

団粒構造破壊による土壌有機物分解促進の炭素同位体比解析  
Carbon Isotopic Analysis of Decomposition of Soil Organic Matter  
Stimulated by Destruction of Soil Aggregate Structure

森泉 純<sup>1,2\*</sup>・酒井義人<sup>1</sup>・早川修平<sup>2</sup>・平尾茂一<sup>1,2</sup>・山澤弘実<sup>1,2</sup>  
Jun Moriizumi<sup>1,2\*</sup>, Yoshito Sakai<sup>1</sup>, Shuhei Hayakawa<sup>2</sup>, Shigekazu Hirao<sup>1,2</sup> and Hiromi Yamazawa<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>名古屋大学大学院工学研究科エネルギー理工学専攻

<sup>2</sup>名古屋大学工学部物理工学科量子エネルギー工学コース

<sup>1</sup> Dept. of Energy Engineering and Science, Graduate School of Engineering, Nagoya University, Chikusa-ku, Nagoya 464-8603, Japan.

<sup>2</sup> Division of Quantum Science and Energy Engineering, Dept. of Materials, Physics and Energy Engineering, School of Engineering, Nagoya University, Chikusa-ku, Nagoya 464-8603, Japan.

\*Correspondence author. E-mail: j-moriizumi@nucl.nagoya-u.ac.jp

Abstract

Cyclic drying and re-moistening of soil, sampled in a *Larix leptolepis* forest in Aichi Pref., Japan, increased CO<sub>2</sub> generation by decomposition of soil organic matter (SOM) during 40-day incubation at 20°C. Assuming these increases were additional, the increment of both surface and deep soil have δ<sup>13</sup>C of -23‰, which were 2-4‰ higher than CO<sub>2</sub> generated under continuously moistened condition. Physical destruction of soil aggregates arose change in δ<sup>13</sup>C of generated CO<sub>2</sub> that was similar to the drying and re-moistening treatment of soil. DOC extracted from the dried and re-moistened soil had larger δ<sup>13</sup>C than not-treated controls, suggesting some contribution of DOC to increase of CO<sub>2</sub> generation, while it was not solely responsible to the increment CO<sub>2</sub>.

Keywords: 土壌有機物分解; 乾燥再湿潤; DOC; 森林土壌; 気候変動

1. はじめに

気候変動、いわゆる地球温暖化に最も寄与する大気中二酸化炭素(CO<sub>2</sub>)の動態、即ち発生・大気輸送・消滅機構の定量的な理解は、気候変動の将来予測の精度向上と有効かつ効率的な対応策・抑制策の策定に必須の科学的知見である。大気中 CO<sub>2</sub> の最大の吸収源は陸上植物（主に森林）による光合成であり、一方最大の放出源は森林及び森林土壌からの植物及び微生物の呼吸である。森林土壌は生態圏を動的に循環、移動する炭素の約 2/3 を保持する最大の炭素リザーバーである(IPCC, 2013)。従って気候変動に対する森林の応答は CO<sub>2</sub> のフロー及びストックの両面において非常に大きなインパクトを持ち、気候変動予測上の極めて重大な変動要因である。

土壌からの CO<sub>2</sub> 放出は主に土壌中の有機物を微生物が分解して利用し、CO<sub>2</sub> を生成する機構（土壌有機物分解）と、生きた植物の根の呼吸で CO<sub>2</sub> 生成される機構（根呼吸）により、両者を併せて土壌呼吸と呼ぶ。このうち根呼吸は植物が直近に光合成により大気中から固定した CO<sub>2</sub> を起源とする有機物を使用するのに対し、有機物分解に使用される有機物は分解に要する時間スケール（＝貯留される時間スケール）が数日、1 年以下の短い有機物から数年、数 10 年、数 1000 年にわたる長い有機物まで様々である。長い期間土壌中に貯留される有機物の分解が気候の変動により促進される場合、上記の大きな炭素のストックを元に、大気への CO<sub>2</sub> 放出量が増大する。その程度によって

は森林が大気中 CO<sub>2</sub> の正味の吸収源から正味の放出源にまわる恐れがある。

土壌を乾燥し再び湿潤とすると、CO<sub>2</sub> の生成率（生成速度）が定常時に比べ短時間で数～数 10 倍に増加する現象はバーチ効果として古くから知られる(Birch, 1956)。その機構として微生物が乾燥ストレスから身を守るために生産した有機物の消費、乾燥により死滅した微生物体の分解、有機物の土壌間隙での拡散・移動の促進、土壌団粒構造の破壊による有機物の物理的保護作用の喪失等が指摘されているが、解明は十分でない。ここで団粒とは土壌を形成する鉱物粒子、腐植、植物片等が粘度の高い有機物により結合された土壌構造であり、数 100 μm 以下から数 mm 以上の幅広い粒径を持つ。団粒の物理的保護(Edwards and Bremner, 1967)の破壊により、分解されやすいものの微生物から隔離されていたがために長期間土壌中に安定的に存在し得た有機物(Jenkinson and Rayner, 1977)が分解される可能性がある。一方、気候変動の進展により極端な気象条件の出現頻度の増加が予測されている(IPCC, 2013)。森林土壌が過去数 10 年、数 100 年あるいはそれ以上の期間にわたり経験していない極端な乾燥に見舞われると、乾燥再湿潤過程が団粒破壊を通じて(van Gestel, 1993; Denef, 2001)、土壌からの CO<sub>2</sub> 総放出量に対して無視できない量の CO<sub>2</sub> を付加的に発生させる可能性がある。本研究では乾燥再湿潤過程と団粒破壊による土壌からの CO<sub>2</sub> 生成の付加について明らかにするため山地森林土壌の培養実験を行い、生成される CO<sub>2</sub> の起源となる有機物の炭素同位体比的特徴を検討した。加えて、分解しやすい有機物は水溶性の溶存有機炭素(DOC)の様態をとると推測し、各処理を施して培養した土壌から DOC を抽出し、その炭素同位体比的特徴を解析した。

## 2. 実験方法

### (1) 土壌の採取と培養

培養実験に使用する森林土壌を愛知県豊田市稲武町にある名古屋大学生命農学研究科附属教育支援センター稲武フィールド内にあるカラマツ (*Larix leptolepis*) 林の 2 箇所で採取した(サイト A: 35°12'N, 137°24' E, 標高 1010 m; サイト B: 35°20'N, 137°57' E, 標高 1200 m)。両サイト共にカラマツは約 50 年前に植林されたもので、それ以前は雑木林であった。地表に堆積したリター(落葉、落枝)の層を除いた表面を深さ 0 として、0-5 cm 深の表層土壌と 25-30 cm 深の深層土壌を採取した。採取日は後述の通りである。採取した土壌は培養開始まで、温度 2℃のインキュベーター内に保管した。培養用試料の調製のため、はじめに採取土壌から礫、無形の土壌有機物以外の細根等をハンドピッキングにて除去した。調製で団粒構造を破壊しないように、土壌試料調製でよく行われるふるい掛け工程を避けた。培養のために土壌を保水容量の 60%の湿潤条件に調整し、乾燥重量で 10 g 相当の土壌をシャーレに入れ、5 個のシャーレ(乾燥土壌 50 g 相当)を棚状に容量 1000 mL の密閉容器内に入れ、容器内を CO<sub>2</sub> フリーの合成空気 で置換した後、密閉して温度 20℃のインキュベーター内に静置した。密閉中は密閉用器内に脱イオン水 20 g を同封し、土壌の乾燥を防いだ。

容器内 CO<sub>2</sub> の濃度差  $\Delta C$  [g-C m<sup>-3</sup>] と密閉時間  $\Delta t$  [s]、容器容積  $V$  [m<sup>3</sup>] および土壌の乾燥質量  $M$  [g-dry soil] より CO<sub>2</sub> 生成率  $S$  [g-C (g-dry soil)<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>] =  $\Delta C \cdot V / \Delta t / M$  を算出した。容器内 CO<sub>2</sub> 濃度が 4000 ppmv を超えた時点で容器内空気を回収して CO<sub>2</sub> を精製し、安定同位体比質量分析計(Finnigan MAT 252, Thermo Fisher Scientific)により  $\delta^{13}\text{C}$  値を測定した。容器内空気回収後は再び CO<sub>2</sub> フリーの合成空気 で容器内を置換し密封、培養した。

### (2) 乾燥再湿潤過程

保水容量の 60%の湿潤条件を維持した土壌試料(以下、Moist 条件)と、乾燥再湿潤過程を繰り返し経験させる試料(以下、Cycle 条件)を準備し、培養した。乾燥再湿潤過程は、インキュベーター内で 5 日間掛けて土壌を保水容量の 10%まで乾燥させた後、脱イオン水を霧吹きして保水容量の 60%まで再湿潤化し、培養容器に 5 日間密閉・培養する処理を繰り返した。

### (3) 団粒破壊

人為的に団粒構造を破壊した土壌試料を調製し、培養を行った。礫、細根等を除去した採取土壌を乳鉢で摺り潰し粉末状とした後、微生物への  $O_2$  の供給経路と  $CO_2$  の放出経路を確保するため、粉末状土壌を攪拌し、再度団粒状の構造を作成して通気性を高めた。これを Moist 条件試料、1 回乾燥再湿潤過程を施した試料 (1 Cycle 条件) と共に培養した。

### (4) DOC の抽出

サイト B にて 2014 年 6 月に採取した表層土壌 (25 cm×25 cm×5cm 厚) を採取し、その日のうちに、団粒を保持した土壌、スパーテルにより団粒を押しつぶして破壊した土壌、および乾燥再湿潤を施した土壌を調製し、一部を  $CO_2$  生成率測定用、残りを DOC 抽出用に分割して培養した。前者は密閉容器 (乾燥土壌 10g 相当×5 入り) を 3 つずつ作成した。乾燥再湿潤試料は 6 日掛けて保水容量の 10% まで乾燥させた後に保水容量の 60% まで再湿潤化して、培養を開始した。培養開始から 0 d、21 d、35 d 目に DOC の抽出を行った。DOC の抽出には予備実験にて抽出物の  $\delta^{13}C$  測定に必要な土壌が乾燥質量で 100 g 程度と見積もられたため、この量の試料を処理可能な吸引濾過法を採用した。孔径 0.45  $\mu m$  のフィルターとステリカップフィルターユニット (SCHVU02RE, MerckMillipore) を用い、乾燥重量 100g の土壌試料に対し、脱イオン水に  $CO_2$  をバブリングすることで pH を 4.8 に調整して雨水を模した抽出水 110 mL を加え、吸引濾過した。濾液を 95°C で乾燥後、残留した有機物を CuO ワイヤと共に石英管に封じ、850°C で 4 h 加熱し燃焼して  $CO_2$  を得た。精製した  $CO_2$  の  $\delta^{13}C$  値を安定同位体比質量分析計 (Finnigan MAT 252, Thermo Fisher Scientific) により測定した。

## 3. 結果と考察

### (1) 乾燥再湿潤と団粒破壊

図 1 は 2012 年 8 月にサイト A で採取した表層土壌 (0-5 cm 深) と深層土壌 (25-30 cm 深) 試料から培養期間中に放出された  $CO_2$  の  $\delta^{13}C$  の経時変化である。横軸は各試料が湿潤条件であった期間の積算日数である。これは、繰り返し乾燥再湿潤を経験した Cycle 条件試料は 5 日間の乾燥期間中には微生物が活動せず有機物分解を行わないと考えられるため、試料が経験する有機物分解可能な期間が常時湿潤であった Moist 条件試料と単純な培養経過時間では揃わないからである。40 d 間の培養期間を通じて、Cycle 条件試料から  $CO_2$  の  $\delta^{13}C$  は -25~-26‰ であり、一方 Moist 条件では -27‰ 後半から前半にわずかに増加した。Cycle 条件の  $\delta^{13}C$  が Moist 条件の  $\delta^{13}C$  を常に上回った。更に培養期間中、Cycle 条件試料の  $CO_2$  生成率は常時湿潤であった Moist 条件試料からの生成率を常に上回った。従って乾燥再湿潤過程により、常時湿潤である条件では分解しない有機物が分解されたことが質、量ともに確認された。

図 1 中の「増加量分」は、Cycle 条件では Moist 条件で分解される有機物は変わらず分解され、追加の有機物が分解したことで  $CO_2$  生成率が上昇したと仮定して、両条件の  $CO_2$  の生成率の差と  $\delta^{13}C$  の差から質量保存により導出される追加の  $CO_2$  の  $\delta^{13}C$  の計算値である。湿潤 5 d 時に比して 15 d 以降はより大きい (重い) -23‰ 程度の  $\delta^{13}C$  を持つ有機物が付加的に分解されたことを示す。

深層土壌についても、生成率が 1 桁小さいものの、Moist 条件と Cycle 条件間の大小関係は生成率、 $\delta^{13}C$  ともに表層土壌と同様の傾向が得られた。「増加量分」の  $\delta^{13}C$  は表層土壌と同様の -23‰ 程度を示した。

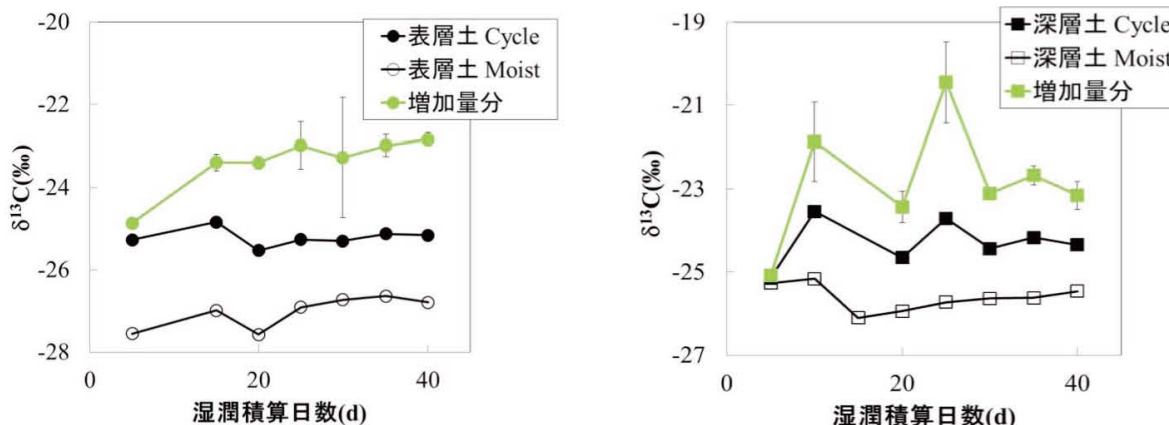


図1 表層土壌（左）および深層土壌（右）から生成した CO<sub>2</sub> の δ<sup>13</sup>C の経時変化。増加量分は Cycle 条件で Moist 条件で付加された CO<sub>2</sub> の δ<sup>13</sup>C 計算値。

Fig. 1 The temporal (accumulated days the samples moistened) variations in δ<sup>13</sup>C of CO<sub>2</sub> generated in the surface soil (left pane) and the deep soil (right) samples. Open symbols correspond to continuously moist condition, solids to cyclic dry-moist condition and shaded symbols to the increments.

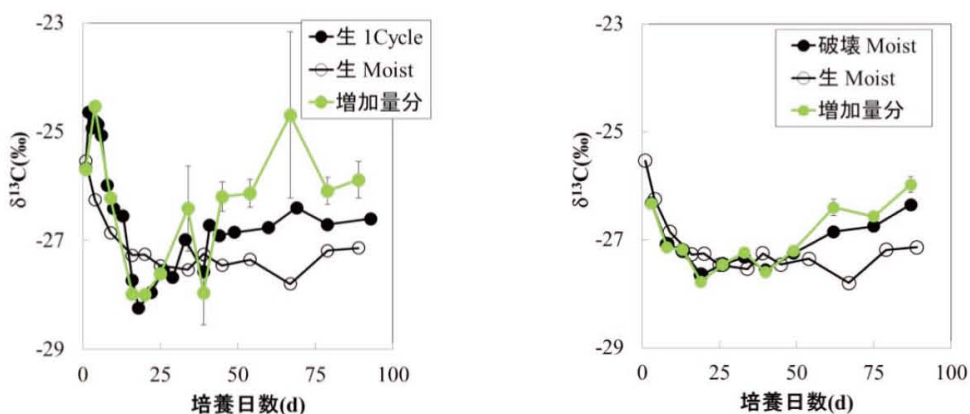


図2 1回乾燥再湿潤して培養した土壌（生 1 Cycle）（左）、すり潰して常時湿潤で培養した土壌（破壊 Moist）（右）から生成した CO<sub>2</sub> の δ<sup>13</sup>C の経時変化。増加量分は未破壊未乾燥（生 Moist）に対し付加された CO<sub>2</sub> の δ<sup>13</sup>C 計算値。

Fig. 2 The temporal variations in δ<sup>13</sup>C of CO<sub>2</sub> generated in the dried and re-moistened soil (solid circle, left pane) and the mortar-ground soil (solid circle, right pane) samples. Open circles are of not-dried not-ground and continuously moistened soil, and shaded circles of corresponding increments.

2012年11月にサイトBにて採取した表層土壌を用いて、1回乾燥再湿潤過程を施しそのまま保水容量の60%を維持・培養した土壌（図中の生 1 Cycle）、すり潰して団粒を物理的に破壊して常時湿潤条件で培養した土壌（同、破壊 Moist）から生成される CO<sub>2</sub> の δ<sup>13</sup>C を、何も処理を施さず常時湿潤条件で培養した試料（同、生 Moist）と比較した。図2に培養期間中に生成された CO<sub>2</sub> の δ<sup>13</sup>C の経時変化を示す。乾燥再湿潤試料、物理破壊試料とも、処理無し試料に比して培養50dあたりまでは同様の経時変化を示し、50d以降、処理無し試料よりも δ<sup>13</sup>C の大きい（重い）-27‰程度の CO<sub>2</sub>

を生成するようになった。50 d以降の増加量分は両条件とも $-26\%$ の $\delta^{13}\text{C}$ と計算された。従って、乾燥再湿潤、物理破壊共に、生成される $\text{CO}_2$ 、即ちその生成の基質となった有機物は同じ炭素同位体比組成を持ち、分解のされやすさも同様であると言える。乾燥再湿潤過程が団粒を物理的に破壊するという仮説を支持する結果が得られた。

## (2) 抽出 DOC

図3に未乾燥未破壊の土壤（図中の非破壊）、乾燥再湿潤過程を1回施した試料（同、乾燥再湿潤）および団粒を押し潰した試料（同、破壊）から抽出されたDOCの $\delta^{13}\text{C}$ 値の培養期間中の経時変化を示す。乾燥再湿潤で付加的に抽出されると考えられるDOCの $\delta^{13}\text{C}$ は $-24\%$ から $-26\%$ 程度まで減少し、しかし期間を通じて非破壊試料よりも $4\sim 2\%$ 大きかった。この大小関係の傾向は生成される $\text{CO}_2$ と同様であった。付加的に分解され生成された $\text{CO}_2$ と付加的なDOCには関連があることが示唆される。しかし非破壊、乾燥再湿潤ともに $\text{CO}_2$ とDOCの $\delta^{13}\text{C}$ は一致せず、非破壊ではDOCの方が小さく乾燥再湿潤では逆に大きかった。従って本研究の方法で抽出されたDOCが生成される $\text{CO}_2$ の原料となる有機物のすべてではない。

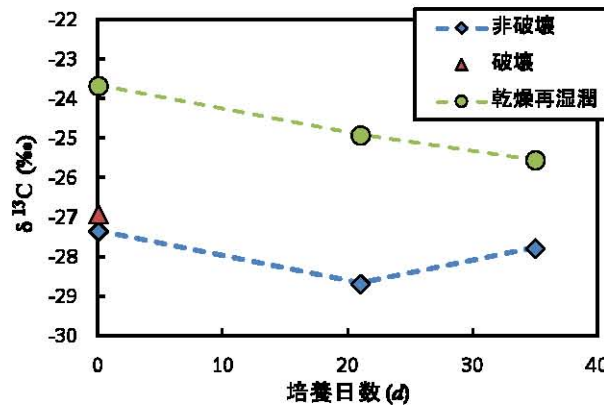


図3 1回乾燥再湿潤して培養した土壤、押し潰して常時湿潤で培養した土壤、未破壊未乾燥試料（非破壊）から抽出したDOCの $\delta^{13}\text{C}$ の経時変化。

Fig. 3 The temporal variations in  $\delta^{13}\text{C}$  of DOC extracted from the dried and re-moistened soil (circles), the crushed soil (triangles) and the not-dried not-ground and continuously moistened soil (diamonds) samples.

## 4. 結論

山地森林土壤の培養実験により、乾燥再湿潤過程によって土壤の $\text{CO}_2$ 生成率が増加した。この増加分は付加的に分解された有機物に由来すると仮定すると、その安定炭素同位体比 $\delta^{13}\text{C}$ は表層土壤、深層土壤とも $-23\%$ 程度を示し、常時湿潤な条件下で分解される有機物よりも $2\sim 4\%$ 大きかった。物理的な団粒構造を破壊した土壤と1回乾燥再湿潤過程を経た土壤から放出される $\text{CO}_2$ の $\delta^{13}\text{C}$ はその値及び経時変化が類似し、乾燥再湿潤が団粒を物理的に破壊する仮説を支持した。乾燥再湿潤過程を経た土壤から抽出されるDOCの $\delta^{13}\text{C}$ は未破壊未乾燥土壤のDOCに比べて大きく、付加的に分解される有機物にDOCが寄与することが示唆された。しかしDOCと生成した $\text{CO}_2$ の $\delta^{13}\text{C}$ は一致しなかったため、本研究の方法により抽出されるDOCが付加的に分解される有機物のすべてではないことが示された。

団粒により物理的に保護される有機物の保持時間が数100年、数1000年オーダーである場合、

団粒破壊あるいは乾燥再湿潤が森林土壌の炭素貯留能力の低下、すなわち CO<sub>2</sub> 放出量の増加を引き起こし、気候変動に寄与するかどうか、付加的に分解される有機物の <sup>14</sup>C 年代測定を行うことでより明確になると期待される。

## 謝辞

本研究では炭素同位体比測定のために名古屋大学年代測定総合研究センターの中村俊夫教授、池田晃子様にも多大な御協力を頂きました。土壌試料採取では名古屋大学生命農学研究科附属フィールド科学教育研究センター稲武フィールドを利用致しました。同フィールドの高部直紀様、山口法雄様には土壌採取・観測サイトの選定・維持管理にたいへん御助力を頂きました。深く御礼申し上げます。

## 引用文献

- Intergovernmental Panel on Climate Change, "Climate Change 2013: the Physical Science Basis, Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the IPCC." Cambridge University Press (2013).
- Birch, H.F., "The effect of soil drying on humus decomposition and nitrogen availability." *Plant and Soil*, **10** (1) 9–31 (1958).
- Edwards, A. P., and Bremner, J. M., "Microaggregates in soils." *Soil Science*, **18**, 64–7 (1967).
- Jenkinson, D. S., and Rayner, J.H., "The turnover soil organic matter in some of the Rothamsted classical experiments.", *Soil Science*, **123**, 298–305 (1997).
- van Gestel, M., Merckx, R., and Vlassak K., "Microbial biomass responses to soil drying and rewetting: the fate of fast-and slow-growing microorganisms in soils from different climates.", *Soil Biology and Biochemistry*, **25** (1), 109–123 (1993).
- Denef, K., Six, J., Bossuyt, H., Frey, S. D., Elliott, E. T., and Paustian, K., "Influence of dry–wet cycles on the interrelationship between aggregate, particulate organic matter, and microbial community dynamics.", *Soil Biology and Biochemistry*, **33**, 1599–1611 (2001).

## 日本語要旨

カラマツ(*Larix leptolepis*)林土壌の 20°Cでの 40 時間の培養実験により、乾燥再湿潤過程によって土壌の CO<sub>2</sub> 生成率が増加した。この増加分は付加的に分解された有機物に由来すると仮定すると、その安定炭素同位体比  $\delta^{13}\text{C}$  は表層土壌、深層土壌とも -23‰程度を示し、常時湿潤な条件下で分解される有機物よりも 2~4‰大きかった。物理的な団粒構造の破壊と乾燥再湿潤過程は生成される CO<sub>2</sub> の  $\delta^{13}\text{C}$  に同様の効果を及ぼした。乾燥再湿潤過程を経ると土壌から抽出される DOC はより大きな  $\delta^{13}\text{C}$  を持ち、CO<sub>2</sub> 生成率の増加への寄与が示唆されたが、CO<sub>2</sub> の増加分すべてを供給しなかった。