

サンゴのバイオミネラリゼーション

渡邊 剛*・白井 厚太郎**・島村 道代***

(2005年12月16日受付, 2006年3月6日受理)

Coral biomineralization

Tsuyoshi WATANABE*, Kotaro SHIRAI** and Michiyo SHIMAMURA***

- * Department of Natural History Sciences, Graduate School of Science,
Hokkaido University, N10W8 Kita-ku, Sapporo 060-0810, Japan
- ** Ocean Research Institute, University of Tokyo 1-15-1,
Minamidai, Nakano-ku, Tokyo 164-8639, Japan
- *** Graduate School of Environmental Earth Science, Hokkaido University,
N10W5 Kita-ku, Sapporo 060-0810, Japan

Reef-building corals are distributed in the tropical and sub-tropical oceans and can be found as fossils in a significant fraction of the geologic record extending back to the middle Triassic. Their skeletons continuously grow up to one of the largest biological architectures on the earth, which support various marine lives in nutrient poor regions. Moreover, recent global warming gives corals another importance as powerful tool to reconstruct paleoclimate recorded in their skeletons with high-resolution. Understanding mechanism of coral biomineralization is crucial and common subject among interdisciplinary fields including geology, paleontology, biology, geochemistry, climatology and material science. However, exact mechanism of calcification processes is still poorly understood. For better understanding of coral biomineralization, we need to put structural, physiological and bio-geochemical information on very small space in calcification site. Most recently, significant progress and novel technique have been developing in several related fields. For example, microanalytical methods with nano- to sub-micronmeter scale, observations of nanometer size grains in coral microstructures, and a novel coral culture technique have been developed during last several years. By combining these new skills, it is now possible to observe biogeochemical signs within ultra fine structures in coral skeletons. Such new combined approaches hold the promise of yielding important new insights into the various biomineralization processes.

Key words: corals, biomineralization, calcification, trace elements, oxygen isotope, paleoclimate

1. はじめに

- * 北海道大学大学院理学研究院自然史科学部門
〒060 0810 札幌市北区北10条西8丁目
- ** 東京大学海洋研究所先端海洋システム研究センター
〒164 8639 東京都中野区南台1 15 1
- *** 北海道大学大学院地球環境科学研究院地球圏科学専攻
〒060 0810 札幌市北区北10条西5丁目
現在, 韓国海洋研究院
ANSAN P. O. Box 29, SEOUL
425 600, KOREA

熱帯～亜熱帯に広く生息する造礁性サンゴは、非常に速い速度で炭酸塩骨格を形成し、サンゴ礁という地球上で最も大きなバイオミネラリゼーション(生物鉱化作用)の産物を作り出す。また、サンゴ骨格の3次元的なフレームワークは、貧栄養海域における多くの浅海性生物に安定した生息の場を与え、海の熱帯雨林といわれるほどの豊富な生態系を支えている。さら

に、造礁性サンゴの骨格は、年輪を刻みながら数百年間に渡って成長を続けるために、熱帯域における過去の気候変動を高解像度で記録している。近年、全球規模の地球温暖化が危惧されており、その将来予測への社会的な関心が高まっている。また、エルニーニョ南方振動（ENSO）などに代表される熱帯域の大気海洋相互作用が、地球規模の気候変動に多大な影響を与えることが明らかになってきた。この様な現状を背景として、地球温暖化の動向を知る上で重要となる過去から現在までの低緯度域における気候変動を復元するツールとして、サンゴ骨格を用いた環境解析の研究が非常に盛んになってきた（e.g. Gagan *et al.*, 2000）。しかしその一方で、環境を記録するサンゴ骨格バイオミネラリゼーション（生物鉱化作用）の解明はほとんど進んでいない。これは、その解明に様々な分野を含む学際的アプローチと、ナノテクノロジーなど最新鋭の技術が必要なためだと考えられる（Fig. 1）。

サンゴ骨格のバイオミネラリゼーション研究は、古生物、生物学、地球化学、生化学など様々な分野でそれぞれの経緯で別々の手法を用いて行われてきた。古生物学では、古くから微細構造の観察とそれらの系統分類学的な意義付けなどの視点から研究が行われてきた。また従来、生物学分野においては、共生藻類とその宿主であるサンゴ虫との間での物質移動や、サンゴ種毎の遺伝的な変異に関する研究など、生理学、分子生物学、生化学的な手法を用いたものが多かったため、骨格形成に関する研究が始められたのは、つい近年になってからである。またサンゴ骨格に記録されている情報を、同位体比や微量元素分析など、分析化学的な手法を用いて復元する地球化学分野では、実際に骨格がどのような状況で形成され、どのような情報が記録されているのかを把握することが重要であるが、最近まで骨格のバイオミネラリゼーションに視点をおいた研究はほとんどなされてこなかった。

近年、イオンマイクロプローブなどを用いた微小領域化学分析がサンゴ骨格に応用されるようになり、マイクロスケールからナノスケールでの微量元素や同位体比の組成分布を見ることが可能になった（Meibom *et al.*, 2003; Rollion-Bard *et al.*, 2003a）。これらの結果から、骨格内の微小領域におけるストロンチウムや酸素同位体比など水温指標となる化学組成には、大きな不均質性が存在することが明らかになった。このような微小領域における化学組成の不均質は、時に季節変動幅を超える変化を持っており、生息域の水温変化で

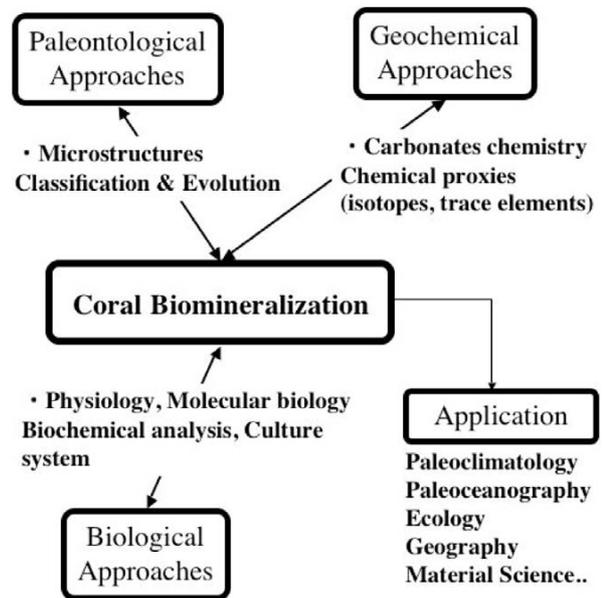


Fig. 1 Diagram shows understanding of coral biomineralization from interdisciplinary approaches.

は、到底説明が見つからない。このことは、サンゴ骨格を用いて古環境復元を行う研究者達ばかりではなく、サンゴ骨格から復元された記録を基に、熱帯域の気候モデリングを構築しようとしている気候学者らには衝撃を与えた。しかしその一方で、バイオミネラリゼーションを研究している材料工学や生物学者らにも興味を持たれる結果となった。

このように、分析化学者が開発した高精度の“化学顕微鏡”によって、今まで見ることでできなかった時間的、空間的な化学組成を見ることができるようになる一方、水槽でのサンゴの飼育技術にも、最新の技術が取り入れられるようになった。これら別々に開発された技術と知見を組み合わせることより、今まで困難であったマイクロメートルサイズの微細構造を持つサンゴの骨格構造や、数時間単位で変化するサンゴの生理学的環境と骨格内の化学組成を関連づけて議論することが可能となってきた。本稿では、最新の地球化学、古生物学および実験生物学の方面からの試みを簡単に概観し、サンゴ骨格のバイオミネラリゼーションの解明に向けた糸口を議論する。

2. サンゴ骨格の形成機構と微細構造

造礁性サンゴの多くは、いくつものサンゴ個虫（polyp）が集まった群体（colony）となりサンゴ個

虫の収納される骨格すなわちサンゴ個体 (corallite) は、夾壁 (thecal wall), 軸柱 (columella), 隔壁 (septa), 泡沫状組織 (dissepiment) からなる基本構造を持っている (Fig. 2)。サンゴの最初ミネラリゼーションは、1匹のサンゴ幼生が、岩盤などの安定した基盤に着底した後、サンゴ虫に変態し、その基底部に生じることから始まる (Vandermeulen and Watabe, 1973)。この最初の1匹のサンゴ虫が無性生殖を繰り返し、群体を形成してゆく。サンゴ骨格を構成するアラゴナイト結晶は、繊維状もしくは針状の結晶形と、その繊維状結晶の中心部に存在する粒状の結晶形から成ることが知られており、後者は、古くから “Centres of calcification” と呼ばれていた (Pratz, 1882)。走査型電子顕微鏡を用いて両者の表面微細構造を観察すると、粒状結晶の周囲を、繊維状もしくは

針状の結晶 (Fibres) が取り囲む構造をしており、繊維状結晶には、数マイクロメートル間隔の成長線が確認される (Fig. 3)。さらに、最近の原子間力顕微鏡 (Atomic Force Microscope; AFM) を用いた観察により、様々なサンゴ種の繊維状結晶の内に、さらにナノサイズの粒状構造が観察されることがわかった (Fig. 4)。

Cohen *et al.* (2001) ; Cohen *et al.* (2002) は骨格の Sr/Ca 比を、二次イオン質量分析計 (SIMS; Secondary Ion Mass Spectrometer) で組織構造ごとに分けて測定した。その結果、繊維状結晶の Sr/Ca 比は無機的に沈殿したものから大きく離れていたため、この組織は昼間に形成され共生藻類の光合成の影響を強く受けており、逆に、粒状結晶は Sr/Ca 比が無機的に沈殿したものと近いことから、夜間、光合成の影響を受けずに形成されたものであると結論づけた。一方、Cuif and Dauphin, (1998) ; Cuif *et al.* (2003) ; Cuif and Dauphin, (2005a, b) は、繊維状結晶の微細構造の観察と、それらの結晶を包み込む有機膜の生化学的な特徴から、繊維状結晶に見られる成長線は、昼と夜の連続した環境が記録されているものであると結論づけた。彼らはまた、繊維状結晶が囲んでいる粒状結晶は、石灰化初期に生成する結晶ユニットであり、その後に環境の変化を記録しながら時間をかけて形成する繊維状結晶と区別するために初期硬化帯 (EMZ; Early Mineralization Zones) と呼ぶべきだとしている。Meibom *et al.* (2004) は、従来の SIMS よりもさらに分解能が高い Nano SIMS を用いて、数十ナノレベルでこの2つの結晶間の微量元素を測定した。その結果、Mg の濃度は粒状結晶の方が繊維状結晶より

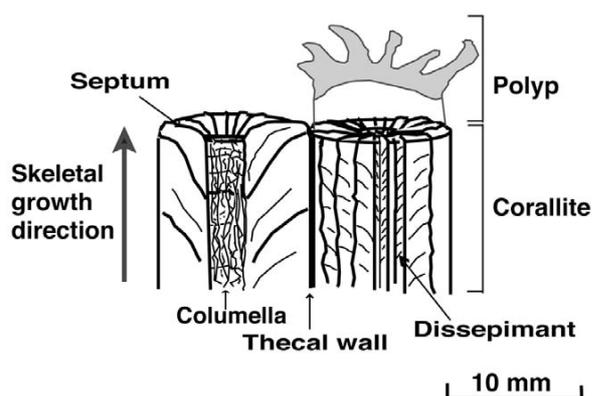


Fig. 2 Schematic diagram of coral skeletal structures. Each corallite consists of theca, columella, dissepiments and septum.

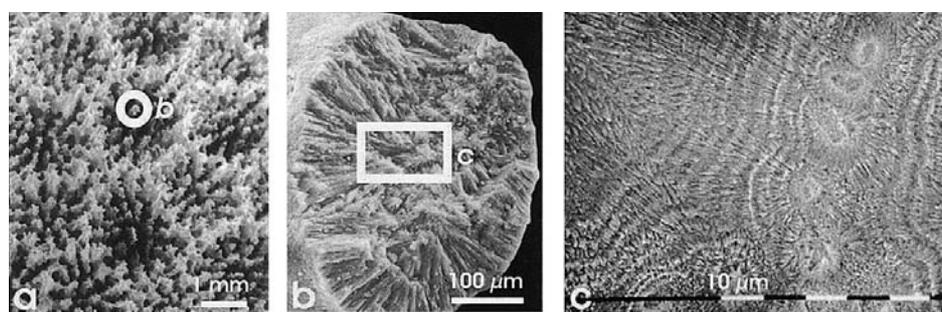


Fig. 3 SEM images of coral *Porites*. (a) Global view of corallite showing skeletal elements, (b) fracture surface of palus (circle in “a”), (c) polished/etched surface of palus showing the stepping growth mode of fibres radiating from early mineralization zone (EMZ): each biomineralization growth layer is the elemental environment recording unit (Pictures courtesy of J. P. Cuif).

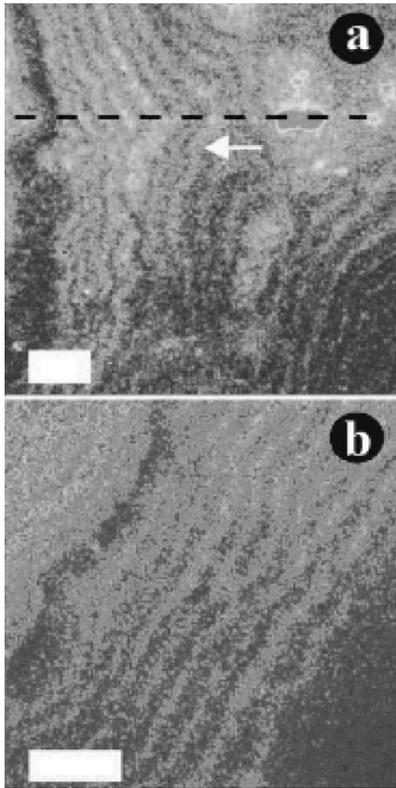


Fig. 4 Nano scale microstructure of coral skeleton of *Porites australiensis* (a-b) *Favia stelligera* (c-d), and *Desmophyllum* sp (e-f) imaged with Atomic Force Microscopy (AFM). Pictures in the left column (a, c, e) represent topography and those in the right column (b, d, g) phase contrast, respectively (Field view 500 nm). Pictures courtesy of Prof. J. P. Cuif (after Cuif *et al.*, 2005b).

も高く、また繊維状結晶の成長線に沿って、Mg濃度が濃淡を繰り返すことを明らかにした (Fig. 5)。このことは、Cuif *et al.* (2003) の XANES (X-ray absorption near edge structure spectroscopy (X線吸収端構造解析法)) マッピングで確認された、1) 有機物由来の硫酸基が粒状結晶に濃集、2) 繊維状結晶に観察される成長線のリズムに対応する硫酸基の変化、という結果と似ている。Meibomらが推測するように、炭酸塩結晶内のマグネシウムが有機物由来であり、その挙動は生物活動に強く影響を受けるものであるとすると、2つの結果は相補的である。

サンゴ骨格のバイオミネラリゼーションが、有機膜が最初に生成され、その鋳型をもとに結晶が成長していく有機物誘導型のものなのか、最初に結晶の核のようなものが形成され、その後有機膜が覆っていくの

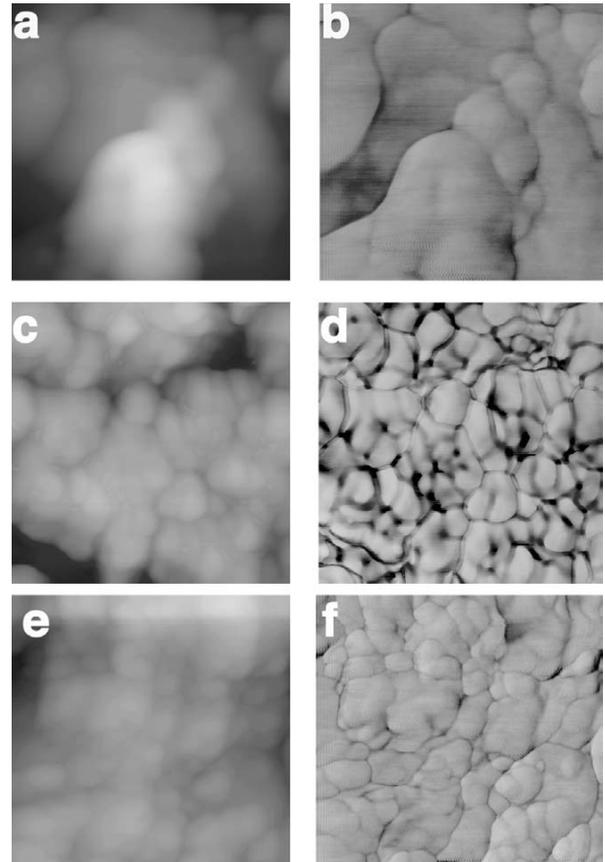


Fig. 5 The distribution of Mg in different parts of the *Pavona clavus* skeleton from Meibom *et al.* (2004). Dark zones correspond to relatively low Mg concentrations; bright correspond to increasingly high Mg concentrations (a, b). EMZ have the highest concentration of Mg (upper right part on a line in "a"). Arrow indicates direction of growth. Scale bars are 10 mm.

かは、まだ議論が続いているところであり、これはナノスケールの粒状結晶の役割と共に今後一層の研究が望まれる。そのためには、これらのサンゴ骨格のマクロスケールからナノスケールでの微細構造による化学組成の分布を明らかにできる高解像度の骨格化学分析が期待される。

3. サンゴ骨格の成長・阻害因子

サンゴ骨格の成長を規制する外的な要因として、水温、塩分、光量、CO₂分圧、pH、栄養塩、サンゴが捕食する餌の量などが考えられる。Reynaudらモノコ科学センターの生物学チームは、1 cm 径のサンゴ群体の破片をスライドガラス上に固定して飼育し、骨

格を成長させる技術を確立した。この技術により、特定の環境因子だけを变化させ他の環境を一定に保つことで、各制御因子の骨格形成に与える影響を詳細に検討することが可能となる。既に水温 (Reynaud-Vaganay *et al.*, 1999), CO₂分圧 (Reynaud *et al.*, 2004a), 餌の有無 (Reynaud *et al.*, 2002), 光量 (Reynaud-Vaganay *et al.*, 2001; Reynaud *et al.*, 2004b) を骨格形成因子とした比較実験が行われている。水温と光量および餌の有無では、変量が高い値 (餌の場合は与えた場合) の方が、石灰化量が高くなる結果になり、CO₂分圧の場合は逆の傾向を示した。また水温の実験では、27℃を超えると逆に石灰化量が低下することがわかった。これらの飼育実験は、その条件が限られたもの (実験飼育水槽の数) であったが、それぞれの環境因子が実際に石灰化を制御し得ることが示唆された。

一方、天然では、これらの様々な環境因子はそれぞれ異なった周期や要因で別々に変動している場合が多く、いくつもの要因が重なり合った複雑な環境下で骨格が形成されている。造礁性サンゴの骨格から形成されるサンゴ礁の現在の分布域は、18℃から30℃付近の水温範囲であることから、この範囲がサンゴの骨格成長に適している水温であるとされてきた。しかし、長崎県の壱岐のような冬の水温がそれをはるかに下回るような環境 (13℃) でもサンゴ礁が形成されることがわかった (Yamano *et al.*, 2001)。通常30℃を超えると起こる白化がこのような低温環境下に適応して生存する造礁性サンゴでは、より低温でも起こることが指摘されている。Suzuki *et al.* (2003) は、エルニーニョ現象に伴う高水温時に白化したサンゴ骨格の酸素・炭素同位体比を詳細に測定し、白化が起こると骨格の形成が中断し、その後も数ヶ月間に渡って骨格を形成しない場合があることを明らかにした。Shimamura *et al.* (2005) では、Watanabe and Oba (1999) で報告された冷凍マイクローム法を用いてサンゴ骨格を成長方向に約60マイクロメートル間隔で削り、質量分析計を用いて酸素同位体比を測定した。年間の骨格成長量 (約15 mm) から、この間隔はおよそ1~2日に対応するため、詳細な酸素同位体比曲線をサンゴ生育地点で測定部位の成長期間に観測された水温・海水の酸素同位体比 (海水の酸素同位体比を測定し、塩分の実測値から算出) の実測記録と対比した。これは従来行われてきた古環境記録を復元するための手法と同様であるが、分析間隔と現場実測記

録が共に日ベースであるため、詳細な検討が可能であった。その結果、水温が22℃より低温、30℃よりも高温の時期、および塩分が27よりも低い時期には、骨格が成長していないとことを明らかにした (Fig. 6)。SIMS を用いた30×50マイクロメートルのスポットサイズでの酸素同位体比の測定結果 (Rollion-Bard *et al.*, 2003a) は、サンゴが生息する水温変化で説明できる変動幅の10倍以上もの変動幅を示した。彼らはまた、pHの変動を記録していると考えられるホウ素同位体比の測定値から、石灰化過程におけるpHの変動を求めた。それによると、異なる同位体組成をもつ溶存炭酸種 (H₂CO₃, HCO₃⁻, CO₃²⁻) の割合がpHによって変化し、取り込まれた時の溶存炭酸種の割合によって同位体組成が決定されるとした。彼らは、この計算により石灰化過程におけるpHの変動は、7.1から9.0で、石灰化に要する時間は1時間から12時間であるとした。一方 Marubini and Atkinson (1999) は、いくつかのpHの異なる水槽でサンゴを飼育し、pHの低下に伴うCO₃²⁻の減少が骨格形成速度の低下を招くという結果を得た。今後、マイクロメートルからナノメートルスケールでのサンゴ骨格形成を理解していく上には、数時間単位で変化するサンゴ骨格形成場での環境因子の変動を考慮していく必要がある。

4. 深海サンゴの骨格形成機構

深海サンゴは、共生藻類を持たずに単体で生息するサンゴであり、その生息域は水深数千メートルの海底にまで及ぶ (Lazier *et al.*, 1999)。造礁サンゴは共生藻類の光合成により作られる養分をもらっているため昼夜で生物代謝が大きく異なるのに対し、深海サンゴは季節変動の少ない環境で浮遊粒子を捕食することにより生活するので、生物活動が安定していると考えられる。また造礁サンゴと比較すると深海サンゴの石灰化速度は非常に遅い。一方、深海サンゴの骨格も造礁サンゴと同様にアラレ石で構成され、粒状結晶 (EMZ) を繊維状結晶 (Fibers) が取り囲むという骨格微細構造を保持しており、両者の石灰化機構は類似していると考えられる。このような造礁サンゴに対する類似性と対称性はサンゴのバイオミネラリゼーションに関する重要な知見を与えてくれる。また、深海サンゴでは、一つのサンゴ個虫の大きさが造礁サンゴのものに比べると大きい場合が多く、さらに、各骨格微細組織内の粒状結晶と繊維状結晶の大きさが造礁

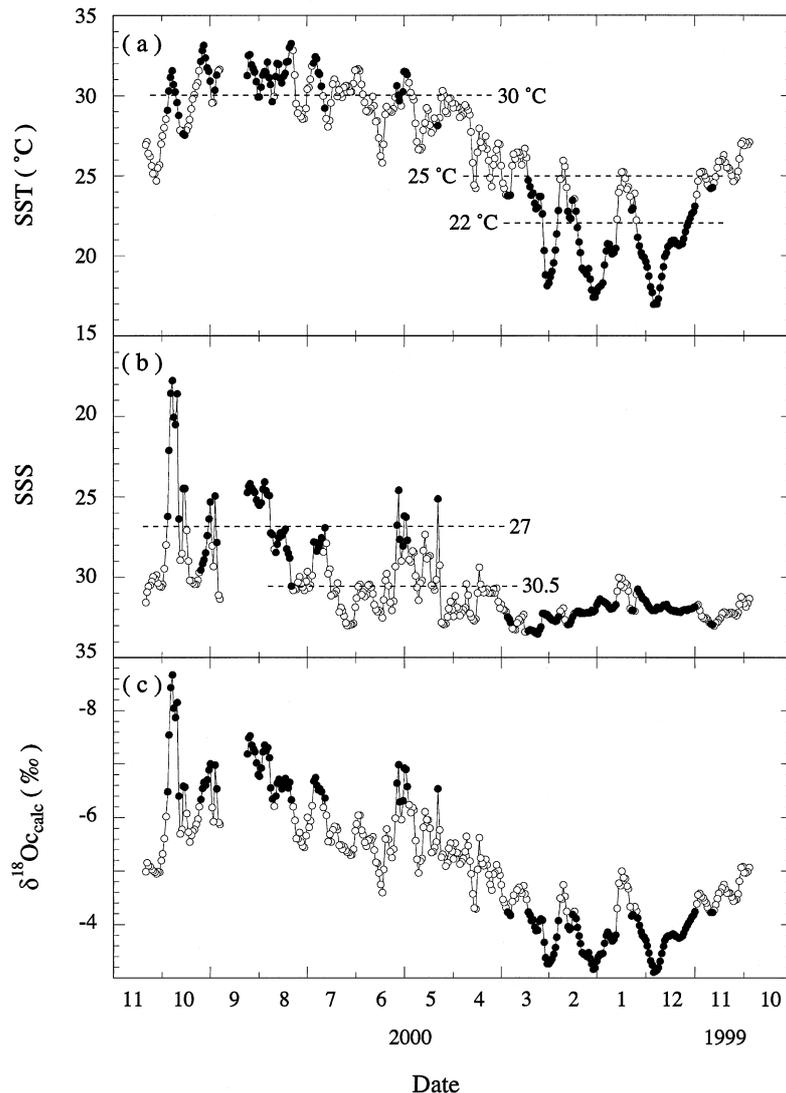


Fig. 6 Variations of daily (a) SST (Surface Seawater temperature), (b) SSS (Surface Seawater Salinity), and (c) oxygen isotope composition of coral skeleton ($^{18}\text{O}_{\text{calc}}$) predicted from SST and SSS from October 1999 to November 2000. Open circles indicate the days when $^{18}\text{O}_{\text{calc}}$ are within the range of $^{18}\text{O}_{\text{c}}$ critical temperatures and salinities for this coral growth.

サンゴのものよりも大きいため微小領域分析に適しているという利点も持つ。

Adkins *et al.* (2003) Rollion-Bard *et al.* (2003b) は、深海サンゴの粒状結晶と繊維状結晶の安定同位体比をそれぞれ個別に分析し、骨格形成時に取り込まれた溶存炭酸種の割合によってそれぞれの結晶の同位体組成が決定されると報告している。また粒状結晶が繊維状結晶に比べて炭素・酸素ともに小さい同位体組成を示すことから、粒状結晶が繊維状結晶に比べ石灰化

速度が速いと結論づけた。造礁サンゴの場合、粒状結晶構造の大きさが10マイクロメートル程度であり、各結晶形間の同位体分布を調べるのは従来手法では困難であった。このような結晶の形態の違いによる同位体不均質は深海サンゴの分析により明らかになった知見である。

Shirai *et al.* (2005) は、深海サンゴの微量元素を EPMA (Electron Probe Micro Analyzer) と SIMS を用いて測定し、石灰化速度の速い粒状結晶は繊維状結

晶と比較して Mg は濃集するが Sr と U は薄くなることを明らかにした (Fig. 7)。また, Shirai *et al.* (2005) は, 速い結晶化速度で生成された炭酸カルシウムは遅い場合と比べて海水組成に近づくというモデル (Morse and Bender, 1990; Rimstidt *et al.*, 1998) を引用し, 深海サンゴの微量元素組成は結晶化速度に依存していると結論づけている。一方, 造礁サンゴでは粒状組織に Mg, Sr とともに濃集しており (Meibom *et al.*, 2004), この様な元素分布の違いは共生藻類の存在の有無で元素取り込みのメカニズムが大きく異なる

ことを示している。

深海サンゴの結晶構造ごとの元素・同位体分布の研究結果は, 従来水温などの外部環境因子によって変動が支配されると考えられていた化学指標の変動が, 微小領域ではむしろ結晶型の違いとして記録される生物活動の変化に依存しているという重要な知見を与えた。今後, サンゴのバイオミネラリゼーション機構の理解をさらに深めていくには, 外部環境因子を明らかにするだけでなく, サンゴ骨格の微細構造に関連づけられる内部環境因子 (生物活動) がバイオミネラリ

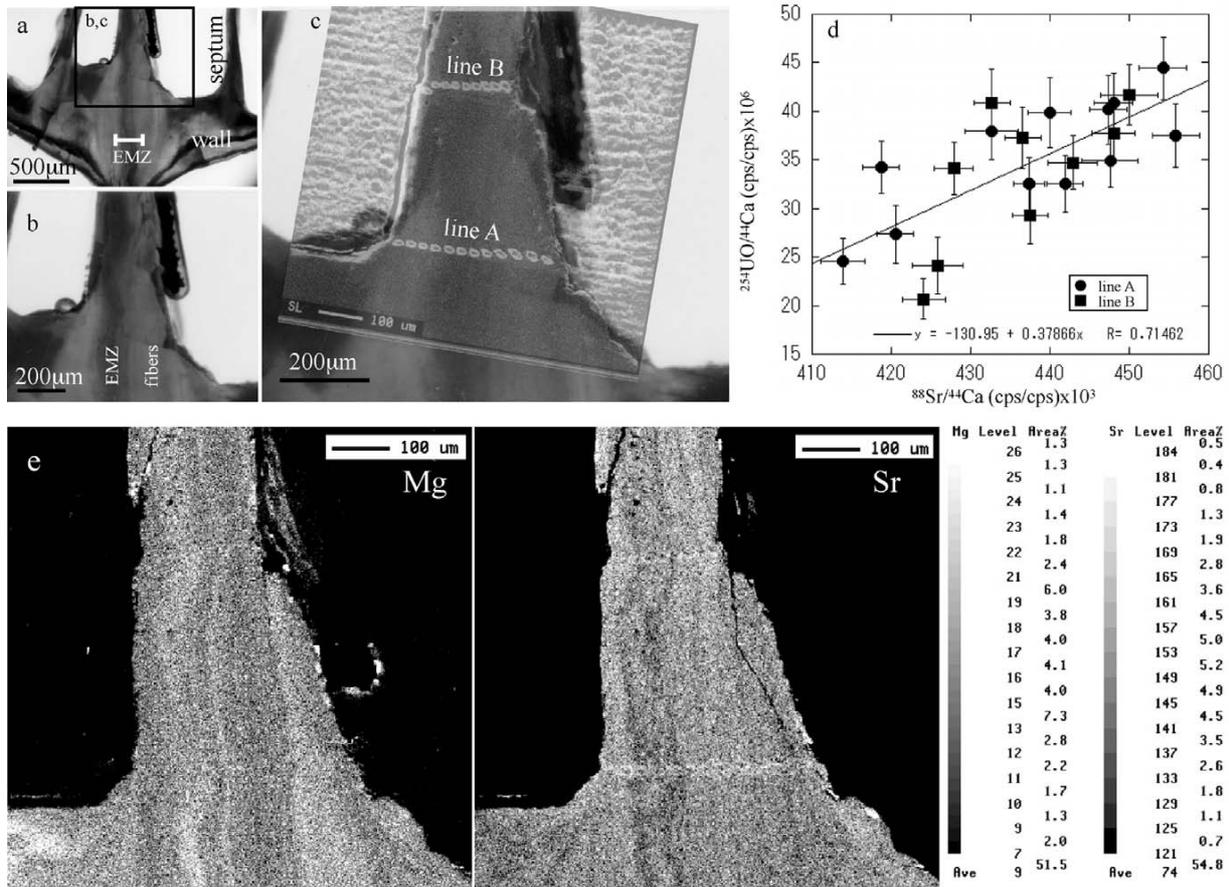


Fig. 7 (a, b) Elemental mapping for the thin section of the deep-sea coral (*Caryophyllia ambrosia*). Thin section of the skeleton (cross section). Transmitted light microscopy. (c) Secondary electron image obtained by EPMA is overprinted on (b). The circles on two lines (A, B) are the analytical spots of the SIMS measurements. The Early Mineralized Zone (EMZ) are characterized by the dark part of the skeleton (center part of the septum). Bright part is fibers. (d) Relationship between Sr/Ca ratio and U/Ca ratio. Horizontal axis shows the raw count ratio of $^{88}\text{Sr}/^{44}\text{Ca}$. Vertical axis shows the raw count ratio of $^{254}\text{U}/^{44}\text{Ca}$. Linear regression line and equation are calculated from SIMS measurement lines (A and B) in C. R: correlation coefficient. (e) Mapping images of the element distribution obtained by EPMA. Left: Mg. Right: Sr. Bright images implies high and dark implies low concentration of element measured. The EMZ, concentrates Mg, but depleted in Sr. At the EMZ, concentration of Mg is high but that of Sr is low. Scale bar corresponds to 100 μm.

ゼーションに与える影響を明確にしていく必要がある。

5. ま と め

造礁性サンゴは、豊富な海の生態系を支えるだけでなく、熱帯域の大気海洋相互作用の変動を記録しており、骨格のバイオミネラリゼーションの解明は重要な課題である。そのためには、サンゴの石灰化が、1) 変化に富むサンゴ礁環境、2) マイクロ~ナノメートルスケールの微小領域、3) 共生藻類の活動を含む数時間単位で変化する生理学的環境で起こっているということを考えなくてはならない。従って、飼育技術を含む実験生物学や微細構造観察技術、局所領域の化学分析などの技術と見地を組み合わせる必要がある。また共生藻類を持たず、安定した環境に生息する深海サンゴや、共生藻類を持ちほぼ造礁性サンゴと同じ環境に生息するが、異なる微細構造を持つシャコガイなどの石灰化機構 (Watanabe and Oba, 1999) との比較検討も有効であると思われる。

謝 辞

本特集号に寄稿のお勧めを頂き、また、貴重なご助言を頂いた琉球大学理学部大出茂教授に謝意を申し上げます。また、有益なコメントとご助言を頂いた海洋研究開発機構の小俣珠乃博士、東北大学大学院理学研究科の中森亨助教授、匿名の査読者に改めて感謝致します。

文 献

- Adkins J. F., Boyle E. A., Curry W. B. and Lutringer A. (2003) Stable isotopes in deep-sea corals and a new mechanism for "vital effect". *Geochim. Cosmochim. Acta* **67**, 1129-1143.
- Cohen A. L., Layne G. D., Hart S. R. and Lobel P. S. (2001) Kinetic control of skeletal Sr/Ca in a symbiotic coral: Implications for the paleotemperature proxy. *Paleoceanography* **16**, 20-26.
- Cohen A. L., Owens K. E., Layne G. D. and Shimizu N. (2002) The effect of algal symbionts on the accuracy of Sr/Ca Paleotemperatures from coral. *Science* **296**, 331-333.
- Cuif J. -P. and Dauphin Y. (1998) Microstructural and physico-chemical characterization of "centers of calcification" in septa of some recent scleractinian corals. *Palaontologische Zeitschrift* **72**, 257-270.
- Cuif J. -P. and Dauphin Y. (2005a) The Environment Recording Unit in coral skeletons. V a synthesis of structural and chemical evidences for a biochemically driven, stepping-growth process in fibres. *Biogeosciences* **2**, 61-73.
- Cuif J. -P. and Dauphin Y. (2005b) The two-step mode of growth in the scleractinian coral skeletons from the micrometre to the overall scale. *Journal of Structural Biology* doi: 10.1016/j.jsb.2005.03.004.
- Cuif J. -P., Dauphin Y., Doucet J., Salome M. and Susini J. (2003) XANES mapping of organic sulfate in three scleractinian coral skeletons. *Geochim. Cosmochim. Acta* **67**, 75-83.
- Gagan M. K., Ayliffe L. K., Beck J. W., Cole J. E., Druffel E. R. M., Dunbar R. B. and Schrag D. P. (2000) New views of tropical paleoclimates from corals. *Quat. Sci. Rev.* **19**, 45-64.
- Lazier A. V., Smith J. E., Risk M. J. and Schwarcz H. P. (1999) The skeletal structure of *Desmophyllum Cristagalli*: the use of deep-water corals in sclerochronology. *Lethaia* **32**, 119-130.
- Marubini F. and Atkinson M. J. (1999) Effects of lowered pH and elevated nitrate on coral calcification. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **188**, 177-121.
- Meibom A., Stage M., Wooden J., Constantz B. R., Dunbar R. B., Owen A., Grumet N., Bacon C. R. and Chamberlain P. R. (2003) Monthly Strontium/Calcium oscillations in symbiotic coral aragonite: Biological effects limiting the precision of the paleotemperature proxy. *Geophys. Res. Lett.* **30**, 1029/2002 GL016864.
- Meibom A., Cuif J. -P., Hillion F., Constantz B. R., Juillet-Leclerc A., Dauphin Y., Watanabe T. and Dunbar R. B. (2004) Distribution of magnesium in coral skeleton. *Geophys. Res. Lett.* **31**, doi: 10.1029/2004 GL021313.
- Morse J. W. and Bender M. L. (1990) Partition coefficients in calcite: Examination of factors influencing the validity of experimental results and their application to natural systems. *Chem. Geol.* **82**, 265-277.

- Pratz E. (1882) Über die verwandschaftlichen Beziehungen einigen Korallengattungen. *Palaeontographica* **29**, 81 123.
- Reynaud-Vaganay S., Gattuso J. P., Jaubert J. and Juillet-Leclerc A. (1999) A novel culture technique for scleractinian corals: application to investigate changes in skeletal ^{18}O as a function of temperature. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **180**, 121 130.
- Reynaud-Vaganay S., Juillet-Leclerc A., Jaubert J. and Gattuso J. P. (2001) Effect of light on skeletal ^{13}C and ^{18}O , and interaction with photosynthesis, respiration and calcification in two zooxanthellate scleractinian corals. *Palaeogeogr. Palaeoclimat. Palaeoeco.* **175**, 393 404.
- Reynaud S., Ferrier-Pagès C., Sambrotto R., Juillet-Leclerc A., Jaubert J. and Gattuso J. P. (2002) Effect of feeding on the carbon and oxygen isotopic composition in the tissues and skeleton of the zooxanthellate coral. *Stylophora pistillata*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **238**, 81 89.
- Reynaud S., Hemming N. G., Juillet-Leclerc A. and Gattuso J. P. (2004a) Effect of pCO_2 and temperature on the boron isotopic composition of the zooxanthellate coral *Acropora* sp. *Coral Reefs* **23**, 539 546.
- Reynaud S., Ferrier-Pagès C., Boisson F., Allemand D. and Fairbanks R. G. (2004b) Light and temperature dependency of strontium uptake in the scleractinian coral *Acropora verweyi*. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* **279**, 105 112.
- Rimstidt J. D., Balog A. and Webb J. (1998) Distribution of trace elements between carbonate minerals and aqueous solutions. *Geochim. Cosmochim. Acta* **62**, 1851 1863.
- Rollion-Bard C., Chaussidon M. and France-Lanord C. (2003a) pH control on oxygen isotopic composition of symbiotic corals. *Earth Planet. Sci. Lett.* **215**, 275 288.
- Rollion-Bard C., Blamart D., Cuif J. -P. and Juillet-Leclerc A. (2003b) Microanalysis of C and O isotopes of azooxanthellate and zooxanthellate corals by ion microprobe. *Coral Reefs* **22**, 405 415.
- Shimamura M., Oba T., Xu G., Lu B., Wang L., Murayama M., Toyoda K. and Winter A. (2005) Fidelity of ^{18}O as a proxy for sea surface temperature: Influence of variable coral growth rates on the coral *Porites* from Hainan Island, China. *Geochem. Geophys. Geosys.* Q09017, doi: 10.1029/2005 GC000966.
- Shirai K., Kusakabe M., Nakai S., Ishii T., Watanabe T., Hiyagon H. and Sano Y. (2005) Deep-sea coral geochemistry: Implication for the vital effect. *Chem. Geol.* **224**, 212 222.
- Suzuki A., Gagan M. K., Fabricius K., Isdale P. J., Yukino I. and Kawahata H. (2003) Skeletal isotope microprofiles of growth perturbations in *Porites* corals during the 1997-1998 mass bleaching event. *Coral Reefs* **22**, 357 364.
- Vandermeulen J. H. and Watabe N. (1973) Studies on reef corals. I. Skeleton formation by newly settled *Planula* larva of *Pocillopora damicornis*. *Mar. Biol.* **23**, 47 57.
- Watanabe T. and Oba T. (1999) Daily reconstruction of water temperature from oxygen isotopic ratios of a modern *Tridacna* shell using freezing microtome sampling technique. *J. Geophys. Res.* **104 (C9)**, 20, 667-20, 674.
- Yamano H., Hori K., Yamauchi M., Yamagawa O. and Ohmura A. (2001) Highest-latitude coral reef at Iki Island, Japan. *Coral Reefs* **20**, 9 12.