

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 6月 5日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011 ～ 2012

課題番号：23651012

研究課題名（和文）

気候変化は樹木の季節成長にどう影響するか一年輪酸素同位体比の精密測定による解析

研究課題名（英文）

How does climate change affect seasonal tree growth pattern? - Analyses by precise measurement of tree-ring oxygen isotope ratio

研究代表者

中塚 武 (NAKATSUKA TAKESHI)

名古屋大学・環境学研究科・教授

研究者番号：60242880

研究成果の概要（和文）：樹木年輪セルロースの酸素同位体比の季節・経年変動を詳細に測定して、相対湿度などの気象観測データと比較することで、各年層の中に季節の時計を刻み、樹木の肥大成長量の季節変化を明らかにする手法を開発することに成功した。その手法を、気候変化に対する樹木の季節成長パターンの変動の解析に応用することを試みたが、個体間でのバラつきが大きく、今後より大規模に多数の樹木を用いて検討していく必要性が明らかになった。

研究成果の概要（英文）：I have successfully developed a method to recognize seasonal time makers in annual tree rings and clarify seasonal growth pattern of trees by comparison between precise variations in cellulose oxygen isotope ratios and meteorological data such as relative humidity. Tentative applications of this method to analyze seasonal tree growth pattern against climate change have told me that much more data are necessary to make some conclusion because of large variability of growth pattern between tree individuals.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・環境動態解析

キーワード：地球温暖化、植生応答

## 1. 研究開始当初の背景

温帯や亜寒帯で成長する樹木には、普遍的に年輪が形成される。この年輪の間隔、即ち年輪幅は、その樹木がその年に、どのくらい肥大成長したか、つまりは、どのくらい光合成産物を生成できたかの記録である。それ故、森林内の多数の樹木の年輪幅の変動パターンから、樹木の成長の履歴を復元して、森林の形成・発達史を編む研究が、温帯林や亜寒帯林において、広く行われてきた。

こうした研究には、原理的に2つの制約があった。第1の制約は、明らかにできる樹木の成長の記録が、1年単位に限られることである。実際には、樹木は春から秋まで様々な

季節に成長を続けており、森林の発達に伴って、或いは気候変動に伴って、そうした樹木の季節成長のパターンがどのように変わるのかは、従来の方法では分らなかった。例えば、温暖化に伴う雪解けの早期化が、亜寒帯林で夏の乾燥化をもたらし、夏季における樹木の成長を阻害する要因になっている可能性があるが、年輪幅の変化だけからでは、そうした季節成長パターンの変化までは、解析できなかった。第2の制約は、年輪が形成されない亜熱帯や熱帯の樹木では、年輪幅を使った成長の履歴の解析ができないことである。年輪が無いことは、年輪幅を用いた成長の履歴の復元ができないだけでなく、樹齢を

数えることも不可能であり、熱帯や亜熱帯の森林生態学の発展にとって、著しい阻害要因となってきた。

近年、こうした本質的な問題を、抜本的に解決できる画期的な方法が、研究代表者らの先駆的な研究によって、もたらされてきた。それは、年輪（木材）に含まれるセルロースの酸素同位体比の精密分析である。

年輪セルロースの酸素同位体比の変動は、その元となる光合成産物が、葉内で生成された時の葉内水の酸素同位体比の変動によって、主に規定される。そして、葉内水の酸素同位体比は、降水（水蒸気）の酸素同位体比と相対湿度によって決まることが分かっている。研究代表者らは、この関係を利用して、年輪の酸素同位体比を測定することにより、過去数千年間に及ぶ日本とアジアの夏季（即ち樹木が光合成をする時期）の水循環（降水量など）の変動を、年単位で復元する気候変動の解析の研究を進めているが、一方でこの方法が、全く別の目的に応用できることに気が付いた。

それは、セルロースの酸素同位体比を、年単位、即ち、年層の1つ1つに対して測定するのではなく、年層を更に細かく数10枚にスライスした薄片に対して測定することで、年層の中に刻み込まれた相対湿度の時間変化などの「気候の季節変動」の記録を読み出すことが可能になることである。それは、過去の任意の年代の気候変動を、年単位ではなく、月単位・週単位で復元できるという気候学的な意味もあるが、逆に、気象観測データが既に得られている最近の年代に成長した樹木に応用することで、上記の2つの生態学的な「制約」を完全に突破できることを意味している。

第2の制約、即ち、年輪が無い（不明瞭な）ことで、成長の履歴解析はもとより、樹齢を数えることもできなかった亜熱帯・熱帯の樹木に対して、この方法を応用することで、まず、乾季と雨季のハッキリとした地域の樹木であれば、酸素同位体比の周期的変動という、新しい年輪を確認することができ、温帯や亜寒帯の森林と同じ解析手法が、熱帯・亜熱帯でも実行可能になる。乾季と雨季のハッキリしていない地域でも、気象観測データがあれば、その中の、特に相対湿度との対比から、木材の放射方向への酸素同位体比の変動を、定量的に時間軸に変換することができるため、年輪と同様の情報を収集することが可能になる。

この方法は、実は、そのまま、第1の制約、即ち、これまでは亜寒帯・温帯でも不可能であった、樹木成長の季節変動パターンの解析が、可能になることを意味している。まず、気象観測データに表れた相対湿度などの詳細な変動パターンを、各年の年層内で細かく

測定されたセルロース酸素同位体比の放射方向への変動パターンと詳細に比較して、パターンマッチングすることにより、木材の中に季節のタイムマーカを刻むことが可能になる。そして、そのタイムマーカ間の木部成長の幅を測定することで、成長の履歴を季節変化のレベルでも、議論することができる。この手法は、亜寒帯、温帯などの年輪の明瞭な樹木に対してだけではなく、亜熱帯、熱帯などの年輪を持たない樹木にも応用可能であることが推察された。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、上述したような研究状況の中にあつて、「年輪セルロースの酸素同位体比を、年層単位だけではなく、年層内を数枚から数10枚にスライスした季節変化のレベルでも細かく測定する」、という手法を、広く生態学的に応用して認知度を高めていくために、第1に、亜熱帯や熱帯における年輪の無い樹木に、新しい年輪を刻む方法として、この方法を確立すること、第2に、セルロース酸素同位体比の季節変動と、現地で観測された気象の時系列データとの対比（パターンマッチング）から、樹木成長の季節変動を復元する方法を確立すること、第3に、その季節変動パターンが、地球温暖化などの気候変化に伴って、どのように変化するかを明らかにすること、を目的とした。

それぞれが、極めて大きな目標であるが、第1、第2（特に、第2）の目的による研究の進展なくしては、第3の成果は得られないので、順番に研究を進めることとした。

## 3. 研究の方法

本研究を進める上での方法論上の最大の課題は、第1に、いかに多くの特徴ある樹木年輪サンプルを、亜寒帯から熱帯までの各地から収集できるか、と言うことであり、第2には、そうした膨大な数の年輪サンプルから、酸素同位体比の季節変動のデータを、いかに効率よく測定することができるか、と言う点にあった。

第1の課題は、研究代表者一人では、とても有効に達成できない課題であったので、自らの研究室でも様々なフィールドに出かけるのみならず、日本中の多くの生態学・木材学などの専門家と協働して、試料の収集を進めた。

具体的には、熱帯では、インドネシア・ジャワ島の広葉樹、マレーシア・マレー半島の広葉樹、亜熱帯では、ラオス中部の植林地の広葉樹（ユーカリ）、ラオス北部の焼畑2次林のさまざまな広葉樹、中国南部・福建省の針葉樹、沖縄の針葉樹（リュウキュウマツ）、小笠原の針葉樹と広葉樹、温帯では、長野県と宮崎県の針葉樹（カラマツ）、亜寒帯では、

北海道の針葉樹（カラマツ、トドマツ）、広葉樹（ミズナラ、ダケカンバ）などの試料を、研究室のメンバー及び、全国の研究者と共に収集して、研究対象とした。

第2の酸素同位体比の分析手法の効率化は、極めて重大な問題である。何故なら、従来は年層1つに対して1回の測定を行っていたのに対して、本研究では、年層1つから、何10枚もの薄片を、マイクロトームなどを用いてスライスして、そこからセルロースを抽出し、その酸素同位体比を測定せねばならないからである。分析の手間は、何10倍にも増大するため、何らかの技術革新が無ければ、本研究は、「絵に描いた餅」になる可能性があった。

本研究では、年層内の酸素同位体比の季節変動分析を進めるに当たり、2つの画期的な方法論上の革新を行った。

第1の方法論上の進歩は、「板ごとセルロース抽出法」の開発である。これは年層レベルの分析において、最も大きな効力を発揮できる方法であるが、年層内季節変動分析にも応用可能である。具体的には、従来の木材からのセルロース抽出法が、「木材試料を、予め、“年層”もしくは“年層から切り出した季節断面の薄片”ごとにバラバラにして、更に粉末化などを行ってから、多段階の化学処理（有機溶媒による脂質除去、亜塩素酸ナトリウム溶液によるリグニン分解、水酸化ナトリウム溶液によるリグニン残渣とヘミセルロースの除去）をして、セルロース抽出を行っていた」のに対して、「年輪円盤もしくはコア試料の全体を、木口面に平行な幅1cm程度、厚さ1mmの薄板に、スライスして、その薄板をそのまま試験管に入れて、化学処理を行い、板のままセルロース化してしまう」という方法である。

この「板ごとセルロース抽出法」によって、第一に、化学処理を行う必要のある「サンプルの数」が、数10～数100分の1に激減した。第二に、粉末ではなく固形の板であるため、化学処理の最中に、繰り返し反応溶液や洗浄液を取り替える際に、サンプルのろ過や遠心分離を行う必要が無く、作業が著しく効率化した。第三に、試料が年輪の形を保った板のままセルロースになるため、実験中の試料のロスや不純物の混入などの危険性が排除できる（不純物があっても、反応終了および乾燥後に、顕微鏡下で確認して除去可能である）。第四に、セルロースになった板は、繊維の塊であり、非常に柔らかいため、年層境界などに沿った試料の分離が、木材そのものときよりも、遥かに正確かつ容易に行える。こうした一石多鳥の効果があったのが、この「板ごとセルロース抽出法」の特徴である。

季節変動の分析においても、この板ごとセ

ルロース抽出を、概ね、成功裏に行うことができたが、この方法を年輪幅の狭い試料に応用していく際には、唯一の副作用があった。それは、セルロース抽出（リグニンなどの除去）を行って、乾燥させた段階で、試料が、リグニンなどが無くなったことにより、少し収縮し変形してしまうことである。年層レベルの分析であれば、年層境界が、細胞サイズの大小から顕微鏡下で明確に認定できるのに対し、年層内の季節変化の分析においては、こうした試料の変形は、季節レベルでの“同時断面”が、試料の中でどのような曲線になってしまうか分からない、と言う意味で、かなりの困難を生み出す。

そこで考え出したのが、第2の方法論上の革新（実際には、発想の転換）である。従来、年層内の季節変動分析を行う場合は、木材をマイクロトームで板目面、即ち年輪境界に平行な面（同時断面に相当すると期待できる面）に沿って、厚さ20 $\mu$ m程度の薄片に切り出し、そこから1つ1つセルロースの抽出作業を行っていた。その場合、膨大な数のサンプルを処理せねばならないという、大きな欠点があった。ここで行った発想の転換とは、「セルロース抽出を止めた」ことである。

年輪酸素同位体比の分析において、セルロースを用いる最大の理由は、その分子構造が強固かつ単純であり、一旦、セルロースが合成されたら、周囲の水などとは、一切、酸素原子の交換は行わない、という情報の保存性にあった。他の木材主要成分であるリグニンは、若干の交換性の酸素を含むため、分析にはあまり適していない。また、セルロースは、リグニンよりも、10%近くも酸素同位体比が高いため、リグニンとセルロースが混合した状態で分析を行うと、リグニン：セルロース比の変化と言う、純粋に生化学的な問題で、気候の経年・季節変化とはかかわりなく、見かけの酸素同位体比が変動してしまう恐れがあった。一般に、年輪酸素同位体比の経年変化の分析では、2, 3%以下の変動を議論することが多いので、同位体比が全く異なるリグニンとセルロースを一緒に測ることの影響は大きいと考えられる。

しかし、酸素同位体比の季節変化は、その経年変化よりも、一般に遥かに大きい（数倍はある）ため、季節変化の分析に限って言えば、そして、定量的にセルロース酸素同位体比を求めるのが目的ではなくて、その変動パターンを把握することだけが目的となっている本研究に限って言えば、マイクロトームで切り出した薄片から、セルロースを抽出する必要は必ずしも無く、薄板（木材）をそのまま分析することで、十分なデータが得られることが期待できた。

上記の方法論上の革新は、研究期間の全体を通じて、1つ1つ段階を踏んで、その問題

点と成果を確認しながら、行ったが、最終的には、次のような分析法を用いるに至っている。

まず年輪円盤試料は、年輪境界ができるだけ平面に近い部分を狙って、放射方向に棒状に切り出し、年輪コア試料の場合と共に、年輪境界（年輪の無い熱帯・亜熱帯材の場合は、何らかの木材の内部の構造上、色彩上の境界面）に平行に薄片が切り出せるように、マイクロトームにセットする。その上で、年輪がある試料の場合は、年輪面との関係を記録しながら、試料を20 $\mu$ m幅で順番に薄片にしていく。年輪幅（年輪の無い試料の場合は、推定できる年成長幅）が厚い試料の場合は、20 $\mu$ m幅の薄板の全てを分析する必要は全く無く、10枚（0.1mm）或いは50枚（1mm）に1枚程度の割合で分析すればよいが、その「割合」の判断は、年輪幅及び、酸素同位体比と対比すべき、気象観測データの変動性を考慮して決める必要がある。マイクロトームで切り出して、測定のために選別された薄片試料は、重さが100-300 $\mu$ gになるようにカットして、銀箔に包み、ThermoFisher Scientific社のTCEA-Delta Vを用いて、その酸素同位体比の測定を行った。酸素同位体比を計算するために、8個のサンプルを測定する度に、1個のスタンダード物質（Merck社の結晶セルロース）を測定しているが、サンプルとスタンダードを合わせて、1日で200個の測定が可能な状況になっており、何とか、本研究の目的である木材セルロースの酸素同位体比の季節変動パターンの解析に利用するだけの測定効率は、達成できたと言える。

#### 4. 研究成果

乾季と雨季がはっきりしているラオスの中部・北部で得られた、年輪の無い広葉樹のセルロース（木材）酸素同位体比の変動パターンは、現地付近で観測された気象データ（特に1年で1周期を刻む相対湿度）の変動パターンと、きわめて良い一致を示し、年輪の無い試料でも、酸素同位体比を測定することで、木材の中に年層を刻むことができること（第1の研究目的）が確認できた。

ラオス中部の研究で用いたユーカリは、成長速度の速い早成樹であり、年輪幅が数cmにも達することから、酸素同位体比の変動パターンを、極めて詳細に取得することができる。一方、気象観測データにも、細かい季節内変動までが記録されているため、両者の対応を日・週単位で検討することができた。その結果、ユーカリは、主に雨季に成長するものの、乾季にも成長をしており、その結果、年輪が形成できない状況にあることなどが分かった。

このように、木材の酸素同位体比の放射方向への変動の精密分析によって、樹木の季節成長の履歴を詳細に読み出すことが可能で

あること（第2の研究目的）が確認できた。この第2の研究目的に関する同様の結果は、インドネシア・ジャワ島の広葉樹や、中国・福建省の針葉樹、沖縄や小笠原の針葉樹・広葉樹、北海道や長野のカラマツなどでも確認できている。

また、薄片からセルロースを抽出せず、そのまま酸素同位体比を測定する方法が有効であること、即ち、酸素同位体比の変動パターンが、セルロースと木材バルクの間で、ほぼ一致しており、季節変動解析には、両者がほぼ等価な情報を有していることは、ラオス中部のユーカリや沖縄の針葉樹（リュウキュウマツ）などを用いて確認することができた。今後、この新しい方法（発想を変えた方法）を使うことで、年輪酸素同位体比の季節変動の解析が、一気に進むものと期待できる。

長野県のカラマツを用いた研究では、特に、信州大学農学部安江研究室による調査により、季節成長の履歴が、直接コアサンプリングにより長年に亘って把握されている複数の樹木個体に対して、本方法を適用した結果、葉内水で相対湿度の変化を記録した光合成産物の酸素同位体比が、幹における木部形成に使われるまでに、2、3週間のタイムラグがあることなどが、新たに確認できた。本方法は、樹木生理学の長年の課題である「光合成産物の樹木体内での分配のメカニズム」の解明に資する方法論でもあることが、確認できた。

本研究の第3の目的（研究テーマの主題でもある）については、残念ながら、試料数の制約から、現時点では、必ずしもクリアな結果を導くことはできていない。樹木成長の経年・季節変動のパターンは、一般に、森林内での光を巡る隣接他個体との競争などの局所的な個体生態学的因子によって、大きく支配されるが、気候変動に対する樹木成長の季節変動パターンの変化を、正確に理解するためには、本研究で得られた方法論を、同一の林分から得られた、より多くの樹木個体に対して応用して、統計的に有意な数のデータを取得していく必要がある。本研究の中で作成した、さまざまな方法論上の革新は、そうした本格的な研究の展開にとって、不可欠な方法を提供することができると思われる。本研究で得られた数々の手法を利用して、多くの生態学・木材学の研究者の手で、今後、大きく研究が発展することが期待できる。

#### 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計6件）

- ① Li, Q., T. Nakatsuka, K. Kawamura, Y. Liu and H. Song (2011) : Regional

- hydroclimate and precipitation  $\delta^{18}\text{O}$  revealed in tree-ring cellulose  $\delta^{18}\text{O}$  from different tree species in semi-arid Northern China. *Chemical Geology*, 査読有, 282, 19-28. DOI: 10.1016/j.chemgeo.2011.01.004
- ② Xu, C., M. Sano, T. Nakatsuka (2011) : Tree-ring cellulose  $\delta^{18}\text{O}$  of *Fokienia hodginsii* in Northern Laos: a promising proxy to reconstruct ENSO?, *Journal of Geophysical Research*, 査読有, 116, D24109, doi:10.1029/2011JD016694.
- ③ Li, Q., T. Nakatsuka, K. Kawamura, Y. Liu, H. Song (2011) Hydroclimate variability in the North China Plain and its link with El Niño-Southern Oscillation since 1784 A.D. Insights from tree-ring cellulose  $\delta^{18}\text{O}$ . *Journal of Geophysical Research*, 査読有, 116, D22106, doi:10.1029/2011JD015987.
- ④ Sano, M., C. Xu and T. Nakatsuka (2012) : A 300-year Vietnam hydroclimate and ENSO variability record reconstructed from tree-ring  $\delta^{18}\text{O}$ , *Journal of Geophysical Research*, 査読有, 117, D12115, doi:10.1029/2012JD017749.
- ⑤ Cook, E. R., P. J. Krusic, K. J. Anchukaitis, B. M. Buckley, T. Nakatsuka, M. Sano and PAGES Asia2k Members (2012) Tree-ring reconstructed summer temperature anomalies for temperate East Asia since 800 C.E. *Climate Dynamics*, 査読有, 39, 10.1007/s00382-012-1611-x
- ⑥ Watanabe, Y., S. Tamura, T. Nakatsuka, S. Tazuru, J. Sugiyama, B. Subiyanto, T. Tsuda, and T. Tagami (2013) : Comparison of Sungkai Tree-Ring Components and Meteorological Data from Western Java, Indonesia. *Journal of Disaster Research*, 査読有, 8, 95-102
- 日本生態学会第 60 回大会, 静岡, 平成 25 年 3 月 6 日
- ③ 桐山貴衣, 松尾奈緒子, 高梨 聡, 小杉 緑子, 中塚 武「酸素安定同位体比分析に基づく熱帯樹木の高解像度年輪指標の構築」日本生態学会第 60 回大会, 静岡, 平成 25 年 3 月 6 日
- ④ Xu, C, M. Sano, T. Nakatsuka, K. Yoshimura “Measuring annual growth for tropical trees without distinct annual rings using oxygen isotopes” The 3rd International Asian Dendro-chronological Conference, Tehran, Iran, 2013 年 4 月 11 日

[図書] (計 2 件)

- ① 中塚 武 (2012) : 気候変動と歴史学. 「環境の日本史 ① 日本史と環境-人と自然」(平川南編) 吉川弘文館, p. 38-70.
- ② 中塚 武 (2013) : 樹木年輪セルロースの酸素同位体比による気候変動の復元. 「現代の生態学⑩ 地球環境変動の生態学」(原登志彦編) 共立出版 (印刷中)

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

中塚 武 (NAKATSUK TAKESHI)

名古屋大学大学院環境学研究科・教授

研究者番号 : 60242880

##### (2) 研究分担者

無し

##### (3) 連携研究者

無し

[学会発表] (計 4 件)

- ① 岡本祥子, 佐野雅規, 中塚 武, 河村公隆「年輪を形成しない熱帯樹木の酸素同位体比を用いた月・季節レベルでの気候復元の可能性」日本地球惑星連合大会 2011 年大会, 千葉, 平成 23 年 5 月 27 日
- ② 飯島 友, 庄建治朗, 中塚 武「リュウキュウマツの年輪を用いた亜熱帯域の環境復元—酸素安定同位体比の分析から—」