0.17$, $p<0.05$) Sr/Ca 比と Ba/Ca 比は明瞭な傾向は認められなかった (Fig. 17)。

骨格成長率に対する微量元素比を見たところ、Mg/Ca 比に関して骨格成長率が上昇するにつれて増加する弱い傾向が見られた ($r^2=0.15$, $p<0.05$) が、他の微量元素比については明瞭な傾向は認められなかった (Fig. 18)。

C. ハマサンゴ

今回の測定には飼育実験で最も成長の良かった 1 群体を用いて、pH 7.4 から 3 試料、pH 7.6 と 8.0 から 5 試料を選び、1 試料につき 3 回の繰り返し測定を行った。前処理の段階で骨格から組織を十分に取り除くのが不十分だったために、全体的に Mg/Ca 比と Ba/Ca 比の値が高く算出された。よって、今回の結果からは Sr/Ca 比と U/Ca 比について論ずる。

pH の上昇に伴い、Sr/Ca 比、U/Ca 比共に低下する傾向が見られ、pH と有意な相関が示された (Sr/Ca : $r^2=0.67$, U/Ca : $r^2=0.80$, $p<0.05$, Fig. 19)。U/Ca 比については、コユビミドリイシ成体サンゴの pCO₂ に対する結果 (pCO₂ の上昇に伴って U/Ca が上昇する) と同様の結果が得られた。

また骨格成長率の上昇に伴って、Sr/Ca 比と U/Ca 比は低下する傾向が見られた。そこで、pH ごとに区別してプロットをしてみると、同 pH 処理区内では、骨格成長率に依存していないことが確かめられた (Fig. 20)。よって、Sr/Ca 比、U/Ca 比共に骨格成長速度依存性が見られないことが示された。

IV. 考察

4.1 酸性化海水が造礁サンゴの石灰化に及ぼす影響

4.1.1 近未来における海洋酸性化環境下での幼サンゴの石灰化の応答

産業革命前から今世紀末に予測されている海洋酸性化環境下（300~1000ppm）で行った本実験の結果では、コユビミドリイシの幼サンゴの石灰化に関して、海水の $p\text{CO}_2$ の上昇と共に石灰化の減少が見られた。それぞれの $p\text{CO}_2$ 区内で得られた骨格重量に幅はあるものの、全体的に見ると $p\text{CO}_2$ の上昇に対して一定した減少傾向があり、また統計解析からも有意な減少であった。よって、今世紀末に予測される海洋酸性化は幼サンゴの石灰化に負の影響を及ぼすことが示された。

酸性化海水が幼サンゴの石灰化およびサンゴの初期生活史へ影響を及ぼすという結果は、これまでいくつか報告が出されている。Morita et al. (2009) では、海水の $p\text{CO}_2$ の上昇に伴うサンゴの精子の鞭毛運動の低下を確認した。Cohen et al. (2009) は、塩酸添加によって pH-NBS を 8.17 から 7.54 に設定し、*Favia fragum* の幼サンゴを 8 日間飼育したところ、海水の pH 低下に伴う石灰化率の低下が見られ、また電子顕微鏡によって骨格の結晶構造の奇形を確認した。今世紀末に予測される高 $p\text{CO}_2$ 環境下で行った本研究の結果からも、酸性化海水に対する幼サンゴの石灰化の減少が検出された。幼生が着底し骨格の形成を開始する幼サンゴの段階は、サンゴの個体群維持において重要な時期であり、今後もより多様な種における酸性化海水による影響を評価していく必要がある。

4.1.2 サンゴ成体に対する海洋酸性化の影響

本研究の結果では、産業革命前から今世紀末に予測されている海洋酸性化環境下（300~1000ppm）ではコユビミドリイシの成体の石灰化は $p\text{CO}_2$ の変動に対して変化は見られなかった。また光合成パラメータの結果からも $p\text{CO}_2$ に対しての変動は見られなかった。これまでの室内飼育実験による先行研究では、本研究と同様な酸性化レベルでも石灰化の減少が報告されているものもある（e.g. Gattuso et al., 1998）。しかし、対象サンゴ種の違い、酸性化海水の調整方法の違い、飼育期間（長さ、季節性）の違い等、いくつかの実験条件が異なるため、これらの違いが今回の結果に現れた可能性がある。Marubini et al. (2003) では、室内飼育実験によって本実験の対象サンゴと同じ属にあたるミドリイシ属の *Acropora verweri* の成長率が種内の群体間で異なっていたことを示しているが、本実験では群体によって各 $p\text{CO}_2$ 処理区での成長率はわずかに異なったが、全体的な成長率の違いは見られなかった。

一方で、Caldeira and Wickett (2003) が示した2300年に予測される酸性化レベルを元に、海水のpHを7.4、7.6、8.0に制御した環境下で飼育したハマサンゴの石灰化は、pHの低下とともに骨格成長率は低下する傾向を示した。統計解析の結果からも、各pH間に有意な差が見られた。また、群体によって成長率に違いが見られ、酸性化海水に対する影響の大きさは種内の群体間で異なることが示唆された。種内の群体間の成長率の違いは、水温や光の強度でも異なることが知られている（古賀, 2008; 島田, 2009）。一般に、ミドリイシ属などの成長速度の速い枝状のサンゴに比べ塊状のハマサンゴ属は、成長速度は遅いが外的な環境ストレスに強い特徴を持っていることが知られている。しかし本実験では、今後予測される酸性化海水下において塊状のハマサンゴの石灰化にも負の影響が出ることが示された。

体内に褐虫藻が共生している成体のサンゴは、光合成の効果も加わり海洋酸性化に対する石灰化の応答は複雑になる可能性がある。褐虫藻は光エネルギーと栄養塩を基に、高い骨格形成能力を持つ宿主サンゴの代謝要求の95%以上を提供しているとも言われ、サンゴの石灰化への貢献は大きいとされる。本研究の結果では、1000ppmの酸性化レベルに対するコユビミドリイシの成体の光合成応答は、現在のpCO₂環境と比べほとんど変動は見られなかった。しかし、酸性化海水に対するサンゴの石灰化に褐虫藻の働きが関与している可能性はあり得る。実際に室内実験で検証を行ったこれまでの研究では、海水の酸性化による炭素源の増加によって *Stylophora pistillata* の光合成活性が高まるという報告もされている (Marubini et al., 2008)。しかし、pH7.6、7.4の酸性化海水下で飼育した本実験のハマサンゴでは、pHの低下に伴って光合成活性指数が有意に減少した。一方で、Anthony et al. (2008)による *Acropora intermedia* と *Porites lobata* を用いた実験系では、高pCO₂環境では褐虫藻の光合成活性は弱まり、サンゴの石灰化能力の低下と相まってさらなるサンゴ礁生態系が衰退する可能性も考えられると示している。今回のハマサンゴの光合成活性の低下の結果が、Anthony et al. (2008)が設定したpHの範囲 (pH8.0-7.6) や、本実験のコユビミドリイシで行ったpCO₂環境 (~1000ppm) 下でも見られるのかを解明していくことが課題として挙げられる。

4.1.3 海洋酸性化を含めた今後予測される気候変動下でのサンゴの応答

大気中二酸化炭素濃度の上昇は、温室効果による地球温暖化を始め様々な気候変動の起因となり、異常気象の頻度の増加等を促進されると危惧されている。

Hoegh-Guldberg et al. (2007)は、今後一世紀の間に予想される温暖化と酸性化の両影響を合わせ、海水温の上昇と炭酸イオン濃度の減少の予測を元に3つのシナリオを提

起した。現在のペースで二酸化炭素濃度が上昇していけば、炭酸イオンが $200\ \mu\text{mol/kg}$ 以下に減少しサンゴの石灰化速度が追いつかなくなることで、サンゴの密度と種の多様性の低下が引き金となり、サンゴ礁の環境に依存している魚類や無脊椎動物の種の多様性の低下が起こると示唆した。また、さらに二酸化炭素濃度が上昇すれば、海水温の上昇も加わって比較的耐性の強い塊状のサンゴも生息できなくなり、サンゴにとって潜在的に生息場の競争相手である大型藻類が優占種となる相変移が起こると予測している。

室内飼育実験は、野外での実験と違って自然状態での影響を正確に反映しているかどうかを評価することは難しい。しかし、今後急激に起こるであろう異常な気候変動のどの要因がどれほど造礁サンゴへ影響を及ぼすのかをより定量的かつ正確に評価するには、特定の環境条件の設定ができる飼育実験での考察は不可欠である。さらに、将来起こりうる海洋環境下をより正確に予測し設定することが飼育実験を行う上で必須である。よって本実験で用いた、1000ppm内の細かい pCO_2 調整が再現可能なAICAL装置のポテンシャルは高いと言える。

気候変動に対する応答は、種間による違い、また本実験でも示されたように種内の群体間でも異なることが、これまでの飼育実験から明らかにされてきた。しかし、これまでの実験で対象となっているのは比較的成長速度の速い種に偏っている傾向があり、今後はハマサンゴ属やキクメイシ属などの成長の遅い種に対する影響をみる必要がある。また地域的にも日本近海に生息するサンゴ種についての研究は少なく、また本研究で扱った沖縄本島周辺のサンゴ礁域は他の海域と比べ緯度が高いところに位置するため、海洋酸性化の影響がいち早く発現すると予測され、この海域においてのサンゴを対象とした酸性化海水を用いた影響評価は急務である。そして、サンゴ礁域の生物に与える環境要因としては、温暖化や海洋酸性化、陸域からの赤土や栄養塩の流入による水質汚染など様々な要因が挙げられ、これらの複合ストレスによる影響評価の検討も今後の課題である。

4.2 酸性化海水が骨格の微量元素比に与える影響

本研究では、異なる酸性化海水中で飼育したサンゴ骨格中の微量元素を ICP-MS により分析した。測定から得られた Mg/Ca 比、Sr/Ca 比、Ba/Ca 比、U/Ca は、いずれも先行研究と同様な値であり、整合性を確認した。4つの各微量元素比について、海水の $p\text{CO}_2$ と骨格成長速度との関係を以下考察する。

4.2.1 Mg/Ca 比

Mg/Ca比は海水温の間接指標として、サンゴ以外にも浮遊性有孔虫の炭酸塩殻でも分析が行われている (e.g. Russell et al., 2004)。しかし、サンゴによる近年の研究からは骨格の成長速度依存性が指摘されている。(Inoue et al., 2007; Raynaud et al., 2005) これは生物学的効果 (vital effect) と呼ばれ、生物が炭酸カルシウムを形成する際に、外的要因に関係なく自らの骨格形成や成長速度に起因して骨格への元素の取り込み量に変化する作用である。

本研究の結果からも、コユビミドリイシの成体の Mg/Ca 比は $p\text{CO}_2$ との相関と同時に成長率との間に弱い相関が見られ、成長速度依存性が示された。しかし、幼サンゴに関しては相関が見られなかったことから、石灰化には褐虫藻の役割が大きく、vital effect にも影響しているのではないかということも推測される。

4.2.2 Sr/Ca 比

サンゴ骨格中のSr/Ca比は、海水温の間接指標としてこれまで多くの研究がなされてきた (e.g. Beck et al., 1992)。

本研究の結果では、コユビミドリイシの幼サンゴと成体の骨格中のSr/Ca比は、 $p\text{CO}_2$ の変動に対して変化は見られず、また成長速度との相関も見られなかったことから、両要因への依存性はないため、水温指標としての信頼性が高まった。

一方、ハマサンゴの結果では pH との相関が見られた。成長速度との相関も見られたが、pH 処理区ごとに識別してプロットをしてみると、各 pH 区内では成長速度との相関は見られなかった。今回の測定は前処理に不備があり、分析数も少ないために追試を行う必要があるため、Sr/Ca 比と pH の関係については一概には言えない。しかし、本研究と同じハマサンゴを対象として飼育実験を行い、骨格の Sr/Ca 比を測定した古賀 (2008)、島田 (2009) の結果では、成長速度の遅いサンゴ片の Sr/Ca 比は値にばらつきが見られた。本研究でも、pH7.4 と pH7.6 処理区で飼育したサンゴ片の成長は遅いため、同様な傾向が見られた可能性もある。

4.2.3 Ba/Ca 比

本研究の結果では、コユビミドリイシ幼サンゴのBa/Ca比とpCO₂とに相関が見られたが、成体については相関が見られなかった。Ba/Ca比は、主に水温、陸源物質の流入や湧昇の指標としての報告がされており (McCulloch et al., 2003)、海洋環境中の様々な要因に起因する微量元素である。今回の結果に関して、なぜ幼サンゴのBa/Ca比とpCO₂との間に相関が見られたのかは不明な点が多いが、Inoue et al. (submitted) の結果では、褐虫藻を取り込んだ後の幼サンゴのBa/Ca比とpHとに相関が見られたことが報告されている。

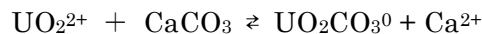
Ba/Ca 比と海水の pH との関係については、更なる考察が必要である。

4.2.4 U/Ca 比

U/Ca比もまた、海水温の間接指標としての有用性が報告されている (Min et al., 1995; Shen and Dunbar, 1995)。さらに近年では、海水のpHとの関連も示唆されている元素である (Inoue et al., submitted)。

本研究の結果では、コユビミドリイシとハマサンゴの成体の骨格のU/Ca比と海水のpCO₂とに一定した相関が見られた。5群体の試料から分析を行ったコユビミドリイシのU/Ca比は、弱い相関傾向であるが統計解析によって有意な相関が確認された。一方で、1群体の分析結果から得られたハマサンゴのU/Ca比は、 $r^2=0.80$ と強い相関が得られた。骨格成長速度との関連は見られなかったことから、pCO₂のみに依存していると考えられる。しかし、今回の測定では分析数が多くなかったため信頼性が低い可能性もある。よって、試料数を増やして分析を行い、再考察する必要がある。

ウランは、2価の陽イオンであるウラニルイオン (UO₂²⁺) として、海洋中ではCO₃²⁻と錯体を形成し、主に97%以上がUO₂(CO₃)₃⁴⁻として存在していることが知られている (Reeder et al., 2000)。また、UO₂(CO₃)₃⁴⁻は海水のpHに依存して、UO₂CO₃⁰やUO₂(CO₃)₂²⁻に変化することとも言われている。そして以下の式で、Ca²⁺と交換することでサンゴのアラゴナイト骨格に取り込まれると考えられている (Min et al., 1995)。



UO₂²⁺のイオン半径は 3.15 Å であり、Ca²⁺のイオン半径の 1.18 Å に比べてはるかに大きく、形状も異なっている。Min et al. (1995) によれば、有孔虫が形成するカルサイトよりも、サンゴが形成するアラゴナイトに UO₂²⁺が選択的に取り込まれやすい理由としては、アラゴナイトの結晶構造がカルサイトの結晶構造に比べて大きく不規則である点を挙げている。また、UO₂(CO₃)₃⁴⁻などのイオン種の構造が斜方晶系で、同じく斜方晶系であるアラゴナイトと似た挙動を示すことも要因の一つと考えられている。

このように、 UO_2^{2+} が CO_3^{2-} と深く関わっており、 CO_3^{2-} は海水の pH や温度、全炭酸に制御されていることから、本実験で得られた結果のように、海水の pH によってウランのサンゴ骨格への取り込みが変動しているのかもしれない。しかし、サンゴ骨格へのウランの取り込みについては未解明な点が多いため、今後も精密飼育実験による評価や物理化学的なアプローチを行っていく必要がある。

本研究の結果は、古環境復元に広く利用されている塊状ハマサンゴ骨格から得られたという点で、古環境学への貢献ができたと言える。もし U/Ca 比が水温および海水の pH の間接指標として有用であるならば、古水温計として用いられる Sr/Ca 比と組み合わせることによって、過去の海水の pH の復元に期待が持てる。

V. 結論

本研究は、今世紀末に予測される海洋酸性化がサンゴの石灰化に与える影響の評価、また骨格の微量元素分析による新たな古海洋環境復元の間接指標の検証を目的とした。

南西諸島に広く分布するサンゴ種、コユビミドリイシ（幼サンゴおよび成体）とハマサンゴを対象とし、異なる海水の $p\text{CO}_2$ および pH を設定し、環境要因を制御した室内飼育実験を行った。3つの飼育実験は、いずれも各飼育期間において水温、光量、 $p\text{CO}_2$ (pH) が安定して維持され、精密に制御された環境下で行うことができたと言える。

酸性化海水に対する石灰化の応答は、コユビミドリイシの石灰化に関しては、今世紀末までに予測される海洋酸性化環境下（ $\sim 1000\text{ppm}$ ）では、成体サンゴの石灰化に与える影響は小さいが、着底直後の幼サンゴの石灰化に負の影響が生じる可能性がある。また、 1000ppm までの海水の $p\text{CO}_2$ 環境下では、褐虫藻の光合成への影響はほとんど現れないことが示された。一方で、 $\text{pH} 7.4$ までの低 pH 環境下で8週間の飼育を行ったハマサンゴの骨格成長率は、 pH の低下に伴って有意に低下した。また光合成活性も pH の低下と共に低下することが確認された。

サンゴ骨格中の微量元素比について、 U/Ca 比が過去の海水の pH ($p\text{CO}_2$) 復元の間接指標として有用である可能性が示された。 Sr/Ca 比については、海水の $p\text{CO}_2$ および骨格成長速度との依存性が見られなかったため、これまで報告されている古水温復元の間接指標としての信頼性が高まった。また、コユビミドリイシの成体の骨格の Mg/Ca 比と骨格成長速度との相関が見られたことから、 Mg/Ca 比は成長速度依存性があり生物学的効果を受けやすいことが示された。

VI. 参考文献

- Anthony, K.R.N., Kline, D.I., Diaz-Pulido, G., Dove, S. and Hoegh-Guldberg, O. (2008) : Ocean acidification causes bleaching and productivity loss in coral reef builders. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105, 17442–17446
- Beck, J.W., Edwards, R.L., Ito, E., Taylor, F.W., Recy, J., Rougerie, F., Joannot, P. and Henin, C. (1992) : Sea-surface temperature from coral skeletal strontium/calcium ratios. *Science*, 257, 644–647
- Caldeira, K. and Wickett, M. E. (2003) : Anthropogenic carbon and ocean pH. *Nature*, 425, 365
- Cohen, A.L., McCorkle, D.C., de Putron, S., Gaetani, G.A. and Rose, K.A. (2009) : Morphological and compositional changes in the skeletons of new coral recruits reared in acidified seawater: Insights into the biomineralization response to ocean acidification. *Geochem. Geophys. Geosyst.*, 10, doi:10.1029/2009GC002411.
- Cooper, T.F., De'ath, G., Fabricius, K. E. and Lough, J. M. (2008) : Declining coral calcification in massive *Porites* in two nearshore regions of the northern Great Barrier Reef. *Global Change Biol.*, 14, 529–538
- Davies, P.S. (1989) : Short-term growth measurements of corals using an accurate buoyant weighting technique. *Mar. Biol.*, 101, 389–395
- De'ath, G., Lough, J. M. and Fabricius, K. E. (2009) : Declining coral calcification on the Great Barrier Reef. *Science*, 323, 116–119
- Dickson, A.G., Sabine, C.L. and Christian, J.R. (eds) (2007) : Guide to Best Practices for Ocean CO₂ Measurements. PICES Special Publication 3, p. 191.
- Gattuso, J.-P., Frankignoulle, M., Bourge, I., Romaine, S. and Buddemeier, R.W. (1998) : Effect of calcium carbonate saturation of seawater on coral calcification. *Global Planet Change*, 18, 37–46
- Hoegh-Guldberg, O., Mumby, P.J., Hooten, A.J., Steneck, R.S., Greenfield, P., Gomez, E., Harvell, C.D., Sale, P.F., Edwards, A.J., Caldeira, K., Knowlton, N., Eakin, C.M., Iglesias-Prieto, R., Muthiga, N., Bradbury, R.H., Dubi, A. and Hatziolos, M.E. (2007) : Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. *Science*, 318, 1737–1742
- Inoue, M., Suzuki, A., Nohara, M., Hibino, K. and Kawahata, H. (2007) : Empirical of the coral Sr/Ca and Mg/Ca ratios as climate proxies using colonies grown at different temperature. *Geophys. Res. Lett.*, 34, L12611

- Inoue, M., Suwa, R., Iguchi, A., Suzuki, A., Sakai, K. and Kawahata, H. (2009) : Ocean acidification impact on growth and the pH dependence of trace elements in coral polyp skeleton (*Acropora digitifera*). *Geochim. Cosmochim. Acta*, submitted.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (2007) : Contribution of Working Groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Newyork
- Iwao, K., Fujisawa, T. and Hatta, M. (2002) : A cnidarian neuropeptide of the GLWamide family induces metamorphosis of reef-building corals in the genus *Acropora*. *Coral reefs*, 21, 127-129
- Jeffrey, S.W. and Humphrey, G. F. (1975) : New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a,b,c1 and c2 in higher plants. *Biochem. Physiol. Pflanzen*, Bb. 167, S.191-194
- Kleypas, J.A., Feely, R.A., Fabry, V.J., Langdon, C., Sabine, C.L. and Robbins, L.L. (2006) : Impacts of ocean acidification on coral reefs and other marine calcifiers: a guide for future research. Report of a workshop. NSF, NOAA, and the US Geological Survey, St Petersburg, FL
- 古賀奏子 (2008) : 長期飼育実験系によるハマサンゴ *Porites australiensis* の水温反応に関する研究, 琉球大学大学院理工学研究科修士論文
- Kurihara, H. (2008) : Effects of CO₂-driven ocean acidification on the early developmental stages of invertebrates. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 373, 275–284
- Leclercq, N., Gattuso, J.-P. and Jaubert, J. (2002) : Primary production, respiration, and calcification of a coral reef mesocosm under increased CO₂ partial pressure. *Limnol. Oceanogr.*, 47, 558-564
- Lewis, E. and Wallace, D.W.R. (1998) : Program Developed for CO₂ System Calculations, ORNL/ CDIAC-105. Carbon Dioxide Information Analysis Center, Oak Ridge National Laboratory, U.S. Department of Energy, Oak Ridge, Tennessee.
- Marubini, F., Ferrier-Pagès, C. and Cuif, J.P. (2003) : Suppression of growth scleractinian corals by decreasing ambient carbonate ion concentration: a cross-family comparison. *Proc. R. Soc. Lond., B* 270, 179–184
- Marubini, F., Ferrier-Pagès, C., Furla, P. and Allemand, D. (2008) : Coral calcification responds to seawater acidification: a working hypothesis towards a physiological mechanism. *Coral Reefs*, 27, 491–499

- McCulloch M. T., Fallon S., Wyndham T., Hendy E., Lough J. and Barne D. (2003) : Coral record of increased sediment flux to the inner Great Barrier Reef since European settlement. *Nature*, 421, 727-730
- Min, G.R., Edwards, L., Taylor, F.W., Recky, J., Gallup, C.D. and Beck, J.W. (1995) : Annual cycle of U/Ca in coral skeletons and U/Ca thermometry. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 59, 2025-2042
- Morita, M., Suwa, R., Iguchi, A., Nakamura, M., Shimada, K., Sakai, K. and Suzuki, A. (2009) : Ocean acidification reduces sperm flagellar motility in broadcast spawning reef invertebrates. *Zygote*, Cambridge University Press.
- Nakamura, T., van Woesik, R. and Yamasaki, H. (2005) : Photoinhibition of photosynthesis is reduced by water flow in the reef-building coral *Acropora digitifera*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 301, 109-118
- Okai, T., Suzuki, A., Kawahata, H., Terashima, S. and Imai, N. (2002) : Preparation of a new geological survey of Japan geochemical reference material: Coral JCp-1. *Geostand. Newsl.*, 26, 95-99
- 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.J., Monfray, P., Mouchet, A., Najjar, R., 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*, 437, 681–686
- Reeder, R.J., Nugent, M., Lamble, G.M., Tait, C.D. and Morris, D.E. (2000) : Uranyl incorporation into calcite and aragonite: XAFS and luminescence studies. *Environ. Sci. Technol.*, 34, 638-644
- Reynaud, S., Hemming, N.G., Juillet-Leclerc, A. and Gattuso, J.-P. (2004) : Effect of pCO₂ and temperature on the boron isotopic composition of the zooxanthellate coral *Acropora* sp. *Coral Reefs*, 23, 539–546.
- Reynaud, S., Ferrier-Pagès, C., Meibom, A., Mostefaoui, S., Mortlock, R., Fairbanks, R. and Allemand, D. (2007) : Light and temperature effects on Sr/Ca and Mg/Ca ratios in the scleractinian coral *Acropora* sp. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 71, 354-362
- Russell, A. D., Hönisch, B., Spero, H. J. and Lea, D. W. (2004) : Effects of seawater carbonate ion concentration and temperature on shell U, Mg, and Sr in cultured planktonic foraminifera. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 68, 4347-4361

- Shen, G.T. and Dunbar, R.B. (1995) : Environmental controls on uranium in reef corals. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 59, 2009-2024
- 島田和明 (2009) : 長期飼育実験系によるハマサンゴ *Porites australiensis* の光応答に関する研究, 東京大学大学院理学系研究科修士論文
- 諏訪僚太, 中村崇, 井口亮, 中村雅子, 守田昌哉, 加藤亜記, 藤田和彦, 井上麻夕里, 酒井一彦, 鈴木淳, 小池勲夫, 白山義久, 野尻幸宏 (2010) : 海洋酸性化がサンゴ礁域の石灰化生物に及ぼす影響. *海の研究*, 19, 21-40
- Suzuki, A. and Kawahata, H. (2003) : Carbon budget of coral reef systems: an overview of observation in fringing reefs, barrier reefs and atolls in the Indo-Pacific regions. *Tellus*, 55B, 428-444
- Suzuki, A., Hibino, K., Iwase, A. and Kawahata, H. (2005) : Intercolony variability of skeletal oxygen and carbon isotope signatures of cultured *Porites* corals: temperature controlled experiments. *Geochem. Cosmochim. Acta*, 69, 4453-4462
- 鈴木淳, 井上麻夕里, 川幡穂高. (2007) : 水槽飼育実験による造礁サンゴ骨格の環境指標研究. *地質ニュース* 632号, 23-27

VII. 謝辞

本研究は、多くの方々のご協力とご助言によって行うことができました。

指導教官である川幡穂高教授には、研究室に快く迎えて下さり、修士研究に関する多くのご指導やご助言をいただきました。この場を借りて厚く御礼申し上げます。井上麻夕里助教には、共同研究者として実験に関する分析を受け持って下さり、研究に関する議論や多くのご助言をいただきました。

川幡研究室および海洋底科学部門の皆様には、共に研究生活を過ごすことで多くの刺激を与えてもらい、また研究に対する姿勢や面白さを教えていただきました。

独立行政法人産業技術総合研究所地質情報の鈴木淳研究員には、研究を行うにあたってより良い環境を与えて下さり、また研究に関する多くのことを勉強させていただいたことに深く感謝致します。

サンゴの採集および飼育実験、また半年間にわたる宿泊に関して、琉球大学熱帯生物圏研究センター瀬底研究施設を利用させていただきました。

琉球大学熱帯生物圏研究センター瀬底研究施設の酒井一彦教授には、サンゴの採集を手伝っていただき、実験に関する貴重なご助言、研究により良い環境を整えて下さったことに心より感謝致します。

琉球大学熱帯生物圏研究センター瀬底研究施設の井口亮博士には、実験計画から作業、生活面までのあらゆるサポート、また熱心なご指導をいただきました。

共に試行錯誤しながら協力して研究を行った大木駿氏を始め、酒井研究室の皆様には、研究に関してたくさんのご助言をいただきました。また、実験のサポートをしていただいた金城裕美さん、島袋絵美子さんに感謝致します。

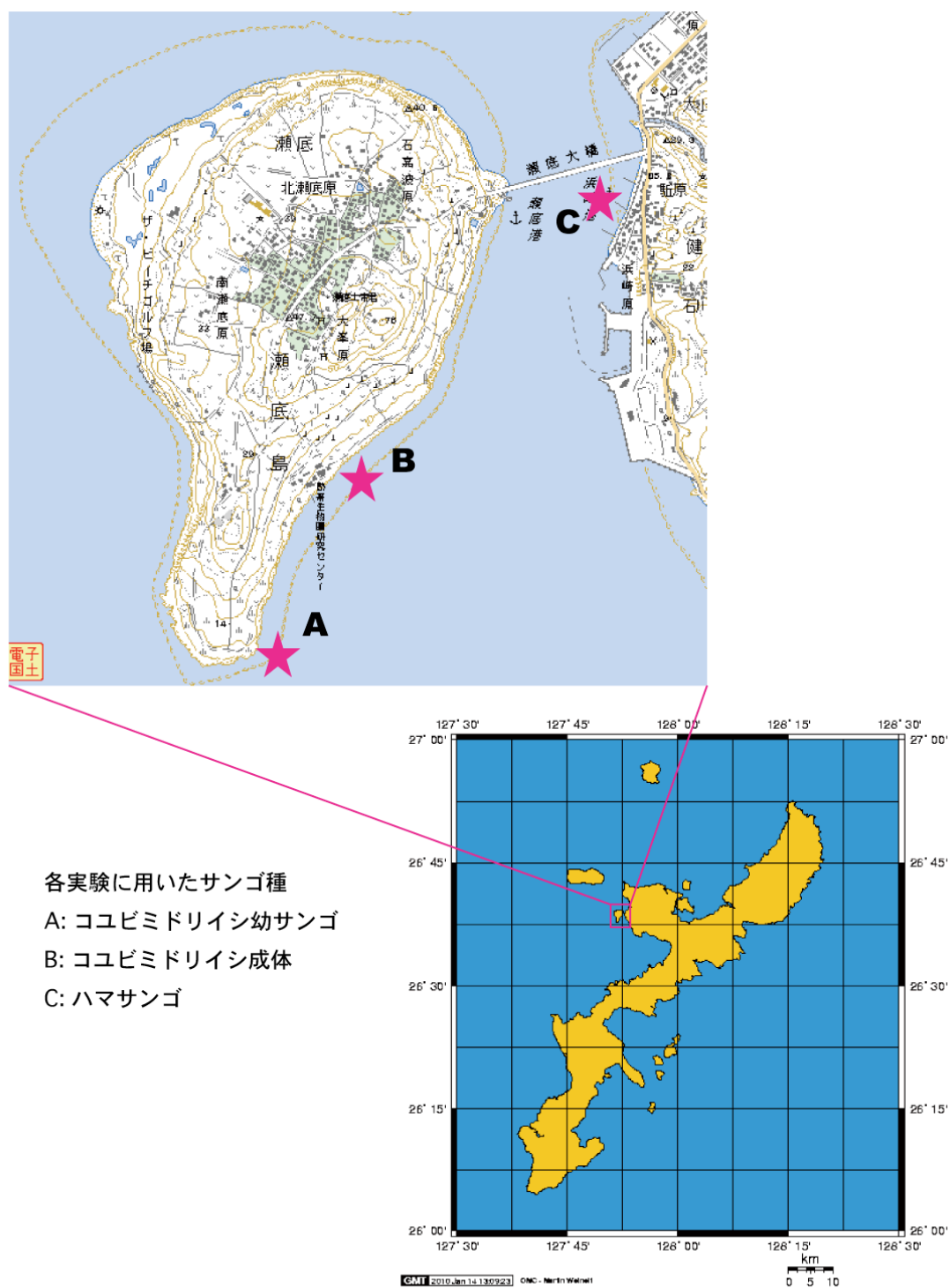
京都大学白浜臨海実験所の諏訪僚太博士には、実験作業を教えていただきながら研究に関する多くのご助言をいただきました。

九州大学付属天草臨界実験所（現：琉球大学理学部助教）の中村崇博士には、光合成測定に関する作業を教えて下さり、また実験に対する様々なアドバイスをいただきました。

AICAL プロジェクトの皆様には、メンバーとして温かく迎えて下さり、貴重で充実した研究をさせていただいたことに深く感謝致します。

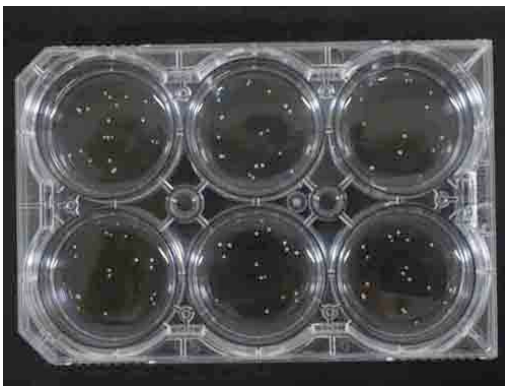
最後に、修士課程の学生生活を常に支えてくれた家族に心より感謝します。

VIII. 図表





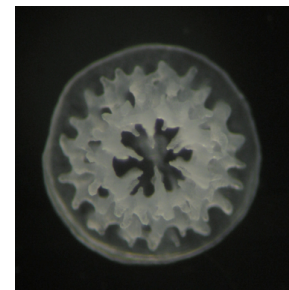
(a)



(b)



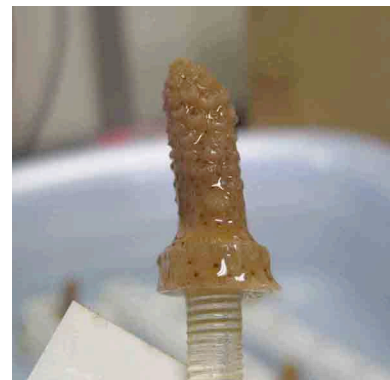
(c)



(d)



(e)



(f)

Fig. 2 コユビミドリイシ *Acropora digitifera*

(a)成体, (b) 幼サンゴ実験の6穴プレート

(c) 飼育10日後の幼サンゴ, (d) 組織剥離後の幼サンゴ

(e) 成体サンゴ片の屋外養生, (f) 飼育4週間後のサンゴ片



(a)



(b)

Fig. 3 ハマサンゴ *Porites australiensis* (a) 成体, (b) サンゴ片



(a)



(b)

Fig. 4 飼育実験装置 (a) AICAL装置, (b) 飼育水槽全体図



(a)



(b)



(c)

Fig. 5 実験装置および方法

(a) 水中重量法, (b) 組織剥離後のサンゴ片, (c) ホモジェナイズの様子

Table 1 各飼育期間中の炭酸系パラメータ

(水温, pHは実測値、 pCO_2 , HCO_3^- , CO_3^{2-} , Ω_{arag} は CO_2SYS による計算値)

(a) コユビミドリイシ幼サンゴの飼育期間中 (10 日間) の炭酸系パラメータ

pCO_2 (ppm)	$^{\circ}\text{C}$	pH_{sws}	HCO_3^-	CO_3^{2-}	Ω_{arag}
259 ± 21	27.1 ± 0.1	8.18 ± 0.01	1556 ± 32	273 ± 13	4.4 ± 0.2
384 ± 24	27.2 ± 0.0	8.08 ± 0.02	1692 ± 20	218 ± 8	3.5 ± 0.1
654 ± 30	27.3 ± 0.1	7.91 ± 0.01	1835 ± 18	161 ± 7	2.6 ± 0.1
829 ± 55	27.0 ± 0.1	7.82 ± 0.01	1914 ± 15	128 ± 6	2.1 ± 0.1
1036 ± 76	27.3 ± 0.3	7.74 ± 0.02	1962 ± 14	109 ± 6	1.8 ± 0.1
mean \pm SD			$\mu\text{ mol/kg}$	$\mu\text{ mol/kg}$	

(b) コユビミドリイシ成体の飼育期間中 (4 週間) の炭酸系パラメータ

pCO_2 (ppm)	$^{\circ}\text{C}$	pH_{sws}	HCO_3^-	CO_3^{2-}	Ω_{arag}
269 ± 21	27.0 ± 0.6	8.16 ± 0.02	1571 ± 28	267 ± 11	4.3 ± 0.2
372 ± 17	26.9 ± 0.6	8.07 ± 0.02	1686 ± 13	221 ± 5	3.5 ± 0.1
588 ± 21	27.0 ± 0.6	7.92 ± 0.02	1825 ± 9	164 ± 4	2.6 ± 0.1
759 ± 78	27.0 ± 0.6	7.83 ± 0.03	1891 ± 35	138 ± 14	2.2 ± 0.2
975 ± 45	27.1 ± 0.6	7.76 ± 0.02	1951 ± 11	113 ± 5	1.8 ± 0.1
mean \pm SD			$\mu\text{ mol/kg}$	$\mu\text{ mol/kg}$	

(c) ハマサンゴの飼育期間中 (8 週間) の炭酸系パラメータ

pH_{sws}	$^{\circ}\text{C}$	pCO_2 (ppm)	HCO_3^-	CO_3^{2-}	Ω_{arag}
8.05 ± 0.01	27.0 ± 0.7	358-380	1673-1691	218-226	3.5-3.6
7.58 ± 0.04	26.8 ± 0.4	1175-1439	1990-2026	82-98	1.3-1.6
7.41 ± 0.04	27.1 ± 0.4	1801-2193	2062-2089	58-68	0.9-1.1
mean \pm SD			$\mu\text{ mol/kg}$	$\mu\text{ mol/kg}$	

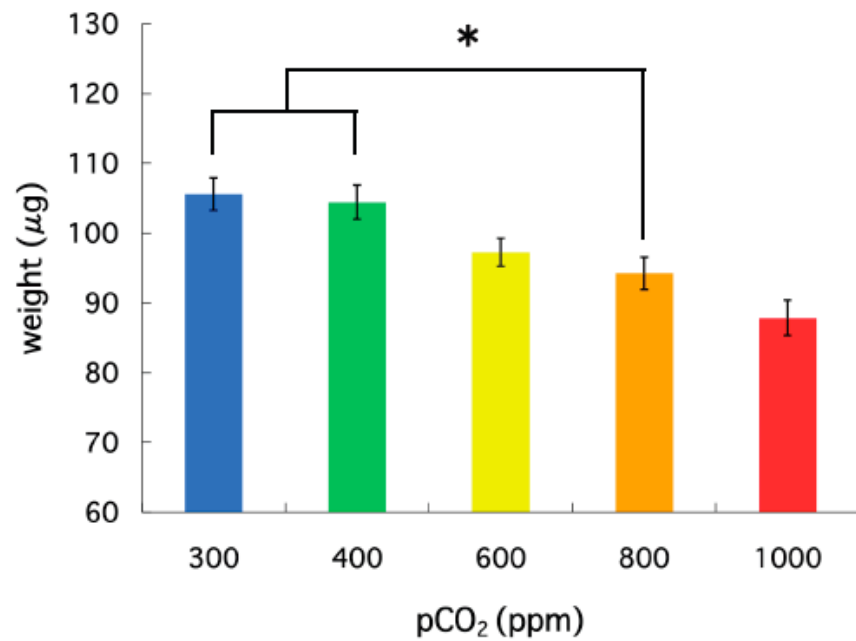


Fig. 6 各pCO₂処理区で飼育した10日後のコユビミドリイシ幼サンゴの骨格重量
(mean±SE, n=60, * ; p<0.05, by Tukey-HSD test)

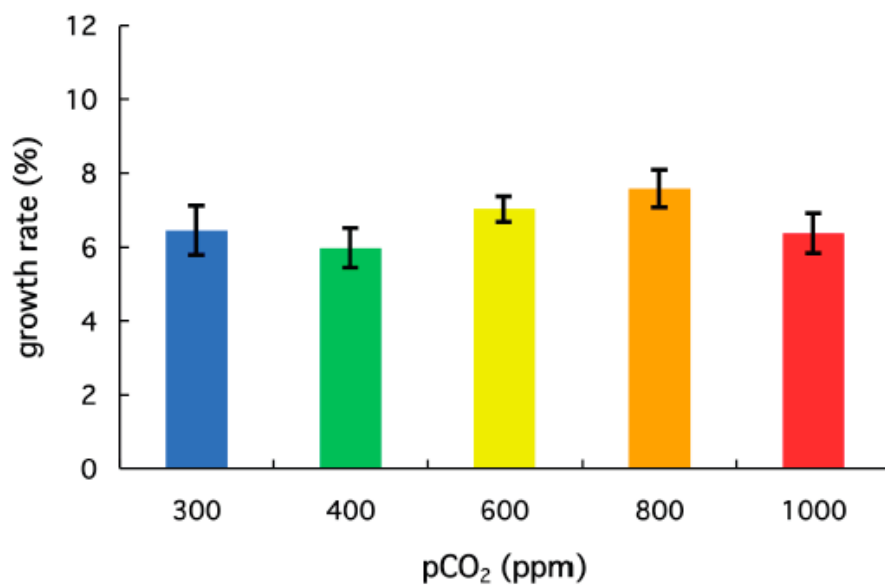


Fig. 7 各pCO₂処理区で飼育した4週間後のコユビミドリイシ成体の骨格成長率
(mean±SE, n=14-21)

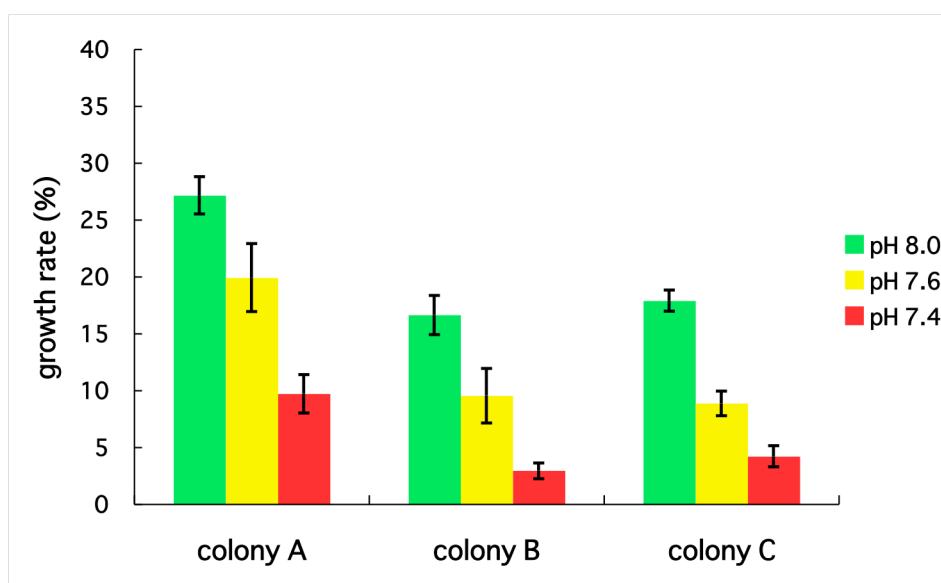


Fig. 8 各pH処理区で飼育した8週間後のハマサンゴの群体別骨格成長率
(mean \pm SE, n=10)

Table 2 各飼育実験での幼サンゴの骨格重量と成体の骨格成長率

(a) 各 pCO₂ 処理区で飼育した 10 日後のコユビミドリイシ幼サンゴの骨格重量 (μ g)

	300ppm	400ppm	600ppm	800ppm	1000ppm
weight	105.59 \pm 2.36	104.42 \pm 2.42	97.27 \pm 2.01	94.24 \pm 2.31	87.86 \pm 2.52
N	60	60	60	60	60
Mean \pm SE					

(b) 各 pCO₂ 処理区で飼育した 4 週間後のコユビミドリイシ成体の骨格成長率 (%)

	300ppm	400ppm	600ppm	800ppm	1000ppm
growth rate	6.45 \pm 0.66	5.97 \pm 0.54	7.03 \pm 0.35	7.59 \pm 0.52	6.37 \pm 0.54
N	18	14	20	20	21
Mean \pm SE					

(c) 各 pH 処理区で飼育した 8 週間後のハマサンゴの群体別骨格成長率 (%)

colony	pH 8.0	pH 7.6	pH 7.4
A	27.2 \pm 1.6	19.9 \pm 3.0	9.7 \pm 1.7
B	16.7 \pm 1.7	9.6 \pm 2.4	3.0 \pm 0.7
C	17.9 \pm 0.9	8.9 \pm 1.1	4.2 \pm 0.9
Mean \pm SE			

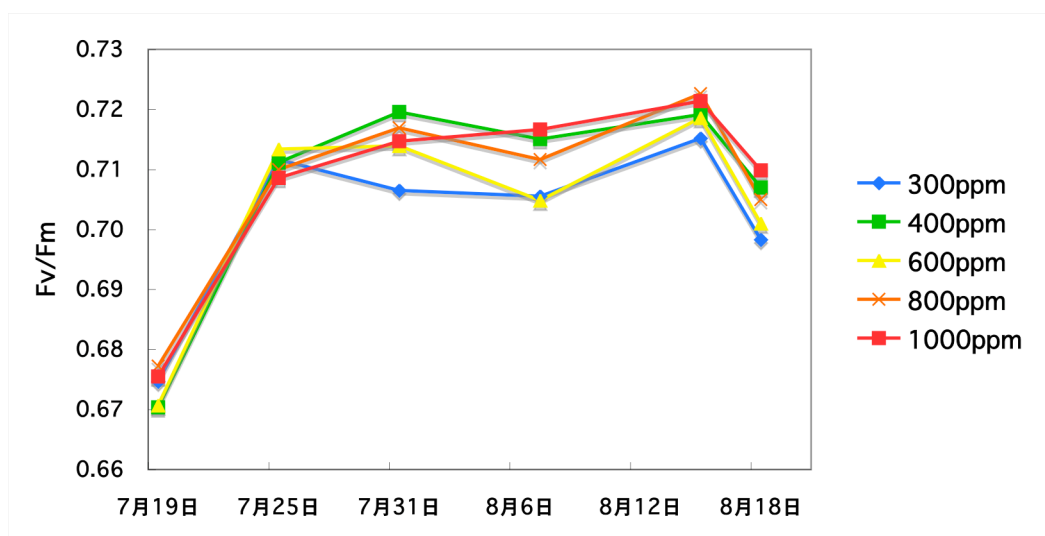


Fig. 9 各pCO₂処理区で飼育したコビミドリイシ成体の飼育期間中の光合成活性指数 (Fv/Fm) 変動 (11群体平均)

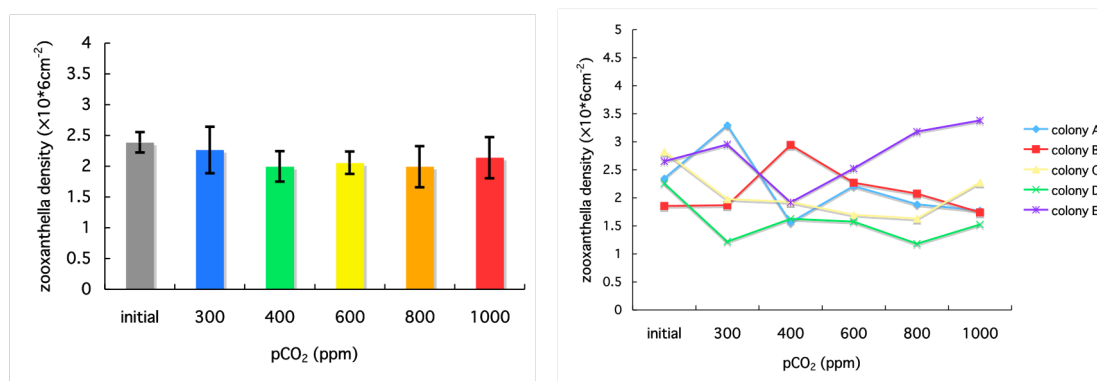


Fig. 10 コビミドリイシ成体の実験前と4週間後の各pCO₂区の褐虫藻密度
A: 5群体平均 (mean±SE)、B: 5群体別

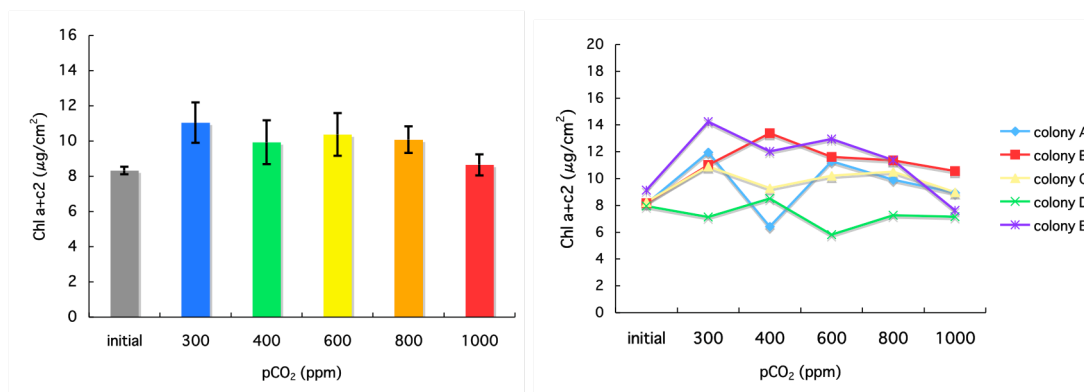


Fig. 11 コビミドリイシ成体の実験前と4週間後の各pCO₂区のクロロフィル量
A: 5群体平均 (mean±SE)、B: 5群体別

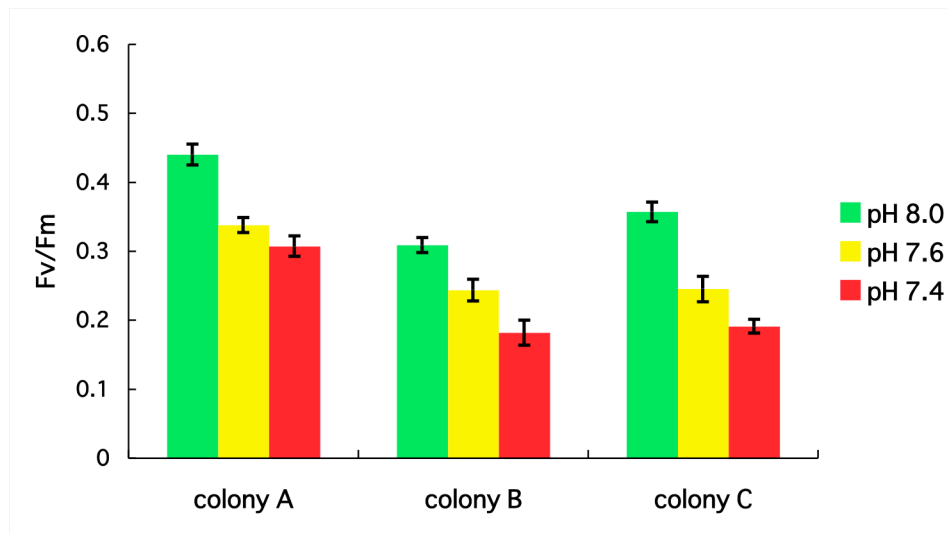


Fig. 12 各pH区で飼育した8週間後のハマサンゴの群体別光合成活性指数 F_v/F_m
(mean \pm SE, n=10)

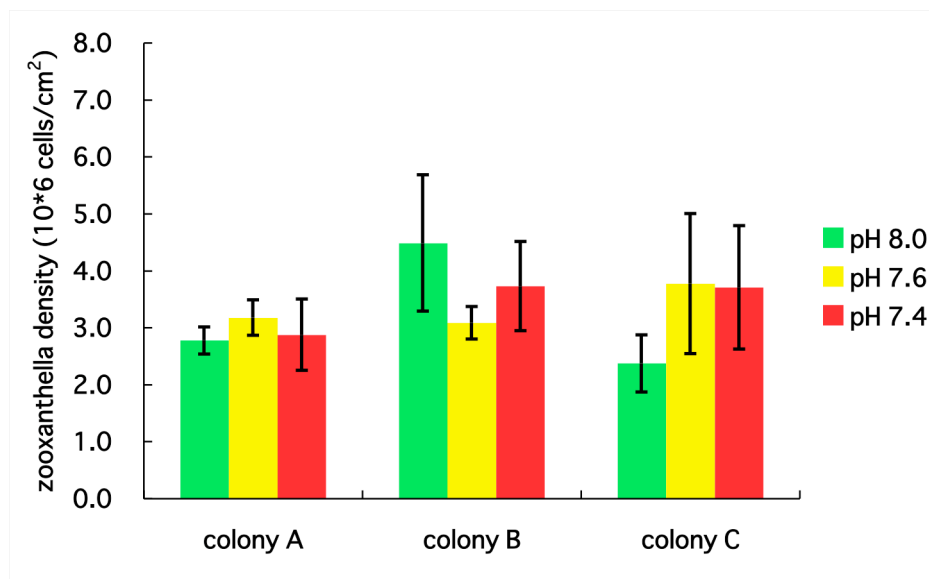


Fig. 13 各pH処理区で飼育した8週間後のハマサンゴの群体別褐虫藻密度
(mean \pm SE, n=10)

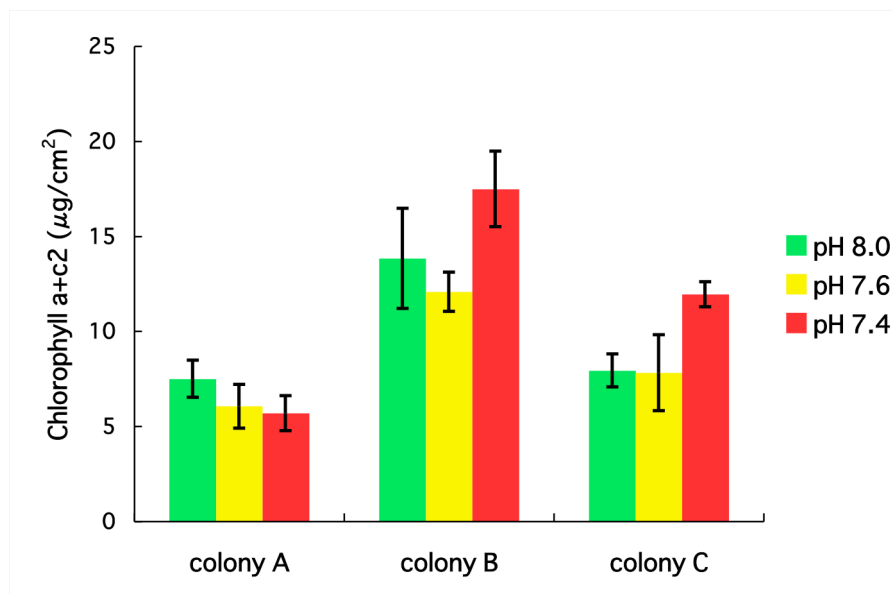


Fig. 14 各pH処理区で飼育した8週間後のハマサンゴの群体別クロロフィル量
(mean±SE, n=10)

Table 3 コユビミドリイシとハマサンゴの各光合成パラメータ

(a) 各 pCO₂ 処理区で飼育した 4 週間後のコユビミドリイシ成体の褐虫藻密度

	initial	300ppm	400ppm	600ppm	800ppm	1000ppm
×10 ⁶ /cm ²	2.4 ± 0.2	2.3 ± 0.4	2.0 ± 0.2	2.1 ± 0.2	2.0 ± 0.3	2.1 ± 0.3
Mean ± SE						

(b) 各 pCO₂ 処理区で飼育した 4 週間後のコユビミドリイシ成体のクロロフィル量

	initial	300ppm	400ppm	600ppm	800ppm	1000ppm
μg/cm ²	8.3 ± 0.2	11.1 ± 1.1	9.9 ± 1.2	10.4 ± 1.2	10.1 ± 0.8	8.7 ± 0.6
Mean ± SE						

(c) 各 pH 処理区で飼育した 8 週間後のハマサンゴの群体別光合成活性指数

colony	pH 8.0	pH 7.6	pH 7.4
A	0.44 ± 0.02	0.34 ± 0.01	0.31 ± 0.01
B	0.31 ± 0.01	0.24 ± 0.02	0.18 ± 0.02
C	0.36 ± 0.01	0.26 ± 0.02	0.19 ± 0.01
Mean (Fv/Fm) ± SE			

(d) 各 pH 処理区で飼育した 8 週間後のハマサンゴの群体別褐虫藻

colony	pH 8.0	pH 7.6	pH 7.4
A	2.8 ± 0.2	3.2 ± 0.3	2.9 ± 0.6
B	4.5 ± 1.2	3.1 ± 0.3	3.7 ± 0.8
C	2.4 ± 0.5	3.8 ± 1.2	3.7 ± 1.1
Mean (×10 ⁶ /cm ²) ± SE			

(e) 各 pH 処理区で飼育した 8 週間後のハマサンゴのクロロフィル量

colony	pH 8.0	pH 7.6	pH 7.4
A	7.5 ± 1.0	6.1 ± 1.2	5.7 ± 0.9
B	13.8 ± 2.6	12.1 ± 1.0	17.5 ± 2.0
C	8.0 ± 0.9	7.8 ± 2.0	12.0 ± 0.7
Mean (μg/cm ²) ± SE			

Table 4 幼サンゴの骨格重量と成体サンゴの骨格成長率の分散分析

(a) コユビミドリイシ幼サンゴの骨格重量

Factor	Number of parameter	df	SS	F-value	p (Prob>F)
pCO ₂	4	4	12977.349	9.97	<.0001

(b) コユビミドリイシ成体の骨格成長率

Factor	Number of parameter	df	SS	F-value	p (Prob>F)
pCO ₂	4	4	28.586	1.38	0.248

(c) ハマサンゴの骨格成長率

Factor	Number of parameter	df	SS	F-value	p (Prob>F)
pH	2	2	3349.074	56.52	<.0001
colony	2	2	1593.637	26.89	<.0001
pH*colony	4	4	92.068	0.78	0.5434

Table 5 各光合成パラメータの分散分析

(a) コユビミドリイシ成体の褐虫藻密度

Factor	Number of parameter	df	SS	F-value	p (Prob>F)
pCO ₂	4	4	0.26	0.14	0.965

(b) コユビミドリイシ成体のクロロフィル量

Factor	Number of parameter	df	SS	F-value	p (Prob>F)
pCO ₂	4	4	15.404	0.73	0.5824

(c) ハマサンゴの光合成活性指数

Factor	Number of parameter	df	SS	F-value	p (Prob>F)
pH	2	2	0.312	73.57	<.0001
colony	2	2	0.236	55.72	<.0001
pH*colony	4	4	0.009	1.03	0.3979

(d) ハマサンゴの褐虫藻密度

Factor	Number of parameter	df	SS	F-value	p (Prob>F)
pH	2	2	0.232	0.06	0.9399
colony	2	2	3.098	0.83	0.4522
pH*colony	4	4	6.716	0.9	0.4849

(e) ハマサンゴのクロロフィル量

Factor	Number of parameter	df	SS	F-value	p (Prob>F)
pH	2	2	39.3	2.67	0.1
colony	2	2	298.642	20.26	<.0001
pH*colony	4	4	38.809	1.32	0.306

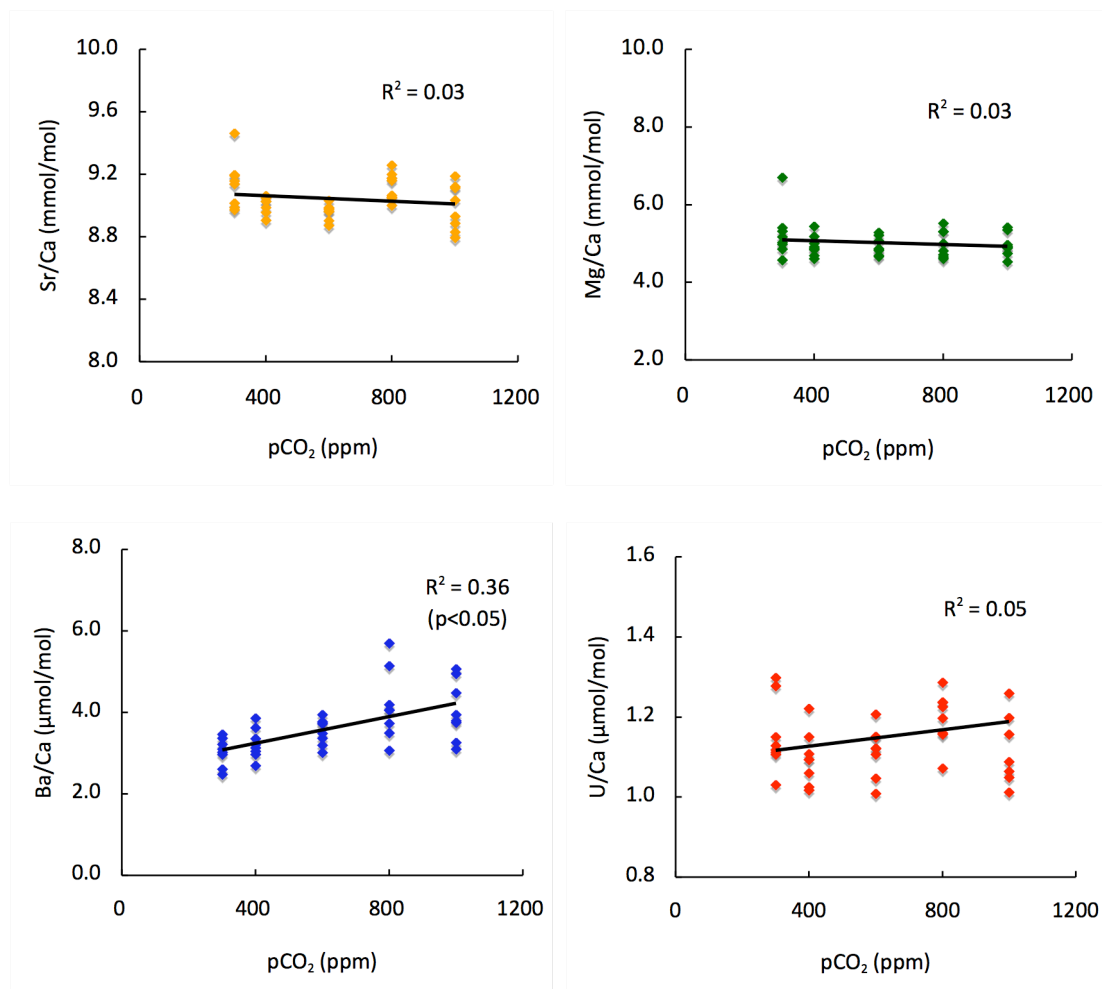


Fig.15 コユビミドリイシ幼サンゴの $p\text{CO}_2$ に対する各微量元素比

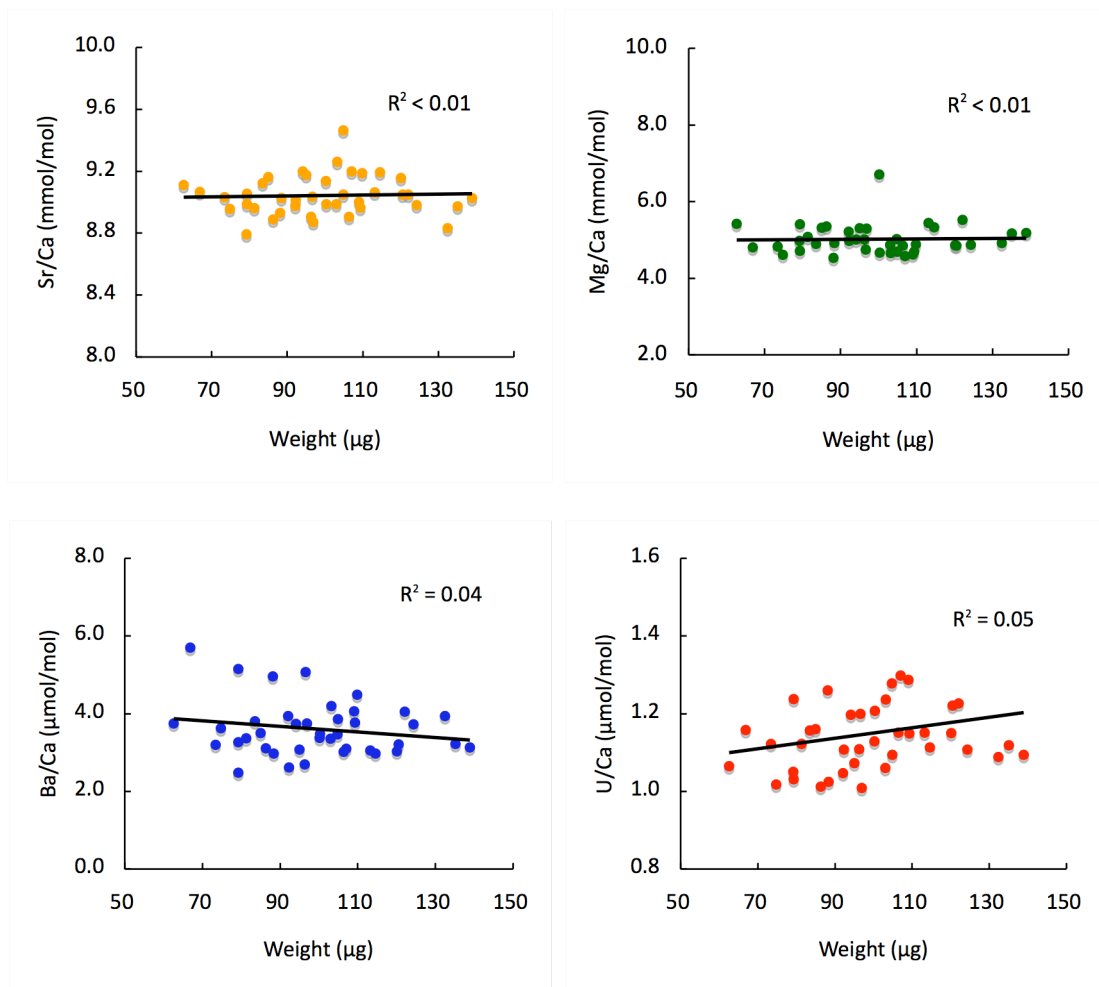


Fig. 16 コユビミドリイシ幼サンゴの骨格重量に対する各微量元素比

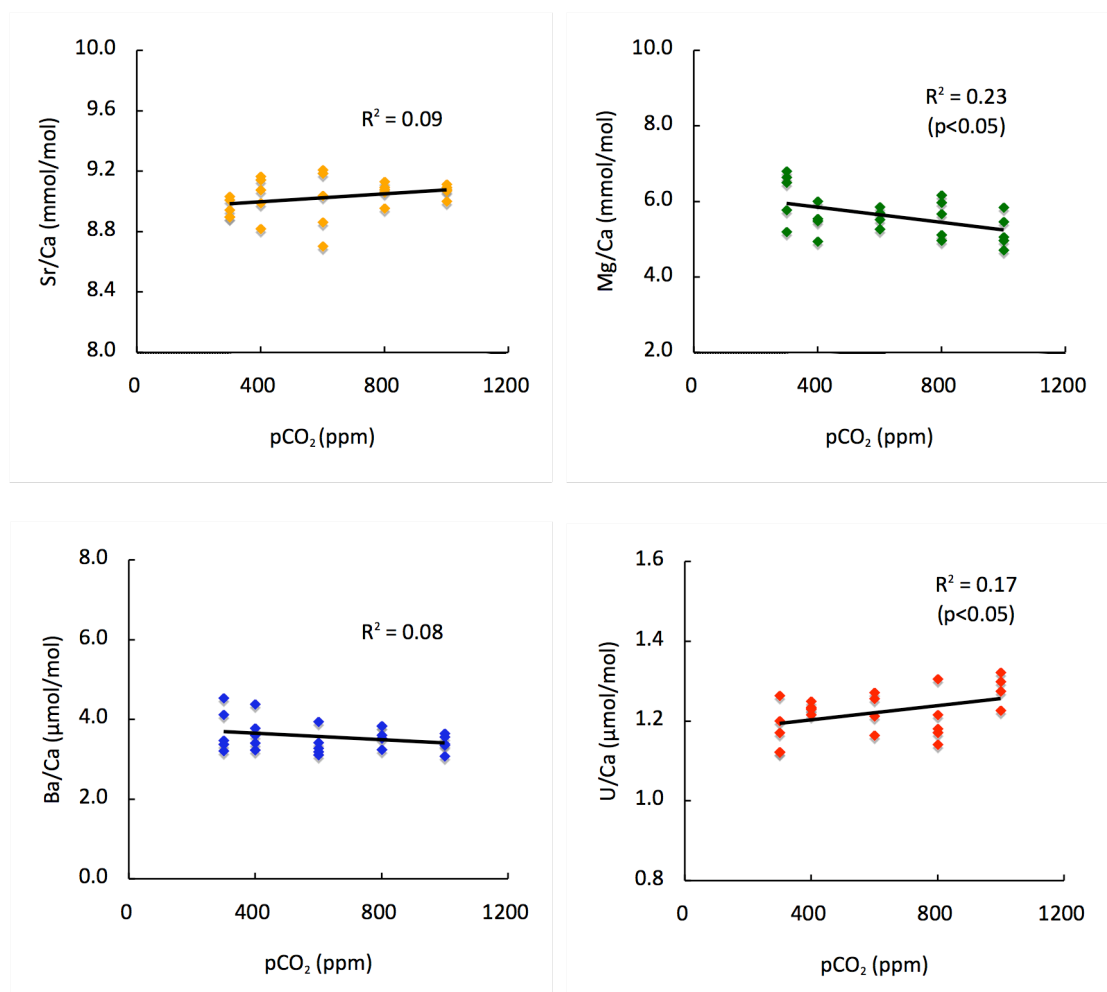


Fig. 17 コユビミドリイシ成体の $p\text{CO}_2$ に対する各微量元素比

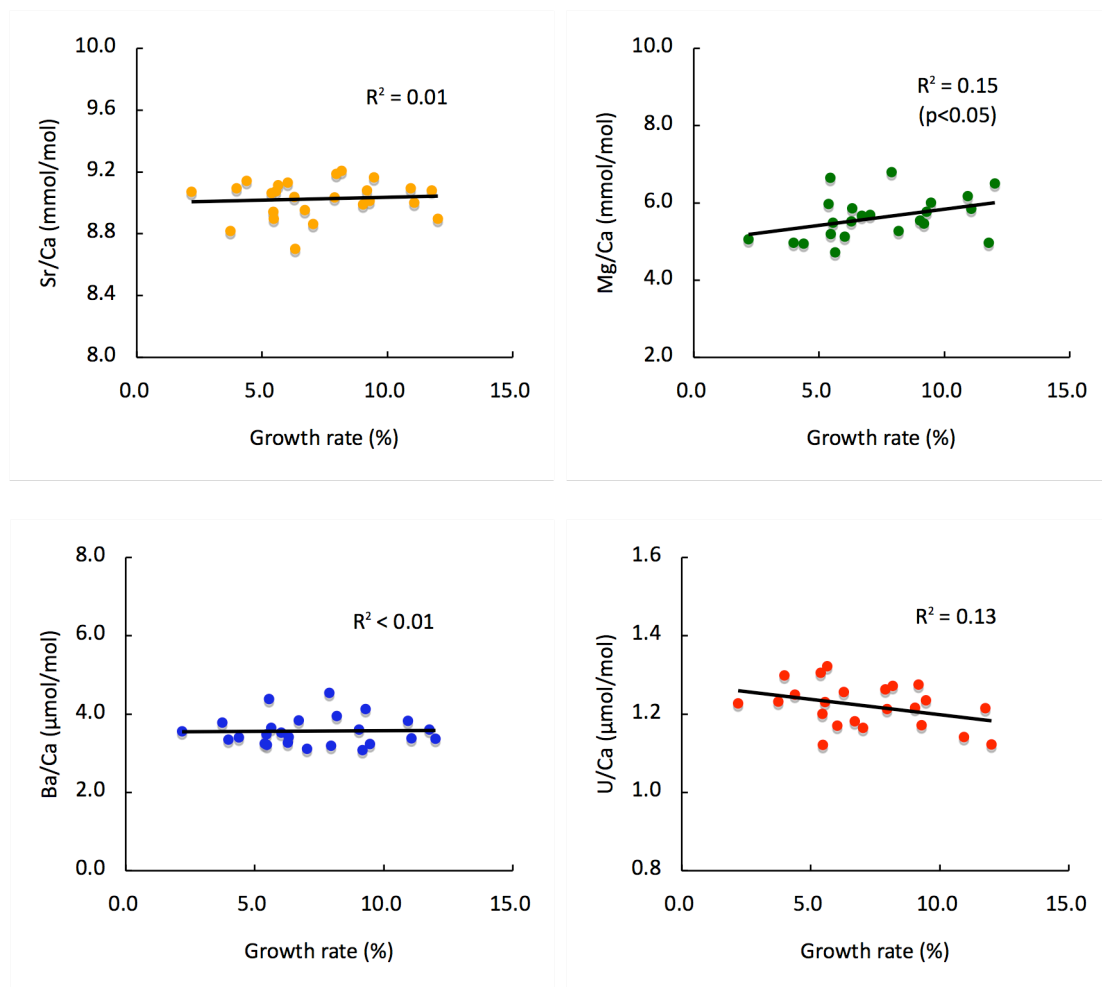


Fig. 18 コユビミドリイシ成体の骨格成長率に対する各微量元素比

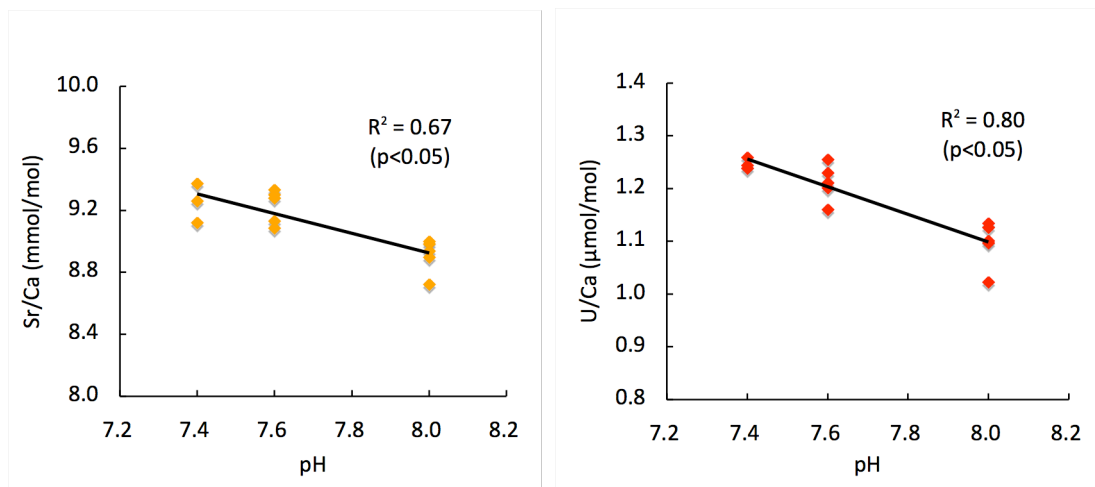


Fig. 19 ハマサンゴのpHに対する各微量元素比 (Sr/Ca比、U/Ca比)

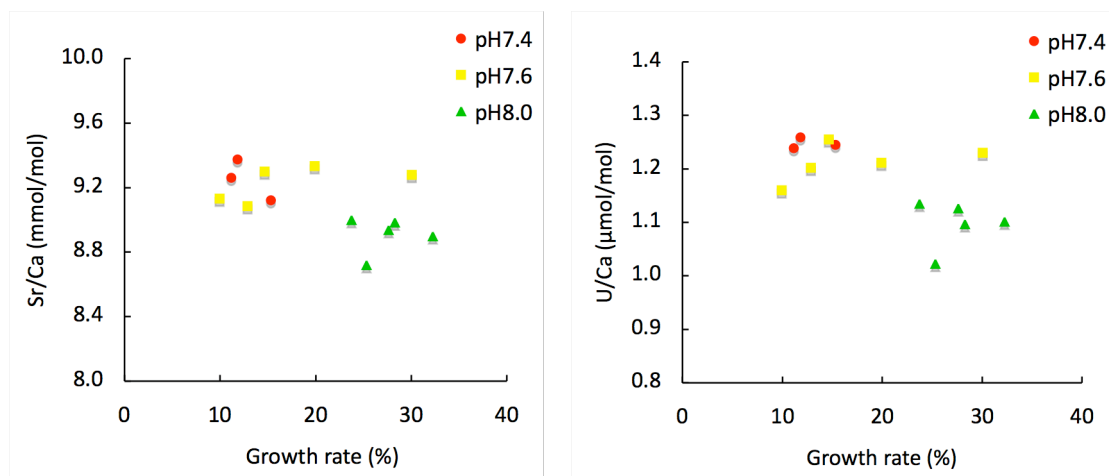


Fig. 20 ハマサンゴの骨格成長率に対する各微量元素比 (Sr/Ca比、U/Ca比)