

大気炭素安定同位体比による C₃/C₄ 混生草原生態系 CO₂ 交換特性の解析

The Use of Atmospheric Stable Carbon Isotope Ratio as a Indicator of
CO₂ Exchange in a C₃/C₄ Mixed Grassland

下田 星児*・莫 文紅**・村山 昌平***・高村 近子***・及川 武久**

Seiji SHIMODA *, Wenhong MO **, Shohei MURAYAMA ***,
Chikako TAKAMURA *** and Takehisa OIKAWA **

はじめに

陸域生態系における炭素循環は、地球規模の環境変化の中で注目されており、大気 - 生態系間の交換により大きく規制されている。それゆえ、陸域生態系の変動過程の解明には、大気圏、生物圏を個別に捉えるのではなく、これらを統合した地球のシステムとして捉え、個々の過程の解析を踏まえた総合解析が不可欠となっている。安定同位体を化学トレーサーとして草原生態系における環境変動と物質循環の変動との関わりを解明することにより、大気圏 - 生物圏の総合解析を行い、生態系将来予測の可能性を探求できる。

CO₂ の動態に関する研究が行われ、特に正味生態系 CO₂ 交換量 (NEE) は、フラックスによる渦相観測サイトの地域的ネットワークに見られるように、現在世界中のさまざまな生態系で測定されている (Baldocchi *et al.*, 2001)。FLUXNET の鍵となる生産量には、NEE とその構成要素の環境変動に対する応答を含んでいる。生態系炭素動態のデータは、地球変動問題を扱う土壌 - 植生 - 大気輸送モデ

ルや生物地球化学モデルによる地域的、グローバルな動態総量の推定や検証に用いられる。NEE から総生態系 CO₂ 交換量 (GPP) を求めるためには、生態系呼吸量を算出する必要がある。その算出には、夜間の NEE 測定から求める方法 (例えば Goulden *et al.*, 1996) チャンバー測定により求める方法 (例えば Law *et al.*, 1999)、モデルを応用して求める方法などがある。CO₂ の同位体組成は光合成と呼吸とで異なるため、炭素や酸素の同位体による大気サンプルの解析は、生態系で同化される炭素と呼吸コストの関係を理解するのに役立つ。

特に C₃ 植物と C₄ 植物が混生する草原生態系においては、C₃ と C₄ 植物の同位体分別過程の違いから、大気の炭素安定同位体比が生態系炭素循環プロセスを詳細に解明する手がかりになると考えられる。C₃ 植物での同位体分別は、大気から葉緑体までの拡散による物理的な分別と、二酸化炭素を固定する酵素による生化学的な分別という複数のステップで起こる。一般に、生化学のプロセスで起こる同位体分別は物理学的プロセスによるものよりも大きい。大気中の CO₂ が光合成により固

* 筑波大学生命環境科学研究科
** 筑波大学生物科学系
*** 産業技術総合研究所

定されるとき、 $^{12}\text{CO}_2$ は $^{13}\text{CO}_2$ より速く光合成回路に取り込まれる。これは、 $^{12}\text{CO}_2$ の拡散速度が $^{13}\text{CO}_2$ より速いため、光合成における炭素固定反応を担う酵素の RuBisCo (リブロース 1,5-リン酸カルボキシラーゼ / オキシゲナーゼ) と反応しやすいためである。これにより、植物体内の炭水化物は ^{12}C が ^{13}C より多く取り込まれるために、植物体付近の大気中では ^{12}C より ^{13}C が相対的に多くなる。一方、C4 植物は初めの CO_2 固定酵素は PEP カルボキシラーゼであるため、安定同位体構成は C3 植物と異なる。個葉でも組織レベルでも C3 植物では C4 植物に比べより大きな同位体分別がおこる (Lloyd and Farquhar, 1994)。地域、全球スケールの炭素フラックスは重要であるにも関わらず、C3/C4 植物の同位体分別に関して生態系レベルについての議論をしている例は少なく (Buchmann and Ehleringer, 1998)、 ^{13}C の日変化に関する情報は限られている (Yakir and Wang, 1996)。

本研究では、 CO_2 安定同位体比 (^{13}C) を用いて C3/C4 草原生態系における炭素フラックス中の C3 と C4 植物の寄与度とその季節変化を解明することを目的とし、大気 CO_2 安定同位体比を測定した。

測定方法

観測は筑波大学の陸域環境研究センター (TERC) の実験草原 (北緯 $36^\circ 06'$ 、東経 $140^\circ 06'$) で 2002 年 5 月から 10 月にかけて行われた。草原は直径 160 m の円形で、C3 種と C4 種により構成されている。優占種は、セイタカアワダチソウ (*Solidago altissima*, キク科 C3 植物)、ススキ (*Miscanthus sinensis*, イネ科 C4 植物) とチガヤ (*Imperata cylindrica*, イネ科 C4 植物) である。草は 1 月に完全に刈り取られた。草原の状態の維持と遷移進行の妨げのため、樹木の種苗の進行を防ぐために刈り取りを行っている。本草原サイトでは初夏に優占種が C3 植物主体から C4 植物主体へ移行することが、地上部バイオマスの調査から明

らかになっている (Saigusa *et al.*, 1998)。

炭素安定同位体比測定用大気サンプルは、2002 年 5 月 25 日、7 月 12 日、8 月 9 日、10 月 25 日に採取した。サンプリング地点は圃場中央の気象観測タワーから 60 m 北北西の観測ポールの高度 0.5 m、1.0 m、2.0 m、3.5 m に設けた採気口からデコロンチューブ (Dekoron Type 1300, Furon Co. Ltd., USA) を伸ばし、ダイアフラムポンプを用いて空気を吸引した。空気を除湿剤 (過塩素酸マグネシウム) のカラムに通し、5 L/min の流量で 4 分以上流した後、あらかじめ標準ガスを詰めておいた容積 1 L のガラス製フラスコに採取した。

サンプリングした空気を、赤外線ガス分析計 (MLT3, EMERSON, USA) を用いて CO_2 濃度を測定した。 CO_2 濃度を高精度で測定するため、4 種類の濃度の標準ガスを用意し順次分析計に導入し、得られたサンプルからの出力と標準ガスの濃度との関係が二次関数で近似できると仮定して、最小自乗法で検量線を計算し、この検量線に出力を代入して各標準ガスの濃度を求めた。

CO_2 ガス精製ラインを用いて CO_2 の精製を行った。フラスコをラインに装着し、一晩の間ターボポンプを用いて真空引きを行い、系内の圧力を 10^{-6} torr 台まで排気した。 H_2O トラップは液体窒素で -90 まで冷やしたエタノールをつけて冷却し、 CO_2 トラップは液体窒素で -195 に冷却した。空気試料の流量を流量調整部で 30 ml/min 以下に調整しながら、油回転ポンプで排気した。この操作により、水蒸気は H_2O トラップで、 CO_2 は CO_2 トラップで凝固されることで回収され、空気試料に含まれる N_2 、 O_2 、Ar などの気体はポンプによって排出される。空気試料が排気され系内の圧力が 2×10^{-2} torr 基準以下になる時、排気ポンプをターボポンプに切り換え 10^5 torr 台まで排気した。その後、 H_2O トラップを排気系から切り離し、 CO_2 トラップを -120 のエタノールにつけて CO_2 を昇華させ、 -197 の液体窒素に付けた封入管に転送することによって、 CO_2 トラップ内の全 CO_2 を封入管に移動させた。移動完了後、

ガスバーナーで封入管を封じ切った .1 本の空気試料を精製するための時間は 1 時間余りであった .

精製されたサンプルは質量分析計 (Delta-S, Finnigan Mat) により炭素安定同位体比を測定した . 本研究では質量数 44, 45, 46 に対応するイオン検出器を使用し, CO₂ の酸素と炭素の同位体比を決定した . 精製された CO₂ サンプルの入った封入管をガラス製のチューブクラッカーに入れ, ターボポンプで排気を行った後, クラッカーで封入管を割り CO₂ サンプルを容積可変型の試料溜部に導入する . コンピューター自動制御により, 電磁石の電流を微調整して検出器に入射するイオンビームの位置を最適化し, サンプル試料側と標準試料側のイオン電流が等しくなるよう標準試料側の試料溜部を収縮させ容積を変化させる . 次に空気圧作動弁を開閉し標準試料とサンプル試料を交互に分析管内に導入する . 本研究では 1 試料に対して 7 回の繰り返し測定を実施した . 質量分析計の性能確認と標準試料のドリフト補正のため, サンプル測定回数 10-20 回ごとに CO₂ 標準ガスを精製した試験試料を分析した .

解析方法

同位体とは原子番号 (陽子数) が同じで, 質量数 (陽子と中性子の数の和) が異なる元素のことである . 自然界では炭素の安定同位体として ¹²C と ¹³C が存在する . ¹²C に対する ¹³C の割合を炭素安定同位体比, ¹³C と表す .

サンプルの絶対値の測定には, 質量分析計とサンプルの不均一な変動が影響するため, 安定同位体比は, 標準試料の C とサンプル試料の C との割合で測定される . ¹³C は, 試料の ¹³C/¹²C を標準物質の ¹³C/¹²C からの千分率偏差で表した値である .

$$\delta^{13}\text{C} = \left(\frac{R_{\text{sample}}}{R_{\text{standard}}} - 1 \right) \times 1000 (‰) \quad (1)$$

ここでの R は ¹²C と ¹³C が存在する比率である . 植物に含まれる ¹³C は, 大気中に含まれる ¹³C より少ない . 様々なプロセスにより, CO₂ 拡散と酵素反応によって重い ¹³C に対する分別が起こるためである .

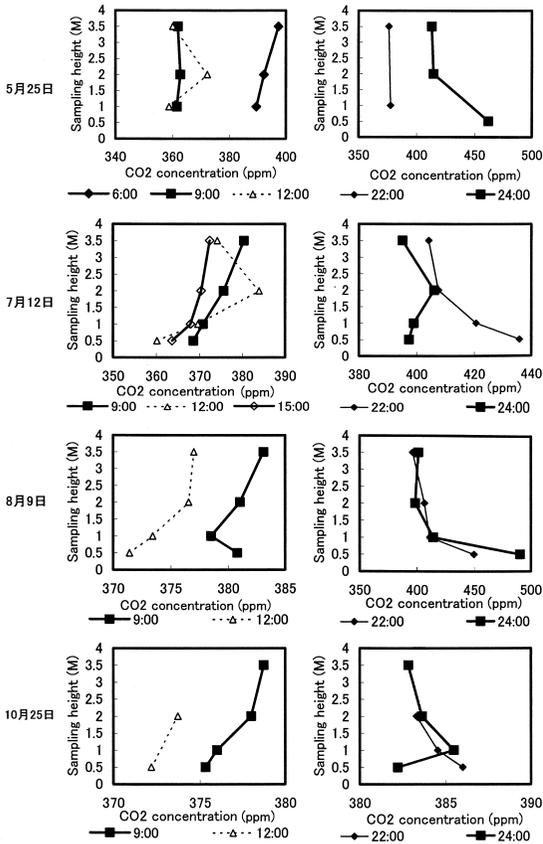
正味生態系 CO₂ フラックスの内, 光合成と呼吸の項を区分するために, 生態系呼吸の炭素安定同位体組成の推定が不可欠である . 生態系の同位体分別過程を明らかにするため, Keeling プロットを用いて炭素同位体の生態系呼吸項を決定した .

Keeling プロットとは, 大気 CO₂ の増加に対するソースの貢献を, CO₂ 濃度に対する ¹³C の値をプロットしたものである . 群落内と境界層の大気濃度は, あるバックグラウンドの大気濃度と, 生態系からのソースを加えた大気を反映した値となる . Keeling プロットでは, 夜間には光合成がないため, 生態系呼吸に由来する ¹³C の減少のみが起こると仮定される . 直線回帰した式の切片から生態系呼吸のソースの ¹³C 値を得る . 生態系の時間変動の度合いに伴う, ¹³C の変動について解析した .

結果

1. サンプル高度と CO₂ 濃度

日中のサンプル高度と CO₂ 濃度の関係について第 1 図に示す . 5 月 25 日の測定では, サンプル高度と CO₂ 濃度に関連は見られなかった . 5 月は葉面積指数 (LAI) が 1 程度と小さかったため, 群落の正味 CO₂ 交換量 (NEE) が他の期間と比較して小さかった (莫ほか, 2003) . そのため, 高度 1.0 m と高度 3.5 m の間の CO₂ 濃度差はほとんどなかった . 7 月以降の測定では, 光合成による CO₂ 吸収の影響により, 日中はサンプル高度が低いほど CO₂ 濃度が低くなった . LAI は 3 以上となった . Toda *et al.* (2000) は, 本圃場では LAI が 1-3 の間は NEE が LAI に比例して大きくなるが, LAI が 3 以上では NEE は LAI に依らないことを



第1図 サンプルング高度ごとの日中と夜間のCO₂濃度

示している。NEEは7月以降大きく、光合成のために植被に近い高度でのサンプルほどCO₂濃度が低くなった。この圃場の草丈は7月になると1mを超えるため、高度0.5mで群落の内部、高度1.0mでは群落の上部付近の大気をサンプルングしていた。このためCO₂濃度は、植物の光合成の影響を大きく受けたと考えられる。夜間のサンプルング高度とCO₂濃度の関係は、植物と土壌より放出されるCO₂により、高度が低くなるほどCO₂濃度が高くなった。高度0.5mと3.5mの濃度差は大気安定度によって大きく異なる。

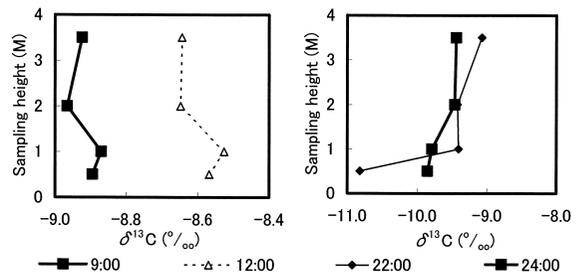
2. CO₂濃度と¹³C値

CO₂濃度の鉛直プロファイルは炭素の同位体比

に影響を与える。地表面付近では、高いCO₂濃度で低い¹³Cとなった。8月9日のサンプルング高度ごとの¹³C値について図2に示す。日中の同時刻における高度ごとのCO₂濃度の差は、12:00の高度0.5mと2.0mの間で6.1ppmであった。2高度における¹³C値の差は-0.10‰であった。CO₂濃度が大きくなるほど¹³C値が小さくなる傾向を示した。

日中の高度差に伴う鉛直CO₂濃度差は小さく、サンプルング高度による¹³C値の差も小さくなる。CO₂濃度と¹³C値の関係から回帰直線を引く場合、誤差成分が大きく作用してしまい、CO₂濃度と¹³C値の相関関係が弱くなり、Keelingプロットに従わないデータプロットが多くなってしまふ。このため多くの観測結果は夜間のCO₂濃度と¹³C値からKeelingプロットを作成し、議論している(例えばBowling *et al.*, 2002)。しかし、今回の測定結果では、日中のサンプルング高度ごとのと対応する傾向にあった。CO₂濃度と¹³C値の測定結果が、日中のKeelingプロット作成に対し十分な精度を持っていたと考えられる。

夜間22:00のサンプルにおいては、CO₂濃度と¹³C値の関係は日中と同じように、CO₂濃度が高いほど、¹³C値は低くなった。しかし、24:00のサンプルングでは、高度0.5mのCO₂濃度が490ppmと著しく高かったのに対し、¹³C値は-9.86‰であった。高度1.0mではCO₂濃度が416ppmに対し、¹³C値は-9.79‰となり、CO₂濃度は2高度で大



第2図 サンプルング高度ごとの日中と夜間の¹³C値(8月9日)

大きく異なるが、 ^{13}C 値はほとんど変わらなかった。これにはサンプルのフットプリント面積が関係している可能性がある。8月には、本研究サイトの群落高さは1 m程度に達する。このため高度0.5 mのサンプリング地点は草原内部の大気をサンプリングすることになる。日中のように活発に乱流が起きる条件であれば、群落内と群落上の大気が十分に交換されるため、高度差によるサンプリング大気のフットプリントの差は比較的小さいと考えられる。また夜間においても、サンプリングのフットプリント面積はサンプリング高度と共に増加するが、Keeling プロットモデルの仮定は維持され、サンプリング高度の違いを無視してもプロファイルに問題が生じないことは経験的に言える (Pataki *et al.*, 2003)。

しかし、大気が安定した夜間における群落内の大気は、狭いフットプリント面積内における生態系を代表することになり、 ^{13}C 値は異なる土壌・植物呼吸、大気 CO_2 を代表している可能性があり、データの取り扱いには注意を要すると考えられる。このため、Keeling プロットの作成には、このような特殊と思われるデータは排除して解析を行った。

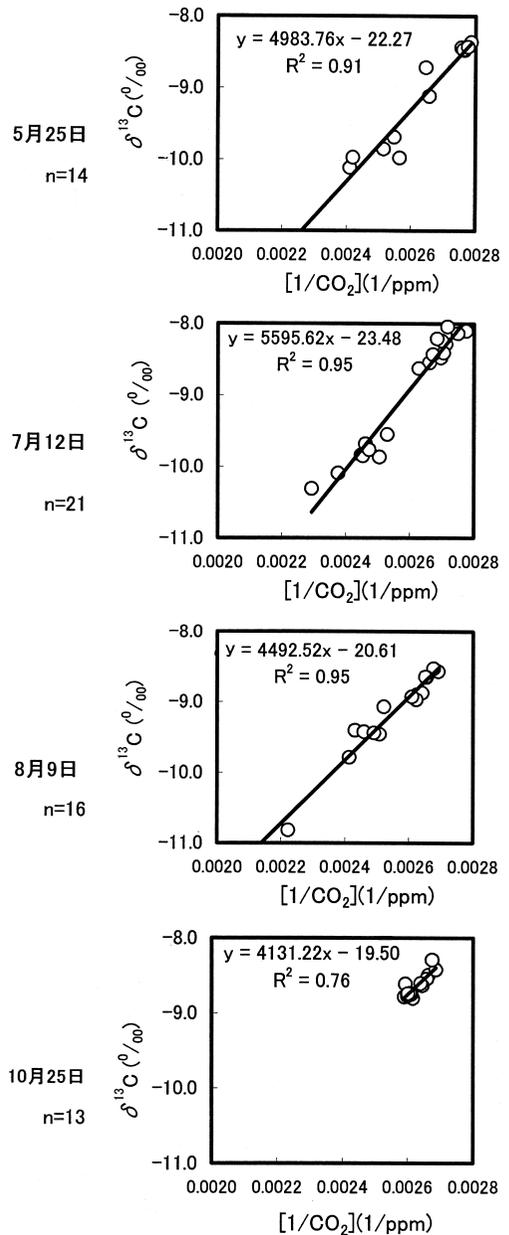
3. Keeling プロット

第3図に CO_2 濃度の逆数に対する ^{13}C の値をプロットした回帰直線を示す。Keeling プロットの切片は生態系呼吸のソースの ^{13}C 値 ($^{13}\text{C}_R$) を示している。

5月、7月、8月の測定から得られた回帰直線は R^2 値が0.9以上と高い相関を示した。

C3 と C4 植物の同位体分別過程の違いから、C3 植物ではC4植物に比べより大きな同位体分別がおこる。C3 植物の ^{13}C 値は -22 ~ -31‰程度の値となり、C4 植物では -10 ~ -16‰程度の値となる (米山, 1988)。

この草原では、5月はセイタカアワダチソウやヨモギなどの C3 植物が群生し、植物体地上部バイオ



第3図 日中と夜間のデータをあわせて $1/[\text{CO}_2]$ と ^{13}C の相関図

マスからみても優占していた (莫ほか, 2003)。5月の $^{13}\text{C}_R$ 値は -22.27‰であった。同じく C3 植物が優占した7月の $^{13}\text{C}_R$ 値は -23.48‰であった。これらの値は C4 植物の個体の同位体比に近く、生態系呼吸のソースの ^{13}C は C3 植物による寄与が

大きかったと思われる。C3植物の ^{13}C 値を平均的な値である -27‰ 、C3植物の ^{13}C 値を平均的な値である -12‰ と仮定すると、生態系全体のガス交換に対するC3植物の寄与率は5月で69%、7月で76%となる。大気の ^{13}C 値は生態系によるガス交換を代表したものであり、植物体地上部によるガス交換のみならず、植物体地下部や土壌呼吸を含めた生態系全体のガス交換を代表している。このため、C3植物の地上部バイオマスが優占したことだけが、 ^{13}C 値を小さくした理由とはいえない。しかし、5月、7月の ^{13}C 値に、C3植物の生態系ガス交換が大きく寄与した可能性が高い。

一方、8月には $^{13}\text{C}_R$ は -20.61‰ まで低下した。この草原では、毎年7月から8月にかけてC3植物からC4植物への優占種の移行が起こり、2002年も似たような傾向を示している(莫ほか、2003)。C3植物の生態系ガス交換に対する寄与率は57%と推定され、7月に比べ小さくなっており、優占種の移行が大気の ^{13}C 値の変化に大きく影響したと考えられる。

まとめ

本研究では、Keelingプロットを用いて炭素同位体の生態系呼吸項を決定した。光合成過程が気孔に与える影響は短期スケールで変化する一方、生態系呼吸は長期に渡る様々な炭素ソースに由来する反応となる。このため、生態系ガス交換が完全に同位体平衡に達していない可能性がある。しかし、Keelingプロットの仮定では、夜間の呼吸が大気 $^{13}\text{CO}_2$ に与える影響と日中の影響に差がみられない、と定義する。Pataki *et al.* (2003)は、C3種のみ、あるいはC4種だけの生態系では、光合成と呼吸過程において光合成と呼吸におなじ CO_2 が利用される同位体平衡状態とすることは妥当かも知れない、と述べている。本研究サイトのようなC3植物とC4植物が混生する草原生態系において、

上記の仮定が成り立つかどうかははっきりしていない。また $^{13}\text{CO}_2$ を用いた生態系呼吸の推定は、その他にもフットプリントを同一とすることや CO_2 濃度と ^{13}C 値の相関が確かであること等、多くの仮定を基にして成り立っている。これら仮定をひとつひとつ検証することは不可能であるが、ある程度の測定条件を整備してサンプリングを行い、データの精度向上につとめなければならない。

本研究では、これら仮定の上ではあるが、C3植物とC4植物が混生する草原生態系において、優占種の移行にともなう生態系ガス交換のソースとなる ^{13}C 値の変化を明らかにした。5月と7月で生態系ガス交換に対するC3植物の寄与率は69%、76%と推定され、8月では寄与率は減少すると推定された。今後は、植物体地上部、地下部や土壌の ^{13}C 値を含めて総合的な CO_2 の ^{13}C ソースの推定を行い、生態系炭素循環プロセスを詳細に解明する必要がある。

文 献

- 莫 文紅・下田星児・鞠子 茂・及川武久(2003): 筑波大学実験草原園場(C3/C4混生草原)における炭素フラックスの細分化・各種陸上生態系における炭素・水・熱フラックスの相互関係の微気象生態学的解析基盤研究(A)(1)平成14年度成果報告書, 21-25.
- 米山忠克(1988): 同位体は語る。化学と生物, 26, 176-183.
- Baldocchi, D., Falge, E. and Wilson, K. (2001): A spectral analysis of biosphere-atmosphere trace gas flux densities and meteorological variables across hour to multi-year time scales. *Agricultural and Forest Meteorology*, 107, 1-27.
- Bowling, D. R., McDowell, N. G., Bond, B. J., Law, B. E. and Ehleringer, J. R. (2002): ^{13}C content of ecosystem respiration is linked to precipitation and vapor pressure deficit. *Oecologia*, 131, 113-124.

- Buchmann, N. and Ehleringer, J. R. (1998): CO₂ concentration profiles, and carbon and oxygen isotopes in C3 and C4 crop canopies. *Agricultural and Forest Meteorology*, **89**, 45-58.
- Goulden, M. L., Munger, J. W., Fan, S. M., Daube, B. C. and Wofsy, S. C. (1996): Measurement of carbon storage by long-term eddy correlation: Methods and a critical assessment of accuracy. *Global Change Biology*, **2**, 169-182.
- Law, B. E., Baldocchi, D. and Anthoni, P. M. (1999): Below-canopy and soil CO₂ fluxes in a ponderosa pine forest. *Agricultural and Forest Meteorology*, **94**, 171-188.
- Lloyd, J. and Farquhar, G. D. (1994): ¹³C discrimination during CO₂ assimilation by the terrestrial biosphere. *Oecologia*, **99**, 201-215.
- Pataki, D. E., Ehleringer, J. R., Flanagan, L. B., Yakir, D., Bowling, D. R., Still, C. J., Buchmann, N., Kaplan, J. O. and Berry, A. (2003): The application and interpretation of Keeling plots in terrestrial carbon cycles research. *Global Biogeochemical Cycles*, **17**, 1-14.
- Saigusa, N., Oikawa, T. and Liu, S. (1998): Seasonal variation of exchange of CO₂ and H₂O between a grassland and atmosphere: An experimental study. *Agricultural and Forest Meteorology*, **89**, 131-139.
- Toda, M., Saigusa, N., Oikawa, T. and Kimura, F. (2000): Seasonal changes of CO₂ and H₂O exchanges over a temperate grassland. *Journal of Agricultural Meteorology. Japan*, **56**, 195-207.
- Yakir, D. and Wang, X. F. (1996): Fluxes of CO₂ and water between terrestrial vegetation and the atmosphere estimated from isotope measurements. *Nature*, **380**, 515-517.

(2003 年 6 月 2 日 受付 , 2003 年 7 月 24 日 受理)