

マイクロフォーカス X 線 CT を用いた大型底生有孔虫研究

木下峻一¹⁾

¹⁾独立行政法人国立科学博物館

Studies of large benthic foraminifers using microfocuss X-ray CT

Shunichi Kinoshita¹⁾

¹⁾ National Museum of Nature and Science

Abstract: The method of microfocuss X-ray computed tomography (CT) is one of novel visualizing and measuring techniques in the micropaleontology. Especially, larger benthic foraminifers have complex inner structures, and the inside morphological research of the shell has been generally used in thin section or broken individuals. The X-ray CT method enables the measurement of these inside structures with non-destruction. However, this method still remains many technical and practical problems for actual researches. Here, I reviewed the instructions of microfocuss X-ray CT three-dimensional visualizing and measurement method, focusing on the microfossils' utility such as large foraminifers. I also presented examples of ecological studies of large foraminifers using microfocuss X-ray CT research, and finally propose future prospects of X-ray CT methods.

1. はじめに

有孔虫は、熱帯から極域、また海洋表層から深海底に至るまで広く分布し、主に炭酸塩の殻をつくる原生動物である。この生物は大きく底生種と浮遊性種とに分類される。この底生種のうち、一般に 1mm 以上のサイズに成長し、共生藻を持つという共通の特徴を示すグループが大型底生有孔虫 (Large Benthic Foraminifer) と呼ばれる。大型底生有孔虫は、サンゴ礁海域に生息し、多くの有孔虫と同様に炭酸カルシウムの房室を付加することで殻全体の容積を徐々に増加させて成長していく。殻形成による炭酸塩生産力は、サンゴ礁海域の生態系において、造礁サンゴや石灰藻に次ぐ大きさであり (Hallock, 1981), その生態の解明は、サンゴ礁の生態系や、今後の環境変動による炭素循環システムへの影響予測において非常に重要な意味をもつ。また、殻の成長速度や成長量は光量 (Hallock et al., 1986; Fujita and Fujimura, 2008) や水温 (Uthicke et al., 2012; Kinoshita et al., 2021), pH (Kuroyanagi et al., 2009) などの様々な環境条件の影響を受けることが明らかになっており、有孔虫殻に記録される情報は生息水域の海水環境の指標ともなりうる。

房室の付加を繰り返して成長する大型底生有孔虫において、もっとも基本となる成長量のひとつが房室数である。

しかし、その数を外形から計測することは多くの種で困難であり、房室数の正確な計測には標本の破壊を伴ってしまう。このように房室数の計測には、標本の保存の問題、正確な断面を出す技術的な難易度や手間などの問題があり、従来、物理的な成長パラメータとしては、殻サイズや重量が多く用いられてきた。特に標本の破壊は、化石種の同定においては避けたい問題であり、標本の内部情報の取得と非破壊保存は、大型底生有孔虫の研究にとって常に非常に重要な課題であった。

この「大型底生有孔虫の非破壊での形態解析」を実現させたのが、X 線 CT 手法の活用である。産業用に開発された X 線 CT 装置は、近年の性能向上が著しく、マイクロメートル単位の解像度を持つマイクロフォーカス X 線 CT が現在では広く利用されるようになった。しかし、大型底生有孔虫をはじめとして、有孔虫類、あるいは微化石への X 線 CT の応用は未だに不安定な状況が続いている。本来、産業用 X 線 CT 装置の撮影に関しては、対象として微化石などの微小な (古) 生物サンプルは考慮されていなかった。期待する画質の CT 像を得るためには、撮影者が標本に合わせた撮影用のステージ制作をしたり、さらに撮影条件を工夫したりするなど、適宜調整することが求められた。

本論では、最初にマイクロフォーカス X 線 CT による撮影、3 次元計測手法について、大型底生有孔虫などの微化石撮影

時における留意点を中心に概説する。また、実際に3次元計測手法を用いた研究例を紹介し、マイクロフォーカスX線CT研究が有孔虫の生態の理解や環境解析にどのように貢献しているか、今後の展望等についても考察する。

2. マイクロフォーカスX線CT手法の基礎

2.1) マイクロフォーカスX線CT撮影の基本的な流れ

CTとはComputed Tomography = コンピュータ断層撮影の略称であり、X線による走査によって断層撮影を行うことをX線CT撮影と呼ぶ。この手法で得られる生データは、投影像であり、再構成処理などを加えて断層像(断面)や3次元データが取得できる。図1に、撮影準備から3次元化までの基本的な流れを示す。現在、微化石標本の撮影に利用されているマイクロフォーカスX線CT装置は、その多くが産業用として開発された撮影装置である。このような撮影装置は対向するX線管とX線検出器、その間に配置された標本ステージから構成され、一般に標本ステージを回転させ、標本の360°あらゆる方向からのX線走査を行い、X線投影像群を得る(図1D)。したがって、標本ステージの回転角を r 度として走査を行うと、 $360/r$ 枚の投影像群が得られる。投影像の拡大率 M は、以下の式に従う。

$$M=D/d$$

ここで、 d はX線管と標本ステージ、 D はX線管とX線検出器、それぞれの距離である。これは、X線が放射状に発生する(コーンビーム)ため、標本ステージをX線管に接近させることで M は大きくなり、解像度(空間分解能)も高くなる。多くの装置では、得られた投影像群を断層像群に再構成するソフトウェアが付属しており、再構成処理を経て断層像が得られ(図1E)、一連の撮影が完了する。断層像は、撮影時における標本ステージ上での標本上部から下部にかけての連続断面像であり、再構成する範囲は一般に任意に決定できる、注目部位のみ断層像に再構成することも可能である。再構成された断層像からは、フェルドカンプ再構成法(Feldkamp et al., 1984)などによる3次元像への再構成が可能になる(図1F)。3次元再構成や3次元表示、計測が可能でソフトウェアも多様化しており、研究目的に応じて選択して利用できる。

2.2) 撮影条件について

断層像の空間分解能は、それぞれ独立する条件である、投影像の拡大率 M と、投影像1ピクセルあたりのX線検出器の素子数 n によって決まる。上述のように、 M が大きいほど高解像度になるが、 n を小さくすることで空間分解能を高めることができる。ただし n を小さくすると、投影像1ピクセルあたりのX線検出量が小さくなり投影像が暗く

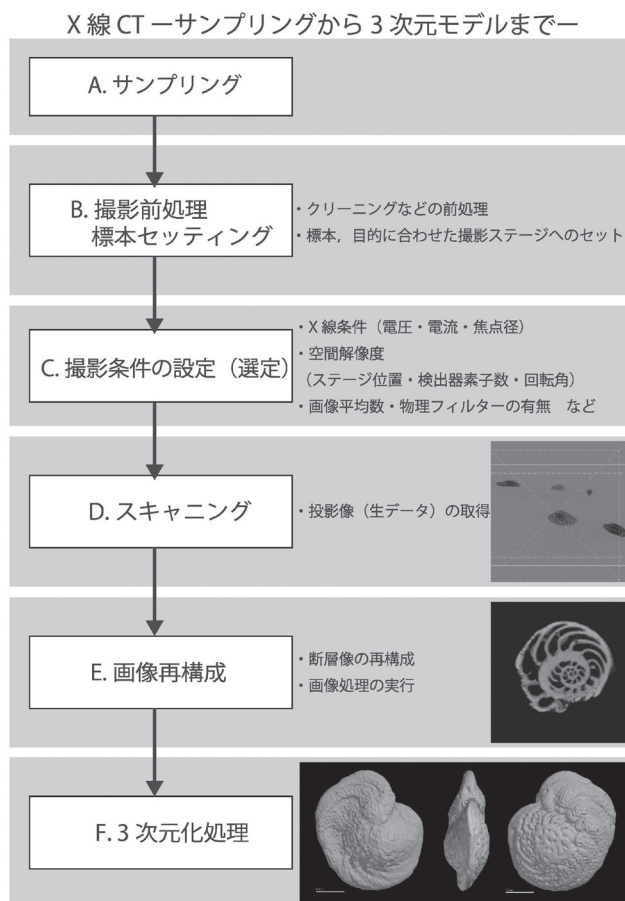


図1. マイクロフォーカスX線CTによる、サンプリングから3次元モデル化までの基本的な作業工程。D～Fの図は、同一標本の投影像(D)、断層像(E)、3次元モデル像(F)をそれぞれ表す。

なる。そのため、断層像のコントラスト低下が起こり、微化石標本を撮影する時のように比較的低エネルギーのX線を用いて撮影する場合には注意して、設定する必要がある。 n の設定項目は装置によって異なるが、ビニングモード、あるいは画像サイズとされていることが多い。

一方、画像コントラストは強くすることでより精密に密度差を表現することにつながるため、密度方向の解像度(密度分解能)と解釈できる。この密度分解能は、主にX線の量に強く影響される。元来、X線CTは原理的には検出器へ到達したX線の量を観測しており、検出されたX線の量の差、理想的には入射X線量からサンプルのX線吸収量を減算した値が画像のコントラストとして再現される。したがって、一般的には高出力にして入射X線量を増やし、より吸収量の幅を取ることによってコントラストの向上を実現させることができる。しかし、高出力のX線は透過力も向上する

ことや、大型底生有孔虫を含む微化石のような微小な標本や比較的低密度な標本では、潜在的に X 線が透過しやすいことにより、高出力条件下ではサンプルの X 線吸収量が極端に減少するため、結果的にコントラストが低くなりやすい。そのため、このような微小・低密度な標本（低コントラスト標本）においては、測定標本に最適な X 線出力の条件設定が求められる。

これらの分解能の設定は相互に干渉しあい、撮影時間にも影響する。上述のように、より高解像度を実現するために X 線検出器の素子数 n を小さくすると投影像が暗くなる。そこで、明るさを確保するためにもより高出力の X 線を利用したいが、密度差を詳細に測定したい場合などには、コントラスト面から出力に制限がかかるため、十分な明るさが確保できない状況が生じやすい。結果的に、高解像度・高コントラストを実現し十分な明るさを確保するためには、露光時間を長くすることになり、1 標本あたりの撮影時間が長くなりやすい。したがって、研究の目的に合わせて、空間分解能・密度分解能・撮影時間や標本数について、優先すべき要素や最低限求められる水準を明確にすることが撮影条件決定の基盤となる。

3. マイクロフォーカス X 線 CT を利用した研究例

マイクロフォーカス X 線 CT を用いた大型底生有孔虫の研究には、3 次元画像上で単純な形態計測を行ったものや、セグメンテーション（領域分割、領域抽出）などにより空間、あるいは物体の物理的なパラメータの測定を行ったものなどがある。以下にそれら実際の研究例をいくつか紹介する。

3.1 大型底生有孔虫のライフサイクル

野外（自然環境下）での大型底生有孔虫の成長や寿命に関する研究は、サンゴ礁の礁縁部などの潮間帯（eulittoral zone）に生息する種や（e.g. Sakai and Nishihira, 1981; Hohenegger, 2006）比較的サンプリングが容易な数 m 程度の亜潮間帯の水深（the shallowest sublittoral zone）の種に偏っている（e.g. Zochary et al., 1980; Fujita et al., 2000; Hikami et al., 2011）。これより深い深度（deeper sublittoral zone）に生息する種の成長や生殖に関する研究は、主に室内の飼育実験で行われている。しかし、飼育実験の生育個体では、外形が正常に成長したように見えても、X 線 CT で観察すると房室内を分ける隔壁（septula）の不足や空洞の形成など、内部構造に不規則な形態がみられることがわかってきた（Hohenegger et al., 2014）。また、天然海水を利用するなど、可能な限り自然環境の再現を試みた場合であっても、飼育実験では成長が阻害されることも報告されている（Hohenegger et al., 2014）。そのため、Hohenegger et al. (2014) は、野外の定点で定期的なサンプリングを行い、統計学的手法を用いて個体群の動態を明らかにする方法

を提案した。この方法は、“Natural laboratory approach”（N-lab 手法）とよばれ、潮間帯に分布する大型底生有孔虫の生態を解明する研究に用いられている。

大型底生有孔虫の成長に関しては、これまではサイズ（長径）や重量が主な指標となっていた。一方、有孔虫はその細胞の成長に伴って房室を付加しながら成長するため、本来は房室の付加率も成長の基礎的な指標である。しかし、多くの種では外部形態から房室数を正確に把握することはできず、切片化して薄片を作成するなど、標本の破壊や多くの手間を必要とした。ところが、マイクロフォーカス X 線 CT を使うと、非破壊で内部を観察でき、房室数など内部構造の把握が簡便となった。そのため N-lab 手法では、この測定方法が殻構造の計測手段として一般的になった（Kinoshita et al., 2017; Eder et al., 2019）。

Kinoshita et al. (2017) は、水深 50m の深度で 15 ヶ月に渡って定期的なサンプリングを毎月行い、N-lab 手法とマイクロフォーカス X 線 CT を組み合わせ、*Palaeonummulites venosus* の成長様式を検討した。収集された各個体の房室数と殻サイズを統計学的に検討すると、平均値の分布から研究期間の群集は 4 つの世代から構成されることが明らかとなった（図 2）。N-lab 手法では測定データから各標本個体の房室数やサイズと生息日との関係を検討することができる（例えば、第 2 世代では、5 月 9 日～1 月 16 日の期間で約 29 室が付加されている）。そこで Kinoshita et al. (2017) では、連続的に記録を追跡できる第 2 世代と第 3 世代に焦点をあて、殻の成長率（房室形成率とサイズ増加率）を求めた（図 3）。この研究は、*P. venosus* の房室形成率を自然環境下のデータから明らかにした初めての結果となった。また、同時にサイズ増加率も得られており、いずれの成長率もこれまでの飼育実験での報告（Krüger, 1994）よりも速く、自然環境下での成長では飼育環境下での 5 か月分の成長量（房室数 40, サイズ 1.45mm）に 2 か月で到達している。

前述のように、N-lab 手法により、以下の房室形成率が得られた。

$$m = 81.3 \times t / (67.2 + t)$$

ここで、 m は房室数、 t は発生からの日数（生育日数）である。これを t に関する式に変換すると、

$$t = m \times 67.2 / (81.3 - m)$$

となる。この式により、各個体の生息日数を推定できるので、採集日より生育日数をさかのぼることで、個体毎の生殖時期を推定することもできる（Kinoshita et al., 2017）。研究地域の *P. venosus* は、これまでの同地域の他の大型底生有孔虫の報告例（Sakai and Nishihira 1981; Fujita et al., 2000; Hohenegger 2006）と同様に、6 月および 11 月に

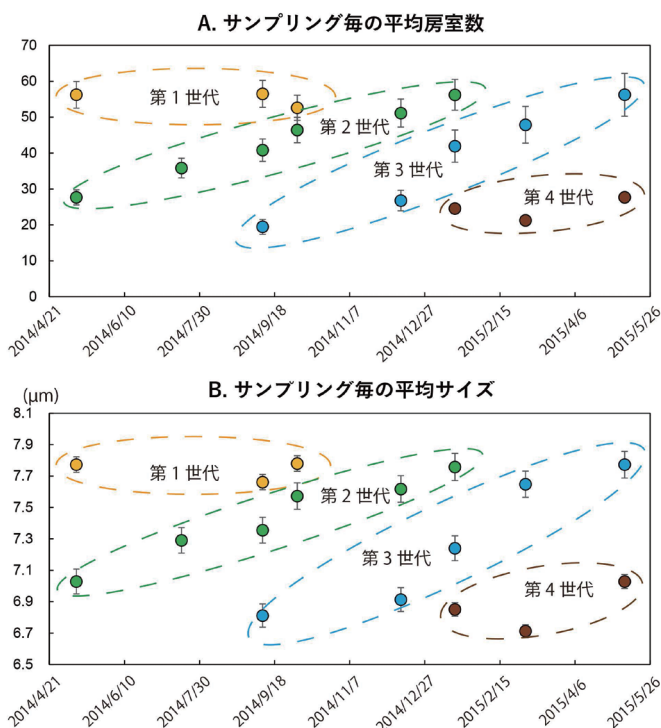


図2. 各サンプルに含まれる *P. venosus* 個体の平均房室数と平均サイズの分布. 各プロットは、各々のサンプリング試料に含まれる個体の房室数およびサイズを測定し、頻度分布の値を有意な正規分布の成分に分解して得られた平均値である. 各時期には優位な2~3の平均値がみとめられる. 房室数でもサイズでも同様の結果を示すことから、同時期に複数世代の個体群の存在が示唆され、最終的に試料中に含まれる世代は、4世代にわたると推定される (Kinoshita et al., 2017).

生殖のピークがみられる. 一方、年間を通して常に一定以上の生殖頻度も保たれており、これまでの熱帯赤道域での報告とも類似する (Fujita et al., 2016). ただし、熱帯赤道域では生殖に顕著なピークがみられていない. すなわち、Kinoshita et al. (2017) の結果は、これまで地域ごとに報告されていた季節性と恒常性が同時にみられる事例となった.

同様に、N-lab 手法とマイクロフォーカス X 線 CT 計測を利用した Eder et al. (2019) では、水深 20m, 50m の異なる地点における *Heterostegina depressa* の房室形成率とサイズ増加率を明らかにした. 異なる水深におけるサイズ増加率は、環境に応じて差が生じるのに対して房室の形成率はほぼ一致し、房室形成率が水深によらない普遍的な成長因子である可能性を示唆した. このように、マイクロフォーカス X 線 CT による形態計測は、形態の記載や定量化に留ま

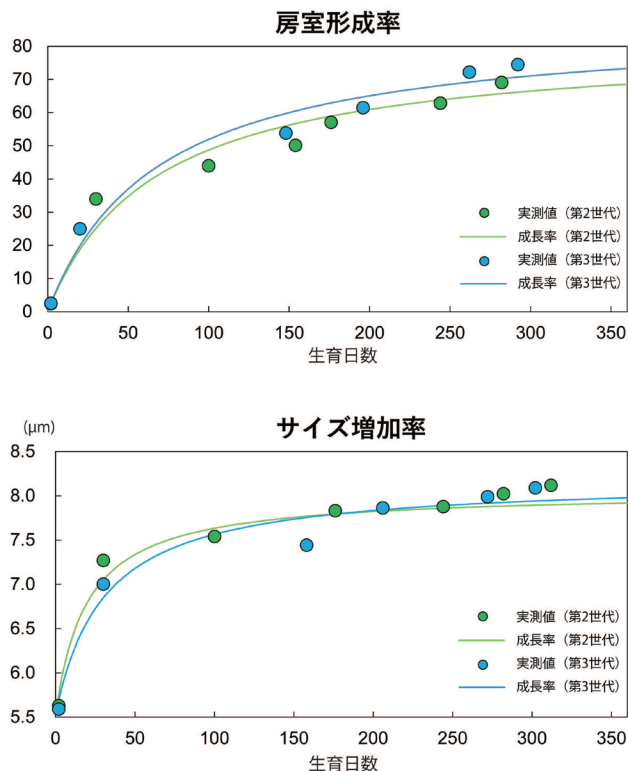


図3. 連続的にデータが取れる *P. venosus* の第2および3世代における房室数とサイズの測定から求めた房室形成率およびサイズ増加率. N-Lab 法により図2の分布図から各サンプリング群集の生息日時を推定することができる (Kinoshita et al., 2017). そこで、房室数とサイズ分布と生息日数との関係からそれぞれの成長率をもとめることができる. 各世代間では有意差は検出されなかったため、両世代でほぼ差はないと思われる.

らず、生態学的な研究にも大きく貢献している.

3.2) 大型底生有孔虫の環境応答

X 線 CT の断層像は、空間部分 (黒色系) と物体部分 (白色系) の2系統に大別して見分けることができるので、閾値処理や二値化処理、画像解析ソフトによるセグメンテーションを行うことで空間の容積、あるいは物体の体積を計測することができる. 大型底生有孔虫では、房室の空間部分は細胞質で満たされており、それぞれの房室容積は成長量、総容積は総細胞質量と解釈される. Hohenegger et al. (2019) は、Kinoshita et al. (2017) の研究を発展させ、CT 撮影によって得た 3D 画像から各個体の全房室の容積を算出した. 前述のように Kinoshita et al. (2017) の研究から生息日時を推定することが可能となったので、生息日時と房室容積の関係を検討し、各々の成長日時における房室容積の理論値を

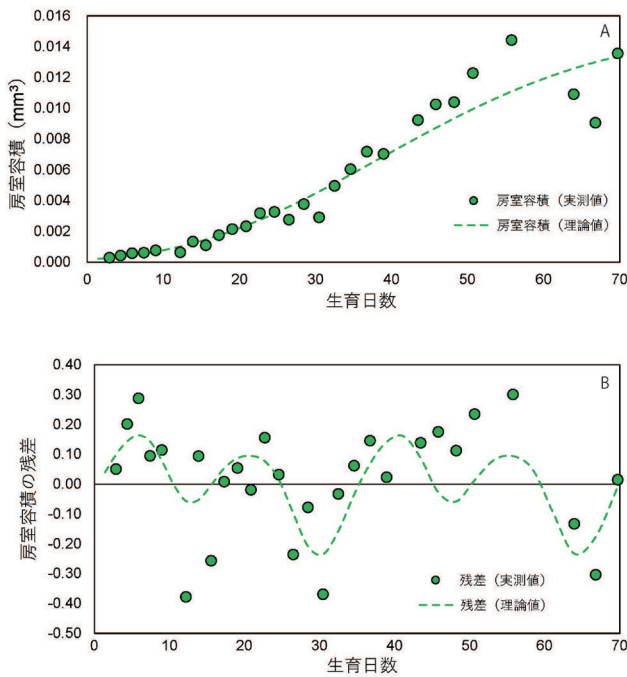


図 4. A は *P. venosus* の房室容積 (実測値) と生育日数の関係とその回帰曲線 (理論値). B は A の実測値と理論値の差 (残差) の割合を示した. 残差の変動の回帰曲線 (残差理論値) は周期解析によって得られた (Hohenegger et al., 2019).

計算した (図 4A). さらに、実際の房室容積の値 (実測値) と理論値との差 (残差として表現) の割合も計算した (図 4B). この地域の *P. venosus* の各房室は、図 4 が示すように理論値に対して、より成長したり、十分な成長をしなかったりを繰り返している (成長振動という). さらに、その周期を解析すると約 14 日が主要な値として検出された. 一方、サンプリング地域の海面水位の変動も約 14 日間の周期をもっており、この成長振動とは負の相関関係をもつ (図 5). 採集地点の光合成有効放射量 (Photosynthetically Active Radiation, PAR) は、平均 $22.5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ であり、干潮時と満潮時で約 $5 \sim 20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 程度の差が生じている (Hohenegger et al., 2019). Nobes et al. (2008) や Ziegler and Uthicke (2011) によると、この範囲の PAR の変化は共生藻 (珪藻) の活性度を大きく左右する. したがって、*P. venosus* の成長振動は、潮の干満差による僅かな水深の差がもたらす光強度の差によって生じていると思われる.

一方、CT 画像の物体部分は有孔虫においては基本的に殻にあたる. 有孔虫の殻は環境と密接な関係があり、大型底生有孔虫においても、これまでに重量やサイズが環境によって変動することが明らかになっている (e.g. Hikami et al.,

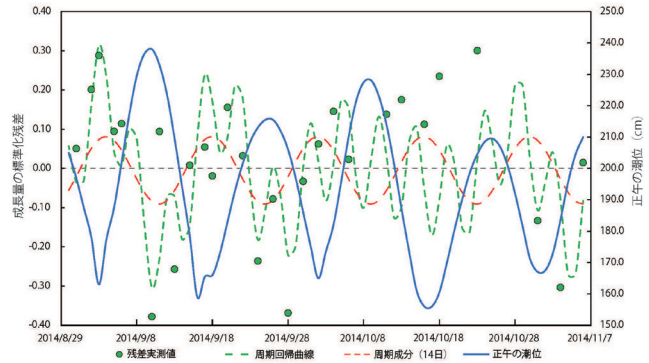


図 5. 房室容積の標準化残差と正午の潮位との関係. 点プロットは実測値、緑色の破線曲線は残差の周期回帰曲線を示す. 赤色の破線の曲線は理論的な 14 日周期成分で、青い周期曲線は正午の潮位の周期を表す. 房室容積の変化は約 14 日変動を示し、潮位の変動と負の相関関係をもつ.

2011). ところが、天然の複雑な環境条件下では有孔虫殻の 3 次元的なパラメータ (体積や密度) の変動を引き起こす環境要因を特定することは困難であるため、環境因子との因果関係は主に飼育実験によって解明されている. 例えば、高すぎる水温 (約 29°C 以上) は、サイズや重量からみた有孔虫の成長を阻害したり (Schmidt et al., 2016; Maeda et al., 2017, 2018), 生理機能に悪影響を及ぼしていることが知られている (Uthicke et al., 2012). また Prazeres et al. (2017) は、高温条件下での飼育では、大型底生有孔虫の白化現象と死亡率が増加することを報告している.

これらの研究でも、マイクロフォーカス X 線 CT の活用によって新しい知見が得られている. Kinoshita et al. (2021) は、6 段階で水温を制御 (19, 21, 23, 25, 27, 29°C) した大型底生有孔虫 *Sorites orbiculus* の飼育個体をマイクロフォーカス X 線 CT を用いて測定し、殻重量やサイズに加え、房室数や殻体積についても水温による成長量の差を検討した (図 6A). その結果、*S. orbiculus* 種は、殻の重量、サイズ、体積はいずれも互いに類似した傾向を示し、約 25°C で成長率が最大となり、より高温条件・低温条件のいずれの場合も成長が抑制されていることが示された. 一方、殻重量および殻体積を用いて算出された殻密度では、各温度条件下でほぼ一定の値となっている (図 6B). これまで殻重量の変動の仕組みに関しては、殻の体積 (主に厚さ) の変動、あるいは殻の密度の変動のいずれが主要因であるか明確に解明されていなかったが、この研究から *S. orbiculus* の水温変化に対応した殻重量変動は、殻体積の変動が主要因であることが明らかにされた. さらに、Kuroyanagi et al. (2021) では、酸性度 (pH) について *Amphisorus kudakajimensis* 種を用いて同様の飼育実験を行い、低 pH 条件下 ($\text{pH} = 7.7$)

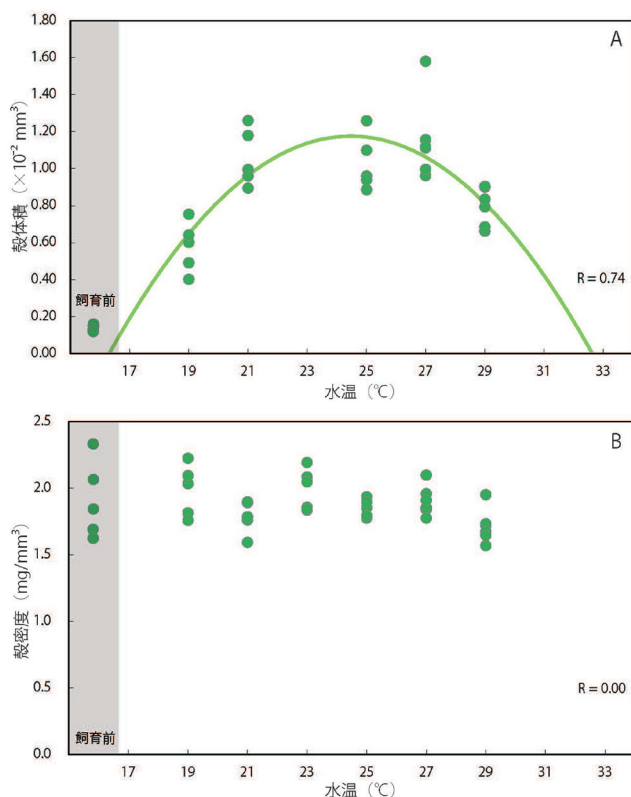


図 6. 飼育実験で得られた大型底生有孔虫の殻体積 (A) および殻密度 (B) と水温との関係。殻体積は約 25°C で成長率が最大となるが、殻密度は、各温度条件下でほぼ一定の値となっている。このことから、殻重量変動は、殻体積の変動が主要因であることがわかる。

では、殻の重量や体積、密度のいずれも高 pH 条件下 ($\text{pH} = 8.3$) に比べて低い値になることが示された。この結果は、海洋酸性化が進行すると大型底生有孔虫の殻生成を量的に阻害するだけでなく、生成される殻の質的な劣化も引き起こすことを示唆している。これらの詳細な殻パラメータ変動の解明は、マイクロフォーカス X 線 CT による 3 次元物体の体積の定量化によってもたらされた結果であり、本手法の利点が非常によく活かされている。

殻密度の変化については、近年の海洋酸性化への懸念の高まりとともに関心が集まっており、浮遊性有孔虫でも検討が行われている。Iwasaki et al. (2015) では、方解石の標準物質を用いて CT 画像における相対画素値を calcite CT number と定義し、殻密度に相当する指標として使用した。すなわち、画像の画素数の違いを用いて密度の指標とするのである (Iwasaki et al., 2015)。この研究では、画素数の濃淡から浮遊性有孔虫の殻溶解が 1 次形成層で選択的に起こることが示唆されている。

4. まとめ

マイクロフォーカス X 線 CT 撮影の最も重要な特徴は、標本を破壊することなく、切断面を含めたあらゆる角度からの観察を可能にする点である。実際に、化石種の大型底生有孔虫では、初室を通る水平断面、あるいは同様の垂直断面に基づいて分類するので、標本を失わずに、かつ任意の断面を描くことができるこの手法は、今後も分類や記載において非常に大きな貢献をすることは疑いない。また、非破壊計測、3 次元計測も本手法の大きな利点である。例えば、殻の体積や密度は、マイクロフォーカス X 線 CT の登場で定量化と精密性が飛躍的に向上したパラメータであり、有孔虫の成長や環境応答への定量的な解析に有力な指標としてさらに使われていくことが期待される。

微化石の撮影に利用するような産業用の CT 撮影装置の機械的な性能は 2010 年代において急速に向上しており、今後もハード・ソフト両面でさらに向上することが予測される。低コントラスト問題を中心とした微化石の CT 撮影上の問題も、撮影環境とともに改善されていくことは想像に難くない。加えて、今日の海洋の環境において温暖化と酸性化は主要な課題であり、それらの環境変動に対する石灰化生物の量的 (体積) あるいは質的 (密度) な変化への関心も引き続き高まることが予測される。今後は、これまで行われてきた現地モニタリングや飼育実験などによって得られた知見をさらに拡大するために、より精密な形態解析のためのツールとしてマイクロフォーカス X 線 CT がさらに広く活用されていくことが見込まれる。

謝 辞

東北大学総合学術博物館の高嶋礼詩教授、黒柳あずみ助教には本論文をまとめる機会をいただくとともに、様々なご指導をいただいた。また、福井県立大学の西弘嗣教授、東北大学の佐々木理准教授、鹿納晴尚博士、ウィーン大学の Johann Hohenegger 教授、東京大学の川幡穂高教授、琉球大学の藤田和彦教授、国立科学博物館の齋藤めぐみ博士、久保田好美博士、産業技術総合研究所の鈴木淳博士、JAMSTEC の木元克典博士の各位からは貴重なご意見、ご教示をいただいた。ここに深く感謝いたします。

References

- Eder, W., Wöger, J., Kinoshita, S., Hohenegger, J., Briguglio, A., 2019. Growth estimation of the larger foraminifer *Heterostegina depressa* by means of population dynamics. *PeerJ*, 6, e6096.
- Feldkamp, L. A., Davis, L. C., Kress, J. W., 1984. Practical cone-beam algorithm. *Optical Society of America*, 1, 612–619.
- Fujita, K., Fujimura, H., 2008. Organic and inorganic carbon production by algal symbiont-bearing foraminifera on northwest Pacific coral-reef flats. *Journal of Foraminiferal Research*, 38,

- 117–126.
- Fujita, K., Nishi, H., Saito, T., 2000. Population dynamics of *Marginopora kudakajimaensis* Gudmundsson (Foraminifera: Soritidae) in the Ryukyu Islands, the tropical northwest Pacific. *Marine Micropaleontology*, 38, 267–284.
- Fujita, K., Otomaru, M., Lopati, P., Hosono, T., Kayanne, H., 2016. Shell productivity of the large benthic foraminifer *Baculogypsina sphaerulata*, based on the population dynamics in a tropical reef environment. *Coral Reefs*, 35, 317–326.
- Hallock, P., 1981. Production of carbonate sediments by selected large benthic foraminifera on two Pacific coral reefs. *Journal of Sedimentary Petrology*, 51, 467–474.
- Hallock, P., Forward, L.B., Hansen, H.J., 1986. Influence of environment on the test shape of *Amphistegina*. *Journal of Foraminiferal Research*, 16, 224–231.
- Hikami, M., Ushie, H., Irie, T., Fujita, K., Kuroyanagi, A., Sakai, K., Nojiri, Y., Suzuki, A., Kawahata, H., 2011. Contrasting calcification responses to ocean acidification between two reef foraminifers harboring different algal symbionts. *Geophysical Research Letters*, 38, L19601.
- Hohenegger, J., 2006. The importance of symbiont-bearing benthic foraminifera for West Pacific carbonate beach environments. In: Barbieri R, Hohenegger J, Pugliese N (eds): Foraminifera and Environmental Micropaleontology, Environmental Micropaleontology Symposium at the 32nd International Geological Congress. *Marine Micropaleontology*, 61, 4–39.
- Hohenegger, J., Briguglio, A., Eder, W., 2014. The Natural Laboratory of Algal Symbiont-Bearing Benthic Foraminifera: Studying Individual Growth and Population Dynamics in the Sublittoral. In Kitazato H, Bernhard JM (eds), Approaches to study living Foraminifera: collection, Maintenance and experimentation. Environmental Science and Engineering, Springer Japan, pp 13–28.
- Hohenegger, J., Kinoshita, S., Briguglio, A., Eder, W., Wöger, J., 2019. Lunar cycles and rainy seasons drive growth and reproduction in nummulitid foraminifera, important producers of carbonate buildups. *Scientific Reports*, 9, 8286.
- Iwasaki, S., Kimoto, K., Sasaki, O., Kano, H., Honda, M.C., Okazaki, Y., 2015. Observation of the dissolution process of *Globigerina bulloides* tests (planktic foraminifera) by X-ray microcomputed tomography. *Paleoceanography*, 30, 317–331.
- Kinoshita, S., Eder, W., Wöger, J., Hohenegger, J., Briguglio, A., 2017. Growth, chamber building rate and reproduction time of *Palaeonummulites venosus* (Foraminifera) under natural conditions. *Coral Reefs*, 36 (4), 1097–1109.
- Kinoshita, S., Kuroyanagi, A., Kawahata, H., Fujita, K., Ishimura, T., Suzuki, A., Sasaki, O., Nishi, H., 2021. Temperature effects on the shell growth of a larger benthic foraminifer (*Sorites orbiculus*): Results from culture experiments and micro X-ray computed tomography. *Marine Micropaleontology*, 163, 101960.
- Krüger, R., 1994. Untersuchungen zum Entwicklungsgang rezenter Nummulitiden: *Heterostegina depressa*, *Nummulites venosus* und *Cycloclypeus carpenteri*. Dissertation Christian Albrechts Universität, Kiel, 97pp.
- Kuroyanagi, A., Kawahata, H., Suzuki, A., Fujita, K., Irie, T., 2009. Impacts of ocean acidification on large benthic foraminifers: results from laboratory experiments. *Marine Micropaleontology*, 73, 190–195. doi:10.1016/j.marmicro.2009.09.003.
- Kuroyanagi, A., Irie, T., Kinoshita, S., Kawahata, H., Suzuki, A., Nishi, H., Sasaki, O., Takashima, R., Fujita, K., 2021. Decrease in volume and density of foraminiferal shells with progressing ocean acidification. *Sci Rep* 11, 19988. doi: 10.1038/s41598-021-99427-1.
- Maeda, A., Fujita, K., Horikawa, K., Suzuki, A., Yoshimura, T., Tamenori, Y., Kawahata, H., 2017. Evaluation of oxygen isotope and Mg/Ca ratios in high-magnesium calcite from benthic foraminifera as a proxy for water temperature. *Journal of Geophysical Research*, 122, 185–199.
- Maeda, A., Fujita, K., Horikawa, K., Suzuki, A., Ohno, Y., Kawahata, H., 2018. Calibration between temperature and Mg/Ca and oxygen isotope ratios in high-magnesium calcite tests of asexually reproduced juveniles of large benthic foraminifers. *Marine Micropaleontology*, 143, 63–69. doi: 10.1016/j.marmicro.2018.07.004.
- Nobes, K., Uthicke, S., Henderson, R., 2008. Is light the limiting factor for the distribution of benthic symbiont bearing foraminifera on the Great Barrier Reef? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 363, 48–57, doi:10.1016/j.jembe.2008.06.015.
- Prazeres, M., Roberts, T. E., Pandolfi, J. M., 2017. Variation in sensitivity of large benthic foraminifera to the combined effects of ocean warming and local impacts. *Scientific Reports*, 7, 1–11.
- Sakai, K., Nishihira, M., 1981. Population study of the benthic foraminifer *Baculogypsina sphaerulata* on the Okinawan reef flat and preliminary estimation of its annual reproduction. *Proceedings Fourth International Coral Reef Symposium*, 2, 763–766.
- Schmidt, C., Titelboim, D., Brandt, J., Herut, B., Abramovich, S., Almogi-Labin, A., Kucera, M., 2016. Extremely heat tolerant photo-symbiosis in a shallow marine benthic foraminifera. *Scientific Reports*, 6, 30930.
- Uthicke, S., Vogel, N., Doyle, J., Schmidt, C., Humphrey, C., 2012. Interactive effects of climate change and eutrophication on the dinoflagellate-bearing benthic foraminifer *Marginopora vertebralis*. *Coral Reefs*, 31, 401–414.
- Ziegler, M., Uthicke, S., 2011. Photosynthetic plasticity of endosymbionts in larger benthic coral reef foraminifera. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 407, 70–80.
- Zohary, T., Reiss, Z., Hottinger, L., 1980. Population dynamics of *Ammonia hemprichii* (Foraminifera) in the Gulf of Elat (Aqaba), Red Sea. *Eclogae geologicae Helvetiae*, 73, 1071–1094.

