

# 名大クロマツの年輪セルロース炭素同位体比から探る環境変動

林 和樹<sup>1)</sup>, 南 雅代<sup>2)</sup>

- 1) 名古屋大学理学部地球惑星科学科
- 2) 名古屋大学年代測定総合研究センター

## 1. はじめに

過去の気候変動を復元するために、樹木年輪を利用した研究が古くから盛んにおこなわれてきている(例えば Fritts, 1976; Duvick and Blasing, 1981; Briffa et al., 1990; Syo and Takahashi, 1998)。この研究の初期のころは、年輪幅と気象要素とを対応させ気候の復元を試みるものであった。しかし、年輪幅からそれぞれの気象要素を分析するのは非常に困難である。年輪の成長は気候などといった地域的な環境だけでなく、その個体の立地条件や競合関係といったさまざまな要因が複雑に絡み合っており、ある気象要素のみの情報を取り出すことはほぼ不可能と考えられる。そこで、近年は年輪中からセルロースを単離し、その同位体組成から気候変動の復元を試みる研究がおこなわれている。年輪中のセルロースはほかの化学成分とは異なり、樹木の細胞壁を形成し年輪間を移動しないため、高い時間分解能を持ち、古環境の解析をおこなうために適した成分とされている。特に炭素の安定同位体比については、測定も容易であることから、広く多岐にわたって研究がおこなわれてきている。しかし、炭素安定同位体比  $\delta^{13}\text{C}$  値と気象要素との相関分析からも未だ確定的な変動要因について特定できていないのが現状である。本研究では、 $\delta^{13}\text{C}$  と気象要素との相関だけでなく、早材と晩材に分けることによって季節ごとの変動との相関を調べることにより、樹木年輪のセルロース中の  $\delta^{13}\text{C}$  値の変動要因について分析を試みた。

## 2. 分析試料と分析方法

測定試料は 2002 年 9 月に名古屋大学敷地内 (N35° 09' 19.565" E136° 58' 06.928") で伐採されたクロマツ (*Pinus thunbergii*) である。樹齢は 49 年であり、このマツは 1953 年から 2002 年までのこの地域の環境変動を記録している。試料マツの生育当時、すぐ近くに焼却炉が存在していた。その焼却炉の稼働時期について詳細は不明だが、同大学内の他の焼却炉のデータから、1970 年代ごろから 1990 年代後半まで稼働していたと推測される。

試料はチェーンソーなどを用いて円盤状に切断した後、放射方向に長い短冊の形に切りだす。この段階で年輪の堺目が明確になるよう研磨し年輪数を数える。これを約 3cm 角のサイコロ状木片に切断し、蒸留水に浸し超音波洗浄後ホットプレートの上で約 5 日間、60~70°C に加熱した。これは木片の含水率を上げることで、後のマイクロトームによる剥離処理を容易にするための操作である。そして、マイクロトームを用いて木片の表面を剥離した後、20  $\mu\text{m}$  毎に切断し、年輪を 1 年毎に晩材と早材とに分けて剥離した。クロマツの仮導管細胞の大きさは、放射方向に早材で 20~60  $\mu\text{m}$ 、晩材で 8~25  $\mu\text{m}$ 、接線方向に 20~50  $\mu\text{m}$  であり、本来であればより薄く削る方がよりセルロースの抽出を容易にすると考えられるが、技術的にも最も均一に切断が可能であった 20  $\mu\text{m}$  での切断をおこなった。切断後、蒸留水に浸し 2~3 回の超音波洗浄をおこなった。

1.2N HCl 水溶液を 60~70°C に加熱し、約 2 時間以上毎に溶液を交換、これを 4~5 回繰り返す、そのうち 1 回は室温で一晩以上放置する。この同様の操作を 1.2N NaOH 水溶液で行い、再

び 1.2N HCl 水溶液にておこなう。その後、リグニンを除去するため、70~80°Cになるよう調節した酸性溶液下で亜塩素酸ナトリウムを 7%になるよう加える。1 時間毎にこの処理を繰り返し、計 5 時間続けた。十分な漂白処理の後、溶液中の亜塩素酸ナトリウムを除去するため、60~70°C の 1.2N HCl · H<sub>2</sub>O による洗浄をおこなった。続いて試料からヘミセルロース、β・γ-セルロースを除去し α-セルロースのみを抽出するために、室温で 30 分間の 17.5% NaOH 水溶液による処理をおこなった。この処理の後、残った α-セルロースを 47mm φ のグラスフィルターで濾別し、17.5% NaOH、1.2N HCl、H<sub>2</sub>O の順で洗浄をおこなった。得られたセルロースは一晩以上の凍結乾燥をおこなった。

### 3. EA 法と封管法の測定差

本研究では、単離したセルロースを 2 種類の手法を用いて CO<sub>2</sub> 化を行っている。年代測定総合研究センターではこれまで、封管法を用いて試料の燃焼を行ってきた。封管法は、セルロースを酸化銅とともにバイコール管に真空封入し、850°C で 2 時間燃焼させ、その後発生したガスを真空ラインへと導入し冷媒を用いて CO<sub>2</sub> を精製する。一方、EA 法 (元素分析計-真空ラインシステム) は元素分析計に直結された真空ラインで CO<sub>2</sub> ガスの分離を行うものである。この EA 法は封管法に比べ試料からの CO<sub>2</sub> ガスの精製率がおよそ 100% であり、また時間的にも効率的に行える手法である。この 2 種類の手法の違いを検討するために、本研究では試料マツの 1 年輪 (1962 年の早材部) を 7 つに分けセルロースを単離し、それぞれの手法によって CO<sub>2</sub> ガスの精製を行った。本論文中的、上記以外の本試料マツの CO<sub>2</sub> ガスの精製は全て EA 法を用いて行っている。真空ラインに繋がった元素分析計 (NA 2500) により、セルロースは全てガス化され、CN 含有量が求められている。精製された CO<sub>2</sub> ガスは、名古屋大学年代測定センターの気体用質量分析計 (Finnigan MAT252) より δ<sup>13</sup>C を測定した。Finnigan MAT252 の δ<sup>13</sup>C 値の測定誤差は ±0.1‰ である。

図 1 に測定結果を示す。左図では EA 法を用いて約 4.5mg のセルロースを、右図では封管法を用いて約 1.5mg のセルロースをガス化し測定をおこなっている。試料 3 については、十分な量のセルロースが単離できず、EA 法だけでガス化をおこなった。図 1 の結果から、封管法と EA 法による大きな違いはないと考えられる。したがって、δ<sup>13</sup>C 値の測定においては、試料からの CO<sub>2</sub> ガスの精製率がおよそ 100% であり、また時間的にも効率的に行える手法である EA 法の方が良いといえる。

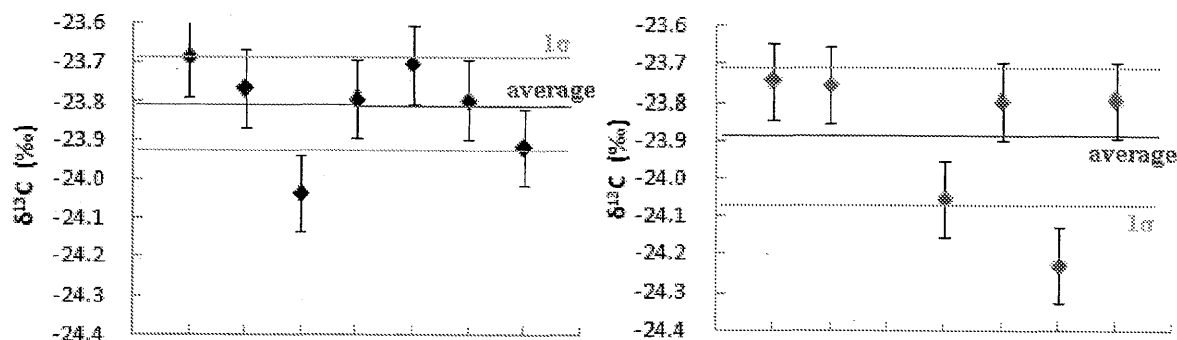


図 1. EA 法 (左) と封管法 (右)、それぞれの手法による δ<sup>13</sup>C の測定結果。EA 法による δ<sup>13</sup>C の平均値は -23.81‰、標準偏差は 0.11。封管法による δ<sup>13</sup>C の平均値は -23.90‰、標準偏差は 0.18。

#### 4. 測定結果と考察

$\delta^{13}\text{C}$  の測定結果を図 2 に示す。測定は樹木の中心部からの放射方向に対して、一方向のみの測定を行っている。 $\delta^{13}\text{C}$  値はどの放射方向についても、同じ変動傾向を示すことが分かっているので、一方向の測定値をその樹木の代表する変動値とみることができる (Syo, 2001; Yu, 2004)。

図 2 の結果から、 $\delta^{13}\text{C}$  値については 1955~1979 年と 1980~2002 年の間で早材と晩材の変動の傾向が異なっているように見える。1955~1979 年間の早材部と晩材部の  $\delta^{13}\text{C}$  値で相関を取ると、 $r=0.929$  と非常に高い正の相関を示すのに対し、1980~2002 年間の早材部と晩材部の  $\delta^{13}\text{C}$  値で相関を取ると、 $r=-0.075$  と非常に低い相関を示す。このことから、1970 年代の後半を境に、 $\delta^{13}\text{C}$  値に与える変動原因が大きく異なっている可能性が考えられる。

また図 3 には、本試料のクロマツの  $\delta^{13}\text{C}$  の測定結果と、先行研究として琵琶湖沿岸部のヒノキ (*Chamaecyparis obtuse*; Syo et al., 2002) と名古屋のアカマツ (*Pinus densiflora*; Andrzej, 2006) の  $\delta^{13}\text{C}$  測定結果を並べて比較している。ただし、ヒノキの試料については本試料と同様にセルロース抽出処理がおこなわれているが、アカマツについてはセルロース抽出処理がおこなわれていない。ヒノキについては、5 年ほどの違いはあるもののクロマツと同様に 1970 年代に  $\delta^{13}\text{C}$  の高いピークが存在する。この年輪中の  $\delta^{13}\text{C}$  の高いピークは、関東地方のヒノキの  $\delta^{13}\text{C}$  にも現れている (Kitagawa et al., 1993)。この結果から、1970 年代の  $\delta^{13}\text{C}$  の高いピークは、地域的な気象要因に影響されたものではなく、何らかの広域的な環境変動による原因が考えられる。この原因の一つに、日本の高度経済成長期における大気汚染の影響などが推測される。

しかし、同じ名古屋地域の年輪であっても、アカマツの年輪からは 1970 年代の  $\delta^{13}\text{C}$  のピークというものは現れていない。この原因については、樹木種による違い、分析方法による違い、生育場所による違いが考えられる。分析方法については、アカマツではセルロースの抽出処理をおこなっていないために松脂やリグニンなどの影響で経年変動がはっきり現われていないことも考えられるが、Loader (2003) などの先行研究から年輪中のセルロースとセルロース以外の成分の  $\delta^{13}\text{C}$  の経年変動は非常に高い相関を示すことが分かっているため、分析方法の違いが決定的な原因であるとは考えにくい。生育場所による違いについては、アカマツとクロマツは同じ名古屋大学敷地内で採取されていて違いはなく、ただクロマツは生育当時近くに焼却炉が存在していたことがあげられる。これらの違いについては、同大学敷地内において別のマツを測定することによって、 $\delta^{13}\text{C}$  の変動を比較する必要がある。

#### 5. 気象要素と $\delta^{13}\text{C}$ の相関関係

本試料マツのセルロース中の  $\delta^{13}\text{C}$  の年変動と気象要素との影響を見るために、試料採取地域の各気象要素 (日照時間、降水量、相対湿度、蒸気圧、平均気温) との相関を調べた。気象データは気象庁名古屋気象台の名古屋地域のデータを引用している (Japan Meteorological Agency, <http://www.jma.go.jp/jma/index.html>)。

図 2・図 3 の結果からより気象要因の影響が強いと考えられる 1980 年以降のデータについて 1980 年~2002 年までの気象要素の月別平均値とそれらの年の  $\delta^{13}\text{C}$  の値から求めた相関係数を図 4 に示す。図 4 では、一年輪を早材と晩材のそれぞれの成分に分けることによって、それらがどの月の気象要素の影響を強く受けているのかを調べている。常緑針葉樹であるクロマツの伸長成長は 4 月~6 月までのわずかな期間で成長は止まってしまうが、樹木幹の肥大成長については早材が 3 月~8 月、晩材が 9 月~12 月まで細胞分裂がおこなわれ、休眠期間は 1 月~2 月のわず

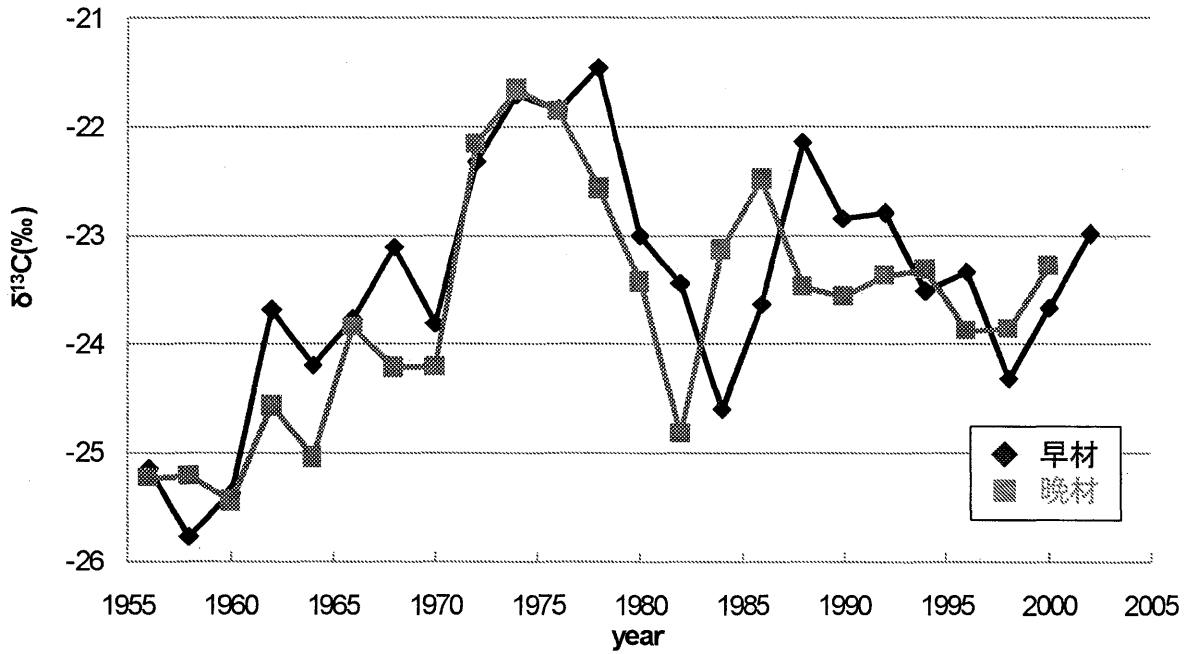


図2. 名古屋のクロマツの年輪セルロース中の  $\delta^{13}\text{C}$ 。1955年から2002年までの年輪を、早材と晩材に分け、一年おきに  $\delta^{13}\text{C}$  を測定。

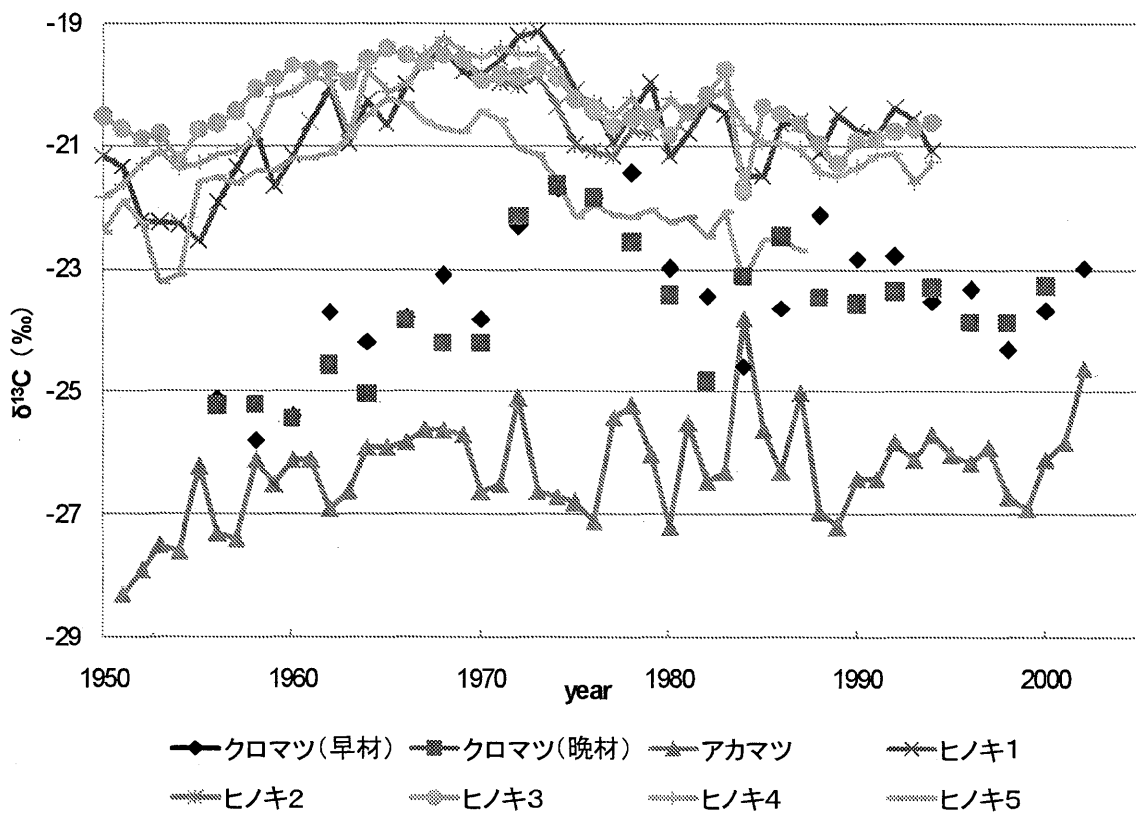
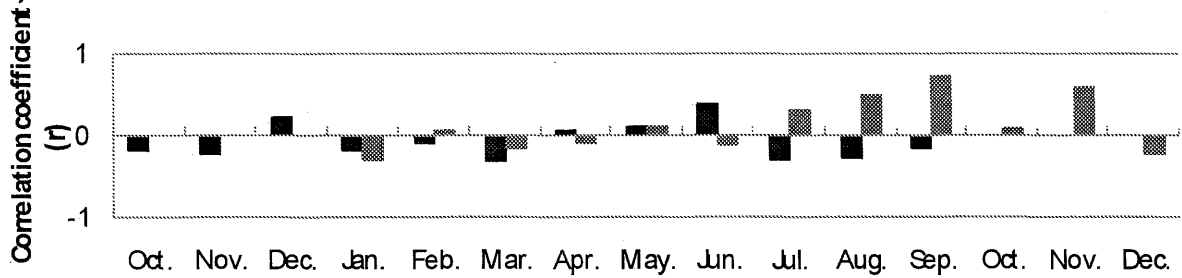
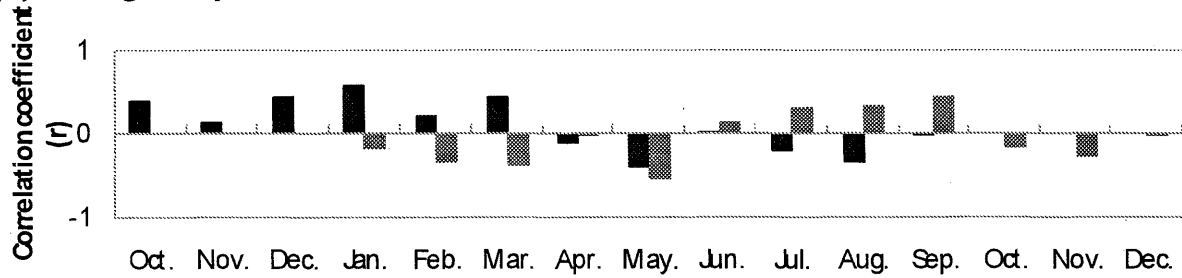


図3. 本試料のクロマツと、琵琶湖沿岸部のヒノキ (Syo et al., 2002) と名古屋のアカマツ (Andrzej, 2006) の  $\delta^{13}\text{C}$  測定結果。

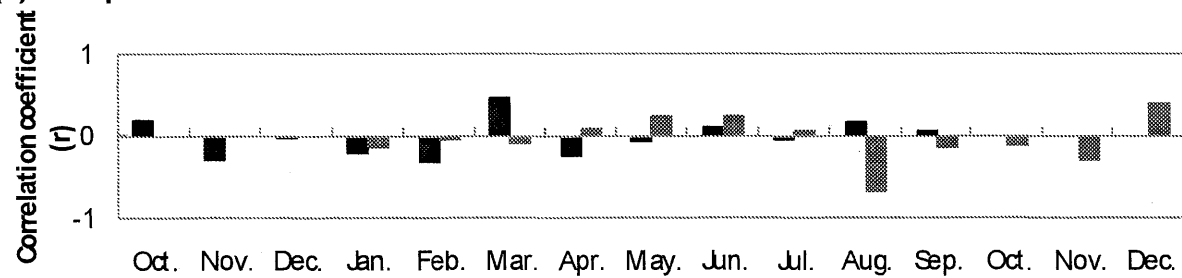
(a) Sunshine duration



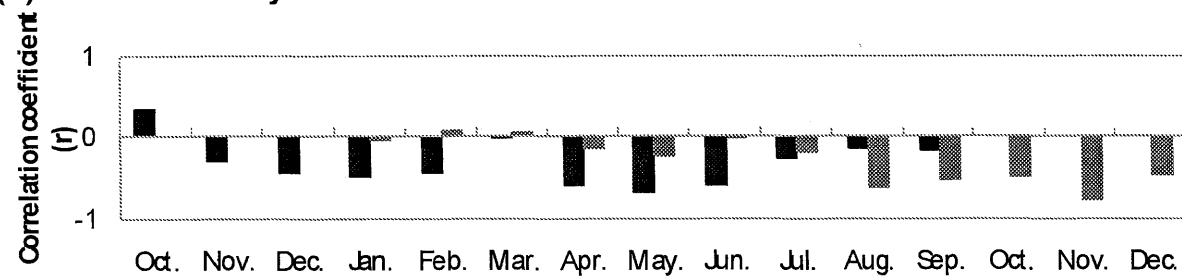
(b) Average temperature



(c) Precipitation



(d) Relative humidity



(e) Vapor pressure

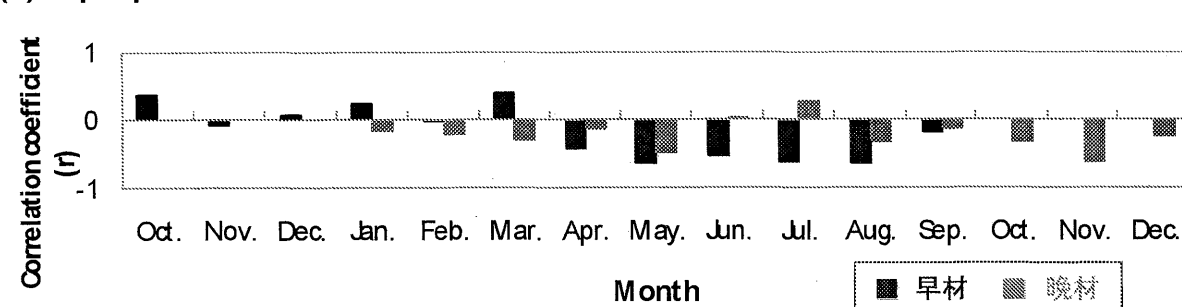


図4. 各月別の気象要素と  $\delta^{13}\text{C}$  の相関係数。用いた気象要素は名古屋地域の a)日照時間、b) 日平均気温、c)降水量、d)相対湿度、e)蒸気圧の月別平均である。早材は前年度の10月から9月まで、晩材は1月から12月までの相関を示している。

かな期間だけである。前年度の光合成の影響も考え、早材については前年の成長が終わった9月～8月までの期間を、晩材については前年の成長が終わった1月～12月までの期間で各月の気象要素との相関係数を求めた。

図4から、各月で早材と晩材が違う相関を示していることが分かる。特に注目したいのが、図4(d)の相対湿度の相関である。この図では、早材と晩材で相関係数の高い月が明確に分かれており、それぞれ細胞の成長時期に対応している。早材では、マツの早材成長季節である4月～7月に相関係数  $r = -0.70 \sim -0.60$  という高い負の相関を示し、晩材の成長季節である9月～11月には  $r = -0.78 \sim -0.50$  という高い負の相関を示している。この結果から、このマツの年輪中の  $\delta^{13}\text{C}$  は相対湿度と深い関係があるのではないかと考えることができる。また、図4(c)の  $\delta^{13}\text{C}$  値と降水量の相関では、一般的に早材の成長が始まる3月に高い正の相関が、晩材の成長が始まる8月に高い負の相関が示されている。このことから、それぞれの年輪が成長を始める季節の降水量が影響している可能性も考えられる。

## 6. 各樹木種の気象要素による影響について

過去多くの研究者達によって、年輪中のセルロースの  $\delta^{13}\text{C}$  の変動と気象要素との関係が研究されてきたが、どの気象要素が最も強く影響しているのか、はっきりとした答えが得られていないのが現状である。その一つに樹木種による違いというものが考えられる。光合成によるプロセスは C4 cycle, C3 cycle, CAM cycle などによって、 $\delta^{13}\text{C}$  の取りうる値は大まかに決まっているが (Dudziak and Halas, 1996)、それ以外は立地条件などによって変動の最大要因は異なっている可能性がある。Kitagawa and Wada(1993) らは、ヒノキ (*Chamaecyparis obtuse*, 日本の関東) の年輪中の  $\delta^{13}\text{C}$  の変動は、その年輪の成長期の湿度 (乾燥状態) による影響が大きいと述べている。Mariusz(2000) は、オーク (*Quercus robur*, ポーランド) の年輪中の  $\delta^{13}\text{C}$  の変動は、その年輪の成長期の降水量による影響が大きいと述べている。Syo and Takahashi(2001) は、ヒノキ (*Chamaecyparis obtuse*, 日本滋賀県) の年輪中の  $\delta^{13}\text{C}$  の変動は、その年輪の成長期の日照時間による影響が大きいと述べている。Ke-Fu Yu (2004) はマングローブ (*Rhizophora apiculata*) の年輪幅と年輪中の  $\delta^{13}\text{C}$  の変動は海水温と海水位による影響が大きいと述べている。

地域、樹木種によって  $\delta^{13}\text{C}$  の変動の最大要因は大きく異なることが考えられる。本研究により、名古屋地域におけるマツの  $\delta^{13}\text{C}$  値の変動の最大要因は相対湿度であることが予想される。これを証明するためには、他の同地域で採取された同種のマツを何本か分析する必要がある。

## 7. まとめ

測定法について、EA法と封管法による  $\delta^{13}\text{C}$  の測定に差はない。1970年代には年輪セルロース中の  $\delta^{13}\text{C}$  に高いピークがみられる。この期間の最大要因として、気象要素ではなく大気汚染などの環境要因の影響が考えられる。1980年以降の期間には安定した成長がみられる。競合環境や大気汚染といった特別な影響を受けていない、この地域の気象要素を最も反映していると考えられるこの期間では、名古屋のクロマツにおける  $\delta^{13}\text{C}$  変動の最大要因は相対湿度にあると考えられる。今後はマツの  $\delta^{13}\text{C}$  の変動を調べるために、1年ごとのデータを出すことと、早材晩材という2成分だけではなく、多くの成分に分けることによって、季節ごとの細かな変動要因について調べることが可能であると考えられる。

## 8. 謝辞

セルロース調製を行うにあたりご指導頂きました名古屋大学年代測定センターの小田寛貴博士、EA法を使用するにあたり助力を頂きました大森貴之氏、樹木試料の採取や焼却炉の情報などについてお世話をかけました名古屋大学大学院環境学研究科の田中剛教授、試料切断の際に御尽力を頂きました名古屋大学農学部の竹中千里教授および技術部の方々、以上の方々に心からの感謝を申し上げます。

## 9. 参考文献

- 庄建治朗・高橋浩・中村俊夫 (2001) 琵琶湖南岸地域のヒノキ年輪データによる気候変動再現の試み. 名古屋大学加速器質量分析計業績報告書, 12, 193-204.
- Andrzej Rakowski and Nakamura, T. (2004) Changes in radiocarbon concentration in modern wood from Nagoya, central Japan. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, B.* 223-224, 507-510.
- Boettger, T. (2007) Wood Cellulose Preparation Methods and Mass Spectrometric Analyses of  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$ , and Nonexchangeable  $\delta^2\text{H}$  Values in Cellulose, Sugar, and Starch: An Interlaboratory Comparison. *Anal. Chem.* 79, 4603-4612.
- Briffa, K. R. (1990) A 1,400-year tree-ring record of summer temperatures in Fennoscandia. *Nature*, 346, 434-439.
- Craig, H. and Gordon, L. I. (1965) Deuterium and oxygen 18 variations in the ocean and marine atmosphere. *Proc. Conf. on Stable Isotopes in Oceanographic Studies and Paleotemperatures* (Tongiorgi, E., ed.), 9-130, Spoleto, Italy.
- Duvick, D. N. and Blasing, T. J. (1981) A dendroclimatic reconstruction of annual precipitation amounts in Iowa since 1680. *Water Resour. Res.*, 17, 1183-1189.
- Edmund C. February and William D. Stock (1999) Declining Trend in the  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  Ratio of Atmospheric Carbon Dioxide from Tree Rings of South African *Widdringtonia cedarbergensis*. *Quaternary Research* 52. 229-236.
- Farquhar, G. D., O'Leary, M. H. and Berry, J. A. (1982) On the relationship between carbon isotope discrimination and intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Aust. J. Plant Physiol.*, 9, 121-137.
- Fritts, H. C. (1976) *Tree Rings and Climate*. Academic Press, London, 567.
- Green, J. W. (1963) In *Methods of Carbohydrate Chemistry*. Whistler R. L., Ed. Academic Press. New York. 9-21.
- Helle, G. and Schleser, G. H. (2004) Beyond  $\text{CO}_2$ -fixation by Rubisco – an interpretation of  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  variations in tree rings from novel intra-seasonal studies on broad-leaf trees. *Plant, Cell and Environment*, 27. 367-380.
- Ke-Fu Yu (2004) Alpha-cellulose  $\delta^{13}\text{C}$  variation in mangrove tree rings correlates well with annual sea level trend between 1982 and 1999. *Geophysical Research Letters*, Vol. 31, L11203.
- Kitagawa, H. and Wada, H. (1993) Seasonal and secular  $\delta^{13}\text{C}$  variations in annual growth rings of a Japanese cedar tree from Mt. Amagi, Izu Peninsula, Central Japan.

Geochem. J. 27, 391–396.

- Loader, N. J. (2003) comparison of stable carbon isotope ratios in the whole wood, cellulose and lignin of oak tree-rings. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 196, 395-407.
- Nakatsuka, T. and Ohnishi, K. (2004) Oxygen and carbon isotopic ratios of tree-ring cellulose in a conifer-hardwood mixed forest in northern Japan. *Geochemical Journal*, Vol. 38, 77-88.
- Sakata, M. and Suzuki, K. (1998) Assessment method for environmental stresses in trees using  $\delta^{13}\text{C}$  records of annual growth rings. *Geochemical Journal*, Vol. 32, 331-338.
- Sakata, M., Suzuki, K. and Koshiji, T. (2001) Variations of wood  $\delta^{13}\text{C}$  for past 50 years in declining Siebold's beech (*Fagus crenata*) forests. *Environ. Experi. Botany* 45, 33–41.
- Takahashi, H. and Yonenobu, H. (2001) Seasonal fluctuation of stable carbon isotopic composition in Japanese Cypress tree rings from the last glacial period-possibility of paleoenvironment reconstruction. *Radiocarbon*, Vol. 43, Nr 2A, 433-438.



## Reconstruction of climatic changes using $\delta^{13}\text{C}$ variations of annual tree-ring celluloses of a Japanese pine tree from Nagoya

Kazuki HAYASHI<sup>1)</sup> and Masayo MINAMI<sup>2)</sup>

1) Department of Earth and Planetary Science, School of Science, Nagoya University,

Nagoya 464-8602

2) Center for Chronological Research, Nagoya University, Nagoya 464-8602

We investigated the relationships between climatic factors and annual tree-ring data such as stable carbon isotopic composition and tree-ring width of a Japanese pine tree (*Pinus thunbergii*) with annual rings from 1955 to 2002, which was collected at the site of Environmental Studies Hall in Nagoya University. The climatic factors used are: month total values of sunshine duration and precipitation, month average values of day average temperature, relative humidity and vapor pressure in the Nagoya area.

The annual rings of the sample are very wide in the periods from 1960-1970. This remarkable growth might be related with the local environment changes not with the regional environment changes because the annual-ring width shows no correlation with the climatic factors. The  $\delta^{13}\text{C}$  fluctuations of the annual rings in the period from 1955 to 1979 are different from those in the period from 1980 to 2002. The result shows the change factors of  $\delta^{13}\text{C}$  values in the two periods are different. In the period from 1955 to 1979, no-climatic environmental factors, that is, artificial factors such as air pollution effect the  $\delta^{13}\text{C}$  fluctuations because they are not related with the climatic factors. In the period from 1980 to 2002, on the other hand, the month average values of relative humidity are good correlative with the  $\delta^{13}\text{C}$  fluctuations of earlywood and latewood fractions, relatively.