HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	安定同位体を用いた森林生態系における炭素循環の解明
Author(s)	村山, 昌平
Citation	低温科学, 77, 27-39
Issue Date	2019-03-20
DOI	10.14943/lowtemsci.77.27
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/73990
Type	bulletin (article)
File Information	06_p027-039.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

低温科学 77 （2019） 27-39
doi: 10.14943/lowtemsci. 77. 27

安定同位体を用いた森林生態系における炭素循環の解明

村山　昌平[1)]

2018 年 12 月 8 日受付，2018 年 12 月 29 日受理

安定同位体比の測定は，森林生態系の炭素循環の解明，特に各炭素フローの分離評価に有効である．本稿では，質量分析計を用いた安定同位体比測定と森林生態系における二酸化炭素（CO_2）の安定同位体比の変動プロセスの概要を述べる．酸素同位体比を利用した夜間の生態系呼吸を土壌呼吸と葉呼吸に分離する研究例を紹介し，さらに最新のレーザー分光法による CO_2の炭素同位体比の連続観測に基づく炭素フロー分離評価の例を示す．

Understanding of carbon cycling in a forest ecosystem using stable isotope measurements

Shohei Murayama[1]

Stable isotope measurements are very useful in obtaining a greater insight into the cycling of carbon in forest ecosystems, especially in the attribution of the net carbon flux into various gross fluxes. In this article, a brief description of stable isotope measurements using a mass spectrometer is given, along with processes that give rise to variations in the stable isotopic ratios of carbon dioxide (CO_2) in a forest ecosystem. Also included in the discussion are various studies highlighting the separation of nocturnal ecosystem respiration into soil and leaf respirations using oxygen isotopes, as well as separating out various gross carbon fluxes based on continuous stable isotope measurements of CO_2 using a recent laser spectroscopy.

キーワード：安定同位体比，森林生態系，炭素循環
Stable isotope, Forest ecosystem, Carbon cycle

1．はじめに

大気と森林をはじめとする陸上生態系との間では，エネルギーおよび水蒸気や二酸化炭素（CO_2）等の大気成分の交換が行われている．植物は光合成により大気から CO_2 を体内に取り込み，呼吸により CO_2 を大気へ放出し，前者が後者を上回る場合，両者の差が植物の生長になる．大気－陸上生態系間の CO_2 交換は，生物活動の変動に対応して日内変動や季節変動等を示す．例えば，晴天の日中には活発な光合成により CO_2 が正味で生態系に吸収され，夜間には呼吸活動により大気へ放出される日内変動を示す．また，光合成による CO_2 吸収が呼吸による放出を凌駕する植物の生長季の晩春～初秋には正味で生態系に吸収され，呼吸による放出が光合成による吸収を凌駕する晩秋～初春には正味で大気へ放出される季節変動を示す．さらに，植物の生長により生態系の群落構造は変化し，また生態系を構成する植物も変化していくと，それに伴ってエネルギーおよび大気成分の大気と

連絡先
村山　昌平
国立研究開発法人産業技術総合研究所　環境管理研究部門
〒305-8569　茨城県つくば市小野川 16-1　産総研つくば西事業所
e-mail：s.murayama@aist.go.jp

1）国立研究開発法人産業技術総合研究所　環境管理研究部門
Environmental Management Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Tsukuba, Japan

の交換も変化する．例えば，伐採や火災等の撹乱のあった森林生態系では，撹乱後のしばらくの期間は，森林が再生し植物が生長し始めても，土壌中に蓄積された有機物の分解等により，正味の CO_2 放出を示す．その後，正味の吸収に転じる頃から，吸収量は増大し森林生態系のバイオマスは急増していくが，やがてピークを迎え，森林の老齢化に伴い，吸収速度は減少していく（例えば，Amiro et al,. 2006）．同様に，森林の農耕地化や気候変動等に伴う植生の変化も，生態系の炭素循環や大気－生態系間のエネルギーや大気成分の交換に大きな変化をもたらすであろう．このように，大気と陸上生態系は炭素循環を通して相互に作用し，陸上生態系の炭素循環は，大気－陸上生態系間のエネルギー，水収支等と相互に影響を及ぼし合っている．このため，陸上生態系の炭素循環の理解は，大気－陸上生態系間の相互作用の変動メカニズムを理解するための重要な課題の一つである．

一方，産業革命以降，人為起源の CO_2 をはじめとする温室効果気体が大気中に大量放出され，大気中濃度は急速に増加しているが，気候変動に関する政府間パネル（IPCC）の第 5 次報告書（AR5）では，その結果，地球のエネルギー収支の変化をもたらし，気候システムに影響を及ぼしていることが明瞭であると指摘している（IPCC, 2013）．近年，北半球中高緯度において，大気中 CO_2 濃度の季節変動の振幅増大が検出され，その原因として地球温暖化や CO_2 濃度増加に伴う陸上植物の光合成・呼吸活動の活発化が指摘されているが，従来の気候－生態系モデルではその現象を再現できていない（Graven et al,. 2013）．図 1 に複数の地球システムモデルにより予測された，異なる代表的濃度経路シナリオ（RCP）に対する 21 世紀末までの海洋（ocean）および陸上生態系（land）による積算炭素吸収量の時系列を示す（IPCC, 2013）．図より海洋に比べて陸上生態系による吸収量の推定の不確定性が非常に大きい．この不確定性が，喫緊の課題である CO_2 濃度の将来予測の高精度化や植林等による効果的な CO_2 削減技術の策定の障害となっている．陸上生態系の吸収量予測の不確定性が大きい主な原因は，大気中 CO_2 濃度の増加に伴い陸上植物の光合成による吸収が活発化する施肥効果や現在の寒冷地の植生の変化により CO_2 の吸収量が増大するとともに，気温や地温の上昇に伴い陸上植物の呼吸や有機物の分解が活発化することにより CO_2 の放出量が増大するため，両者の効果の程度により陸上生態系による正味の吸収量が決定されるが，気候変動や CO_2 濃度の上昇に対する両者の応答は異なっており，それらの理解が不十分なためである．これらの問題を解決するためには，微気象学的なフラックス観測で得られる正味の CO_2 交換（NEE）を，環境応答性が異なる光合成による CO_2 吸収（総一次生産：GPP）と土壌を含む呼吸による放出（生態系呼吸：R_{ec}）に，さらに土壌呼吸と地上部呼吸等の各炭素フローに分離し，それぞれについて環境要因との関係を明らかにする必要がある．

森林生態系においては，1990 年代以降，微気象学方法による NEE の観測が行えるようになり，観測網が展開されている．観測で得られる NEE を R_{ec} と GPP に分離

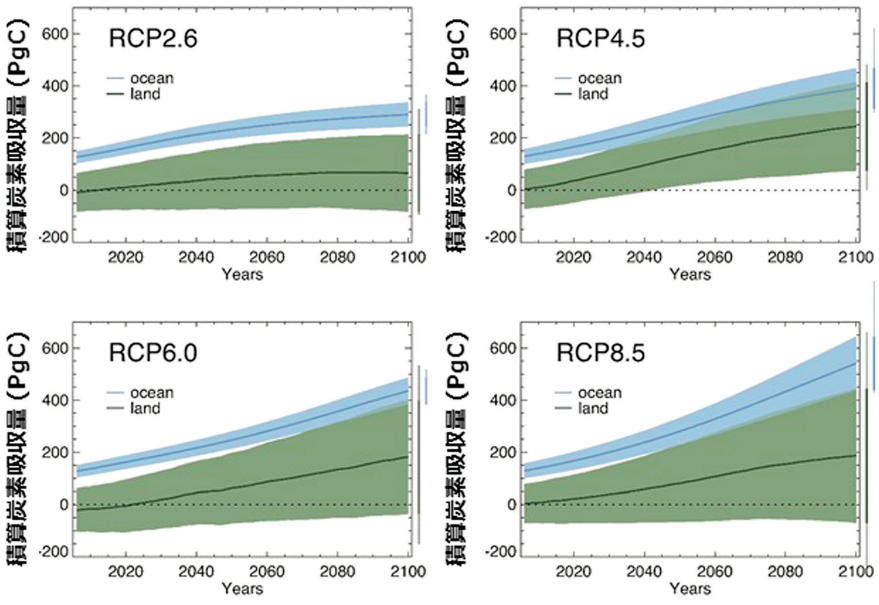

図 1：複数の地球システムモデルにより予測された異なる代表的濃度経路シナリオ（RCP）に対する 21 世紀末までの海洋（ocean）および陸上生態系（land）による積算炭素吸収量の時系列（IPCC, 2013 を元に改編）．

する方法としては，光合成が行われない夜間で乱流輸送が活発な期間に測定されたNEEをR_{ec}と等しいと仮定し，R_{ec}を温度の関数で近似して推定し，日中もR_{ec}は同様の関数で表されるとして仮定して

$$NEE = R_{ec} - GPP \quad (1)$$

によりGPPを推定していることが多い．しかし，上述の仮定にはさまざまな問題点が指摘されており，R_{ec}の近似式についても大きな誤差を伴う（例えば，Reichstein et al,. 2005）．R_{ec}の土壌呼吸と地上部呼吸への分離については，地表や葉等に設置したチャンバーを用いて呼吸速度を求め，気温，地温，土壌水分等の環境要因との関係から経験式を作成して推定する方法があるが，空間的な不均一性を考慮する必要がある．

炭素フローの分離評価に関しては，上述の手法以外に，安定同位体比測定を利用した手法も用いられている．CO_2の場合，安定同位体比として$^{13}C/^{12}C$，$^{18}O/^{16}O$が主に用いられる．これまでに呼吸と光合成，土壌呼吸と葉呼吸の各過程における同位体分別（各過程における^{12}Cと^{13}C，^{16}Oと^{18}Oの移動や反応のしやすさの違い）が異なることを利用した分離評価に関する研究が行われてきている（例えば，Yakir and Wang, 1996; Bowling et al,. 2003）．CO_2の$^{18}O/^{16}O$の変動は，H_2Oとの酸素原子の同位体交換によっても起こり，炭素循環だけでなく水循環も関係するため，$^{13}C/^{12}C$の変動と比べて複雑な変動を示す．このため，$^{13}C/^{12}C$を用いた研究が主流であった（Farquhar et al,. 1982; Ekblad et al,. 2005）．一方，呼吸と光合成，土壌呼吸と葉呼吸の^{18}Oの同位体分別の違いが，一般的に^{13}Cより大きいため，同位体分別の時間変動を捉えることができれば，$^{18}O/^{16}O$の利用は，各炭素フローの分離評価に有効であることが指摘されており（Ogée et al,. 2004），近年は，$^{18}O/^{16}O$に関する研究も進められている（Bowling et al,. 2003; Welp et al,. 2006）．また，従来，安定同位体比の測定は，試料を現場で採取し，研究室に持ち帰って同位体比測定用の質量分析計（Isotopic Ratio Mass Spectrometer：IRMS）で分析していたが，近年のレーザー分光技術の発展により，現場に分析計を設置し，高時間分解能で多量の同位体比データを取得して，解析を行うことが可能になりつつある．

本稿では，安定同位体比の大気観測に基づく，森林生態系の炭素循環の解明に関する研究例を紹介する．最初にIRMSによる安定同位体比の分析手法と森林生態系のCO_2の安定同位体比の変動プロセスの概要を述べる．次に$^{18}O/^{16}O$を利用した夜間のR_{ec}を土壌呼吸と葉呼吸に分離する研究例を紹介し，さらにレーザー分光法による安定同位体比の連続観測に基づく炭素フロー分離評価の例を示す．

2．IRMSによる安定同位体比の測定

CO_2の安定同位体比を測定する場合，まず大気試料等を精製し，高純度CO_2試料を得る．真空ライン中に試料を小流量で流して，異なる温度のコールドトラップを用いて，試料中のH_2OとCO_2をトラップし，CO_2のみを昇華させて高純度CO_2を得るクライオジェニック法が従来用いられていたが，ガスクロマトグラフィーを用いて試料からCO_2を分離し，オンラインでIRMSに導入する方法も普及してきている．質量分析計に導入されたCO_2試料はイオン化され，加速電圧がかけられてイオンビームとなり，さらに磁場がかけられた分析管中で質量数に応じて分離され，ファラデーカップコレクターに達しイオン電流として検出される．CO_2の場合，質量数44（$^{12}C^{16}O_2$），45（$^{13}C^{16}O_2$，$^{12}C^{17}O^{16}O$），46（$^{12}C^{18}O^{16}O$，$^{12}C^{17}O_2$，$^{13}C^{17}O^{16}O$）が同時に測定できるように3つのコレクターが配置される．未知試料と同位体比が分かった標準試料を交互に測定し，それぞれの45/44，46/44のイオン電流強度比を求める．さらに様々な補正により，未知試料の$^{13}C/^{12}C$，$^{18}O/^{16}O$が得られる（Allison et al,. 1995）．ただし，クライオジェニック法で大気試料から精製されたCO_2試料については，CO_2と質量数が等しく，昇華点が近いN_2Oも混入しているため，その影響も補正する必要がある．なお，H_2Oの$^{18}O/^{16}O$は，一定量の試料水に少量のCO_2を添加し，平衡装置を用いて一定温度に保って同位体平衡になったCO_2をIRMSに導入して測定を行い，水とCO_2間の同位体分別に関する補正を行って求めることができる．

一般に未知試料の同位体比は，以下に示すように標準試料の同位体比との千分率偏差であるδ値（‰：パーミル）で表す．

$$\delta = \frac{R_{sa} - R_{st}}{R_{st}} \times 1000 \quad (2)$$

ここでRは，炭素同位体比（$\delta^{13}C$）の場合，$^{13}C/^{12}C$，酸素同位体比（$\delta^{18}O$）の場合，$^{18}O/^{16}O$であり，添え字のsa，stは未知試料，標準試料を表す．標準試料としては，CO_2の同位体比についてはサウスカロライナ州白亜紀ピーディー層から算出されたベレムナイト（箭石：イカの仲間）の化石を100％リン酸と25℃で反応させたときに生じるCO_2の炭素および酸素同位体比を基準とするPDB-CO_2スケールが用いられていたが，上記化石試料は消費してしまったため，別の標準試料の同位体比から

PDB-CO_2 スケールを定めた Vienna-PDB（VPDB）-CO_2 スケールが現在用いられている．H_2O の酸素および水素同位体比については，未処理の標準平均海水（Standard Mean Ocean Water：SMOW）の同位体比を基準とする SMOW スケールが用いられていたが，現在は国際原子力機関が海水を蒸留し，できる限り SMOW に同位体比を近づけた Vienna-SMOW（VSMOW）の同位体比を基準とする VSMOW スケールが用いられており，CO_2 の酸素同位体比についてもこれが用いられる場合がある．なお，VPDB-CO_2 の $^{13}C/^{12}C$ は 0.0112372（Zhang et al.（1990）では 0.011180），$^{18}O/^{16}O$ は 0.002088349077，VSMOW の $^{18}O/^{16}O$ は 0.0020052 である（Allison et al,. 1995）．著者は，クライオジェニック法により試料の精製を行い，IRMS を用いて CO_2 の安定同位体比分析を行っているが，精製過程も含めた同位体分析の総合的な測定誤差は，$\delta^{13}C$ について 0.02‰，$\delta^{18}O$ について 0.05‰と見積もられている（Murayama et al,. 2010）．

3．森林生態系における CO_2 同位体比の変動プロセス

3.1 同位体分別について

大気中，水中の拡散による分子の移動や化学反応は，一般に質量数が小さい同位体ほど起こりやすい．同位体毎の起こりやすさの違いの程度を同位体分別という．移動や反応前後の $^{13}C/^{12}C$，$^{18}O/^{16}O$ をそれぞれ R_a，R_b とすると，同位体分別係数 α_{a-b} は以下のように表される．

$$\alpha_{a-b}=R_a/R_b \tag{3}$$

一般的に同位体分別係数は 1 に近い値を取るため，以下の ε 値を用いて表すことが多い．

$$\varepsilon_{a-b}=\alpha_{a-b}-1 \tag{4}$$

なお，文献によっては，式（3）の分母と分子を入れ替えて定義されている場合がある．また，式（4）の値（負になる場合は正値になるように符号を入れ替えた値）が同位体分別（Δ_{a-b}：‰で表記）であり，以下のように δ 値と関連づけられる（以下は，ε_{a-b} が正値の場合）．

$$\begin{aligned}\Delta_{a-b}&=\varepsilon_{a-b}\times 1000\\&=(\alpha_{a-b}-1)\times 1000\\&=\frac{\delta_a-\delta_b}{1+\delta_b/1000}\\&\approx\delta_a-\delta_b\end{aligned} \tag{5}$$

3.2 炭素同位体比の変動プロセス

森林大気の CO_2 の炭素または酸素同位体比の収支は以下のように表される．

$$\delta_N NEE=\delta_R R_{ec}-\delta_A GPP \tag{6}$$

ここで，δ_N，δ_R，δ_A はそれぞれ NEE，R_{ec}，GPP に対する CO_2 同位体比を表す．δ_N，δ_R，δ_A および NEE が求まれば，式（1）と組み合わせて，NEE を R_{ec} と GPP に分離することが可能になる．

光合成による ^{13}C の同位体分別（Δ_A）は，

$$\begin{aligned}\Delta_A&\cong\delta_a-\delta_p\\&=a\frac{C_a-C_i}{C_a}+b\frac{C_i}{C_a}\end{aligned} \tag{7}$$

で表される（Farquhar et al,. 1982）．ここで δ_a，δ_p（$=\delta_A$）は，大気と植物組織の $\delta^{13}C$，C_a，C_i は大気と葉内（細胞間隙）の CO_2 分圧，a は大気－気孔間の $^{13}CO_2$ と $^{12}CO_2$ の拡散速度の違いによる分別（4.4‰），b は固定酵素（Rubisco）により CO_2 が固定される際の分別（～27‰）を表す．気孔が開いていて C_i が高い場合は，第 2 項の分別の寄与が大きく Δ_A は大きくなり優先的に $^{12}CO_2$ が固定される傾向が強まる．その逆の場合は，第 1 項の気孔への取り込みの拡散過程における分別の寄与が大きくなって Δ は小さくなり，^{13}C の分別は小さくなる．図 2 に大気－葉内間の CO_2 交換経路の模式図を示す（Wehr and Saleska, 2015）．図に示された各ステップの同位体分別を考慮したより詳細な Δ_A は，Farquhar and Lloyd（1993），半場（2009）等に示されている．なお，本稿で対象とする森林生態系の樹木は C_3 植物であるが，光合成経路が異なる C_4 植物や CAM 植物では，固定酵素として PEP カルボキシラーゼと Rubisco が働き，両者の同位体分別が大きく異なるため，これらの植物では C_3 植物と比べて Δ_A が小さい．

呼吸における ^{13}C の同位体分別（$\Delta_R\cong\delta_a-\delta_R$）については，光合成により植物に固定された炭素が基になって，CO_2 として放出されるため，分別がほとんど無く植物体の $\delta^{13}C$ に近い同位体比を持った CO_2 が放出されると考えられる．特に植物の葉，幹枝，根の呼吸で放出される CO_2 は短いターンオーバータイムで放出されるため，最近植物体内に固定された炭素と近い $\delta^{13}C$ を持った CO_2 が植物からの呼吸で放出されると考えられる．一方，土壌有機物の分解や微生物呼吸で放出される CO_2 は，光合成で固定されてからの経過時間が様々であり，最近固定された炭素の $\delta^{13}C$ と異なる可能性がある．大気中の

CO_2 の $\delta^{13}C$ は，低い $\delta^{13}C$ を持った化石燃料起源の CO_2 の一部が大気中に残存することにより約 0.02‰年$^{-1}$ の割合で経年減少している（Mook et al,. 1983; Murayama et al,. 2010）．そのため，仮に土壌有機物のターンオーバータイムを 30 年とすると，およそ 30 年前の大気に相当する現在より約 0.6‰高い $\delta^{13}C$ を持った CO_2 が土壌呼吸で放出されることになる．仮に，光合成で吸収された CO_2 と同量の CO_2 が土壌呼吸（あるいは，一部が土壌呼吸で）として大気中に放出された場合，大気中の CO_2 濃度は変化しないが，$\delta^{13}C$ は増加することになり，同位体的に非平衡状態にあると言える（Tans et al,. 1993）．

なお，式（6）の δ_N については，CO_2 濃度と $\delta^{13}C$ の相関から求める方法（Bowling et al,. 2001）や，近年は同位体連続測定装置を用いた渦相関法による $^{13}CO_2$ の NEE 測定から求められている（Griffis et al,. 2008）．

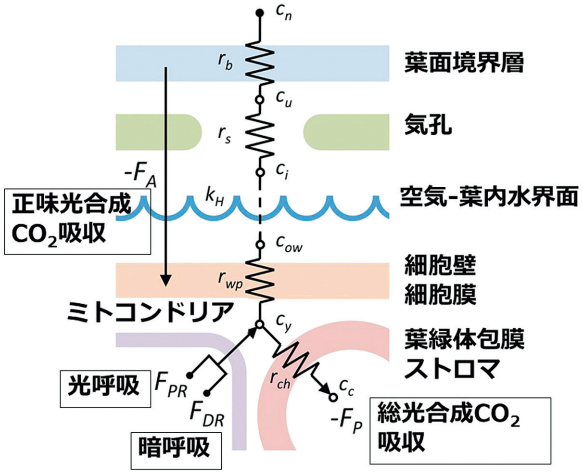

図 2：大気－葉内間の CO_2 交換経路の模式図（Wehr and Saleska, 2015 を元に改編）．

3.3　酸素同位体比の変動プロセス

図 3 に日中と夜間の CO_2 の $\delta^{18}O$ の変動プロセスの模式図を示す．$\delta^{18}O$ の変動において，重要なプロセスは，CO_2-H_2O 間の酸素原子の交換であり，CO_2 の $\delta^{18}O$ は，最後に接触した液体の H_2O の $\delta^{18}O$ に依存する．森林生態系の場合，降水により地表に供給された水の一部は地表面より蒸発するが，残りは土壌中に浸透し，土壌中で呼吸・分解活動により放出された CO_2 は，土壌水との間で同位体平衡に達する．この CO_2 が土壌呼吸として地表面へ移動する際には，大気へ放出されるまでの経路における滞留時間や土壌水分量等に依存して，経路上の土壌水と十分に平衡状態に達しない同位体交換も伴う．さらに土壌中の拡散過程による同位体分別も起こる．これらの結果，土壌中 CO_2 より $\delta^{18}O$ が低い CO_2 が放出され，一般に土壌呼吸により大気中 CO_2 の $\delta^{18}O$ は下げられる．一方，植物は日中活発な蒸散作用により，地中より土壌水を吸い上げ，気孔より水蒸気として水を大気中へ放出する．この際，$H_2{}^{16}O$ が優先的に放出されるため，気孔内の水の ^{18}O は濃縮され，土壌水の $\delta^{18}O$ と比べて高い値になる．特に好天時の日中，相対湿度が低いときにその傾向は強まる．このとき，気孔内に取り込まれた CO_2 の一部は，光合成により体内に固定されるが，残りは葉内の carbonic anhydrase（CA）酵素の働きで気孔内の高 $\delta^{18}O$ の水と速やかに同位体平衡になったのち，固定されないで大気中へ戻ることになる．そのため，一般に光合成時には大気中 CO_2 の $\delta^{18}O$ は上昇する傾向にある．このように呼吸と光合成で $C^{18}O^{16}O$ の同位体分別効果が異なるため，$\delta^{18}O$ を利用して両者の分離が可能となりうる．一方，夜間についても，日中の蒸散の影響で，気孔内の水の $\delta^{18}O$ は土壌水の $\delta^{18}O$ と比べて高いため，

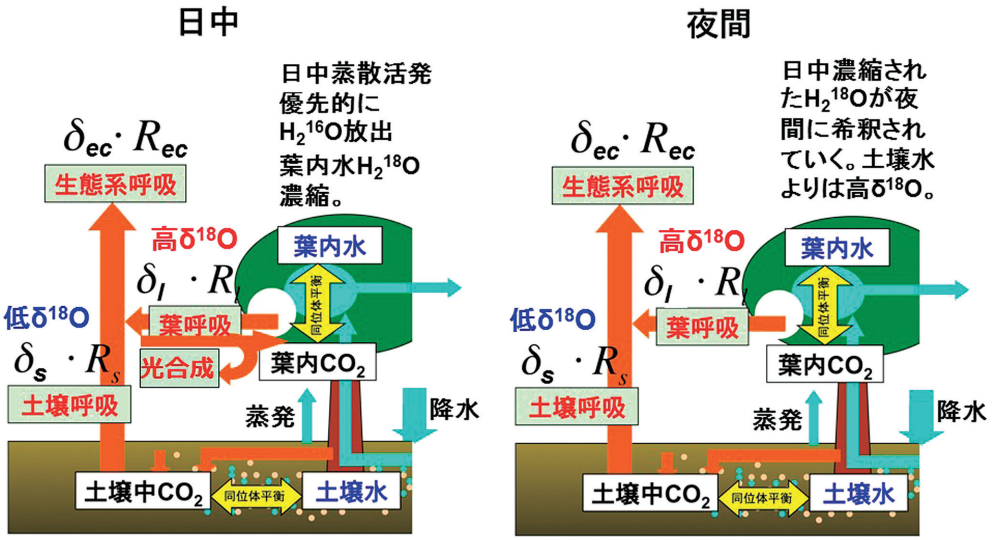

図 3：日中と夜間の CO_2 の $\delta^{18}O$ の変動プロセスの模式図．

葉呼吸で放出される CO_2 の $\delta^{18}O$ は，土壌呼吸で放出されるものより高くなる．このことを利用して，土壌呼吸および葉呼吸以外の CO_2 放出が小さいと仮定した場合，微気象学的な手法で得られる夜間の NEE（$=R_{ec}$）を土壌呼吸と葉呼吸に分離することが可能となる．一連の ^{18}O 循環のソースである降水の $\delta^{18}O$ は，その起源や降り方などに依存して変動し，土壌水および葉内水の $\delta^{18}O$ 変動はその影響を受け，さらに CO_2 の $\delta^{18}O$ の変動もその影響を受ける．なお，図 3 に示した以外に，地表面付近の大気中 CO_2 が表層の土壌水と接触し，土壌表層の滞留時間に応じて土壌水と同位体平衡あるいは一部平衡になった後，大気に戻る非生物的なプロセス（インベージョン効果と呼ばれる）も CO_2 の $\delta^{18}O$ の変動に影響を及ぼすことが指摘されており（Tans, 1998; Miller et al,. 1999; Stern et al,. 2001），CO_2 の正味の交換がなくても，この効果により大気中 CO_2 の $\delta^{18}O$ は変動しうる．また，土壌表層においても CA 酵素の働きで，CO_2-H_2O 間の同位体交換が促進されていることも指摘されている（Wingate et al,. 2009）．

光合成による CO_2 の ^{18}O の同位体分別（Δ_A）は以下の式で表される（Flanagan et al,. 1997）．

$$\begin{aligned}\Delta_A &\cong \delta_a-\delta_A \\ &=\bar{a}+\frac{C_e(\delta_e-\delta_a)}{C_a-C_e}\end{aligned} \tag{8}$$

ここで，δ_a は森林大気中の CO_2 の $\delta^{18}O$，δ_A は大気から葉内へ移動する CO_2 の見かけ上の $\delta^{18}O$，$\bar{a}$ は大気－葉内の水との同位体交換が起こる葉緑体との間の拡散過程による出入りに伴う平均的な同位体分別（7.4‰），C_a および C_e は森林大気および葉緑体の CO_2 濃度，δ_a および δ_e は森林大気および葉内水と平衡な CO_2 の $\delta^{18}O$ をそれぞれ表す．C_e に関しては，植物組織の $\delta^{13}C$ を測定して式（6）を用いることで C_i が推定され，さらに C_i と C_e の差（$0.1\times C_a$～$0.2\times C_a$ 程度）を減じることで推定される．ただし，式（6）で見積もられる C_i は，一定期間の平均値であるため，Δ_A の日内変動等の短時間の変動を推定する場合は，C_i の変動を推定する必要がある（Welp et al,. 2006）．また，式（7）では，葉内水と CO_2 が完全に同位体平衡になることを仮定しているが，平衡の程度（θ_{eq}）は植物種により違うことが指摘されており（Gillon and Yakir, 2001），樹木では 0.93～0.99 と高く，C_4 植物では，0.16～0.38 と低い値を取る．θ_{eq} を考慮すると式（7）は，以下のとおり修正される．

$$\Delta_A=\bar{a}+\varepsilon\left[\theta_{eq}(\delta_e-\delta_a)-\bar{a}\,\frac{1-\theta_{eq}}{\varepsilon+1}\right] \tag{9}$$

$$\varepsilon=\frac{C_e}{C_a-C_e} \tag{10}$$

δ_e を求めるためには，CO_2 と同位体交換が起こっている場所の葉内水の $\delta^{18}O$ 値（δ_E）が必要である．定常状態においては，以下の関係が成り立つ（Craig and Gordon, 1965）．

$$\delta_E=\delta_{sw}+\varepsilon_k+\varepsilon^*+h(\delta_v-\delta_{sw}-\varepsilon_k) \tag{11}$$

ここで，δ_{sw} は植物が吸い上げる平均的な土壌水（あるいは幹水）の $\delta^{18}O$，ε_k は葉内外間の拡散過程による出入りに伴う水蒸気の同位体分別（Lee et al,. 2009），ε^* は水が蒸発する際の同位体分別（気液間同位体平衡：温度に依存）（Bottinga and Craig, 1969），h は相対湿度（0～1），δ_v は蒸散が起きている葉周辺の大気中水蒸気の $\delta^{18}O$ である．なお，式（11）で仮定した定常状態は，相対湿度や葉の蒸散速度の変動が大きい場合，必ずしも成立しないことが指摘されており，非定常状態の場合の補正式が提案されている（Cuntz et al,. 2003; Lai et al,. 2006）．δ_E（葉内水）と δ_e（CO_2）との関係は，式（12）および式（13）（Brenninkmeijer et al,. 1983）で示される．

$$\delta_e=\delta_E+\varepsilon_{eq} \tag{12}$$

$$\varepsilon_{eq}=\frac{17604}{T}-17.93 \tag{13}$$

ここで，T は葉内水と CO_2 間で同位体交換が起こっている場所の温度（絶対温度 K）である．

次に呼吸の同位体分別（Δ_R）について述べる．土壌呼吸のみについて考えた場合（Δ_{RS}）は，式（14）で表される．

$$\begin{aligned}\Delta_{RS}&=\delta_a-\delta_{RS} \\ &=\delta_a-\delta_s+\varepsilon_{eff} \\ &=\delta_a-\delta_{sw}-\varepsilon_{eq}+\varepsilon_{eff}\end{aligned} \tag{14}$$

ここで，δ_{RS} は土壌から大気へ放出される CO_2 の $\delta^{18}O$，δ_S は土壌水と平衡な CO_2 の $\delta^{18}O$，δ_{SW} は土壌水の $\delta^{18}O$，ε_{eff} は土壌から大気へ放出される際の拡散に伴う実質的な同位体分別を表し，拡散による分別以外に，上述の土壌から大気の経路上の土壌水との不完全な同位体交換の影響およびインベージョン効果も含む．ε_{eff} の具体的な数式による表現は，Tans（1998）および Stern et al.

(2001) を参照されたい.

なお, 以下で述べる夜間の葉呼吸に伴う同位体分別は, 式 (8) あるいは式 (9), (10) で表される.

3.4　森林生態系における CO_2 の安定同位体比の変動

図 4 に岐阜県高山市の冷温帯落葉広葉樹林観測地において夏季 (2008 年 7 月 22 日～23 日) に観測された大気中 CO_2 濃度およびその安定同位体比の鉛直分布の時間変動の例を示す ($\delta^{18}O$ については, VPDB-CO_2 スケールの値). 当観測地は, 標高 1420 m の乗鞍岳山麓に位置する. 主要な植生は, 平均樹高約 17 m のカンバ, ミズナラであり, 林床部はササに覆われている (Murayama et al,. 2010).

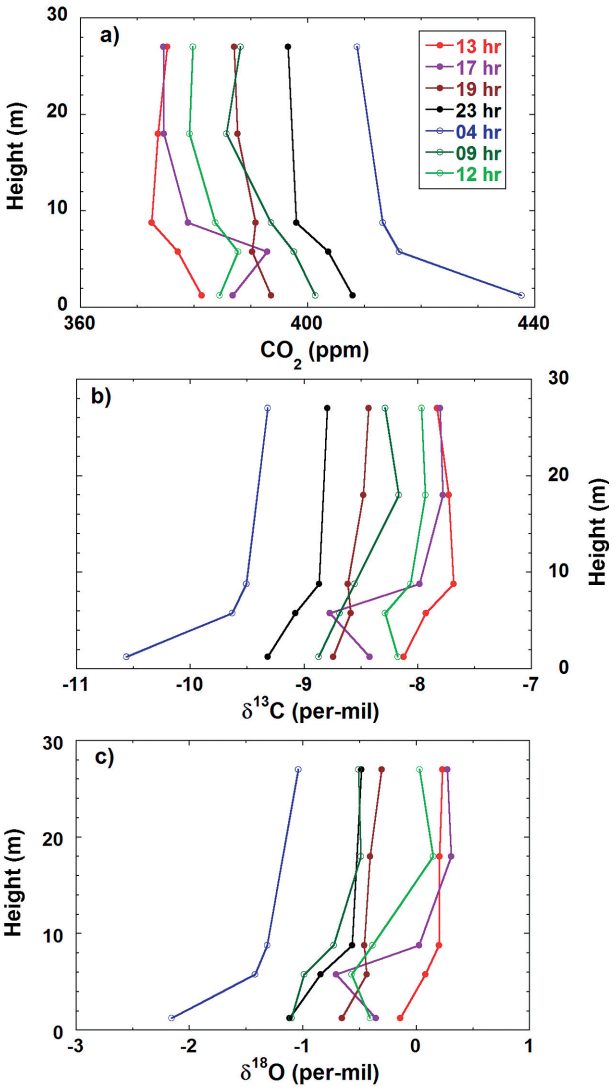

図 4：岐阜県高山市の冷温帯落葉広葉樹林観測地において夏季 (2008 年 7 月 22 日～23 日) に観測された大気中 CO_2 濃度 (a) およびその $\delta^{13}C$ (b) と $\delta^{18}O$ (c) の鉛直分布の時間変動の例.
凡例は, 観測された概ねの時刻を示す (13hr：7 月 22 日 13 時, …, 12hr：7 月 23 日 12 時). 未発表データ.

CO_2 濃度は, 日中は森林上部の活発な光合成による CO_2 吸収により減少し, また活発な大気の鉛直混合により, 鉛直方向の濃度差は小さくなる. 夕方～早朝にかけては, 呼吸による CO_2 放出により濃度は増加し, 鉛直混合が弱まるとともに地表面から放出される土壌呼吸起源の CO_2 の影響を受けて, 地表付近の濃度が上層よりも高くなる. 一方, $\delta^{13}C$ の変動は CO_2 濃度の変動と逆相関を示す. 日中は増加して, 鉛直方向の差は小さくなり, 夕方～早朝にかけては, 減少して特に地表付近の $\delta^{13}C$ が低くなる. これらの変動は, 以下の過程で説明できるであろう. 日中は, 光合成により, $^{12}CO_2$ が選択的に植物により吸収され, 大気中の $\delta^{13}C$ が増加する. 夜間は, 光合成による CO_2 吸収がなくなり, 呼吸により植物体内や土壌有機物由来の $\delta^{13}C$ が低い CO_2 が大気に放出され, 大気中の $\delta^{13}C$ が減少する. $\delta^{18}O$ についても同様に, CO_2 濃度と概ね逆相関を示している. $\delta^{18}O$ の変動については, 以下のように説明できるであろう. 日中活発な蒸散により葉内水の $\delta^{18}O$ は増加し, 光合成に伴い気孔内に取り込まれた CO_2 が葉内水と同位体平衡になる. そうして高い $\delta^{18}O$ を持った CO_2 の一部は植物体内に取り込まれず, 拡散により大気に戻るため, 大気中の $\delta^{18}O$ は増加する. 夜間は, 光合成がなくなり相対的に呼吸の影響が強まる. 土壌呼吸によって土壌空隙内に放出された CO_2 は, $\delta^{18}O$ が低い土壌水と平衡になった後, さらに拡散による分別を受けて大気へ放出されるため, 大気中の CO_2 の $\delta^{18}O$ は減少する.

さて, 大気中の CO_2 濃度と同位体比が, 大気と一つの CO_2 起源との交換・混合により決定されている場合, 以下の関係が成り立つ.

$$C_{ob} = C_{bg} + C_{sc} \tag{15}$$

$$\delta_{ob}C_{ob} = \delta_{bg}C_{bg} + \delta_{sc}C_{sc} \tag{16}$$

ここで, C および δ は CO_2 濃度および同位体比 ($\delta^{13}C$ または $\delta^{18}O$), 添え字の ob, bg, sc はそれぞれ観測, バックグラウンド, バックグラウンドに対して変動を引き起こす起源を表す. 式 (15), (16) より,

$$\delta_{ob} = \frac{(\delta_{bg} - \delta_{sc})C_{bg}}{C_{ob}} + \delta_{sc} \tag{17}$$

のような関係式が得られる. したがって, バックグラウンドに対して変動を引き起こす起源が一つしかないと考えられる状況であれば, 観測で得られた C_{ob}, δ_{ob} に関して, x：$(C_{ob})^{-1}$, y：δ_{ob} として相関を調べ, 式 (17) に当てはめて最小自乗法により近似直線を求めることによ

り，δ_{sc} を推定することが可能になる．この手法は，考案者の名前から Keeling Plot 法と呼ばれ（Keeling, 1958），安定同位体比を用いた CO_2 濃度の変動の起源推定に広く用いられている．なお，バックグラウンド値が変動し，観測値とバックグラウンド値の偏差の起源を推定する場合は，Keeling Plot 法を修正した解析手法も用いられている（Miller and Tans, 2003）．図 5 に図 4 で示したデータのうち，光合成の影響を受けない夜間のデータについて，Keeling Plot したものを示す．CO_2 濃度の逆数と $\delta^{13}C$ は強い相関を示し，最小自乗法で得られた近似直線の y 切片（式 17 の δ_{sc}）は，−26.3‰となった．この値は C_3 植物の代表的な値であり（Vogel, 1980），上記の通り，CO_2 の変動は森林生態系の生物活動（呼吸活動）によって生じたことが確かめられた．一方，$\delta^{18}O$ についても，顕著な相関関係が見られ，最小自乗法で得られた近似直線の y 切片（式 17 の δ_{sc}）は −16.1‰を示した．つまり，各部位の呼吸で放出された CO_2 が接する H_2O と同位体平衡になった後，拡散による同位体分別を伴って大気に放出された CO_2 の平均的な（各部位の呼吸量で重み付けされた平均）$\delta^{18}O$ がこの値であったことを示す．

Keeling Plot 法は，CO_2 濃度の変動要因を調べるために非常に有効な手段であるが，CO_2 濃度および同位体の変動レンジが狭いときは，δ_{sc} の推定誤差が大きくなる．また，観測期間中に CO_2 変動を引き起こす起源が変わった場合や，起源が持つ同位体比が変動してしまった場合は，δ_{sc} を正しく推定できなくなる．特に $\delta^{18}O$ については，降水イベント等により，H_2O の $\delta^{18}O$ が大きく変動し，CO_2 の $\delta^{18}O$ もその影響を受けることがあるので，どういった期間のデータを用いて解析を行うかについて注意が必要である．

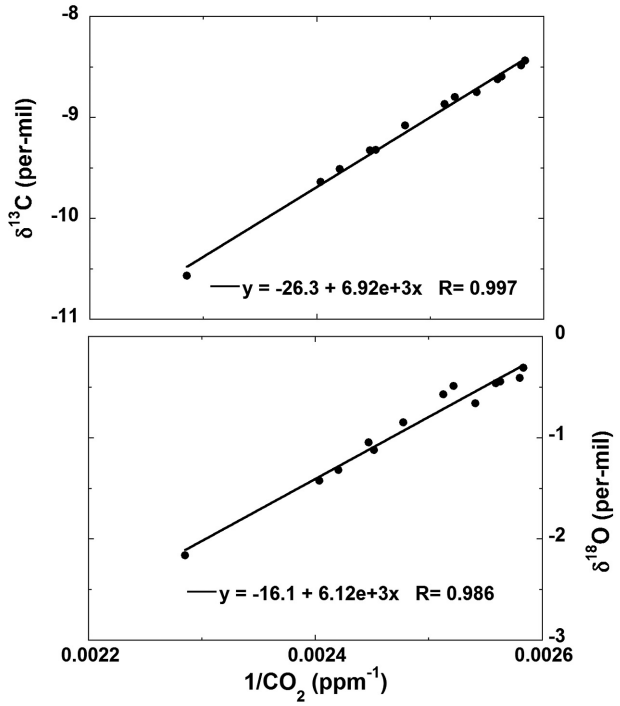

図 5：図 4 で示したデータのうち，夜間のデータに関する $\delta^{13}C$（上）および $\delta^{18}O$（下）の Keeling Plot.
図中の R は相関係数を表す．

4．安定同位体比を用いた森林生態系の炭素フローの分離評価

以下では，安定同位体比を用いて森林生態系の炭素フローの分離評価が行われた研究例（Bowling et al, 2003 および Wehr et al,. 2016）を紹介する．

4.1　$\delta^{18}O$ の観測による夜間の生態系呼吸の土壌呼吸，葉呼吸への分離

Bowling et al.（2003）では，米国オレゴン州のポンデローサ松から成る森林において，2001 年夏季の夜間に大気，土壌，幹，葉のサンプルを採取して，大気中 CO_2 濃度および $\delta^{18}O$，土壌水，幹水，葉内水の $\delta^{18}O$ の測定を行い，得られたデータから，夜間に土壌呼吸，葉呼吸，生態系呼吸により大気中に放出される CO_2 の $\delta^{18}O$ を推定し，夜間の生態呼吸に占める土壌呼吸および葉呼吸の割合の変動を試算している．葉内水の $\delta^{18}O$ については，大気中水蒸気の $\delta^{18}O$（δ_v）を仮定し，式（11）を用いた推定も行っている．本研究では，同位体分別について単純化しており，土壌呼吸で大気に放出される CO_2 の $\delta^{18}O$（δ_s）については，土壌水と平衡になった CO_2 が拡散による同位体分別のみの影響を受けると仮定している（式 14 の ε_{eff} に土壌から大気の経路上の土壌水との不完全な同位体交換の影響およびインベージョン効果を含まない）．葉呼吸で大気へ放出される CO_2 の $\delta^{18}O$（δ_l）については，葉内水と平衡になった δ_e を持った CO_2 が拡散の同位体分別の影響のみ受けると仮定している（式 8 において $C_e >> C_a$ の場合．$\theta_{eq}=1$ および δ_E が定常状態であることも仮定）．生態系呼吸による CO_2 の $\delta^{18}O$（δ_{ec}）は，夜間の大気中 CO_2 濃度と $\delta^{18}O$ データに関する Keeling Plot で得られた y-切片より推定している．夜間の生態系呼吸（R_{ec}）について，土壌呼吸（R_s）および葉呼吸（R_l）以外の呼吸は小さいと仮定すると（図 3 の夜間の模式図参照），

$$R_{ec} = R_s + R_l \tag{17}$$

$$\delta_{ec}R_{ec} = \delta_s R_s + \delta_l R_l \tag{18}$$

式（17），（18）より，生態系呼吸に占める土壌呼吸の割合は，

$$\frac{R_s}{R_{ec}}=\frac{\delta_l-\delta_{ec}}{\delta_l-\delta_s} \quad (19)$$

で表され，各呼吸に対する $\delta^{18}O$ が分かれば，求めることができる．この場合，図 6 に示したとおり，大気の CO_2 濃度および $\delta^{18}O$ データを用いた Keeling Plot で求まる δ_{ec} は，δ_l と δ_s の間に入る必要がある．図 7 に観測期間中の各呼吸に対する $\delta^{18}O$ および式（19）から求められた生態系呼吸に占める土壌呼吸の割合の時間変動を示す．観測期間の前に降雨があったが，観測期間中は降雨イベントがなく乾燥化が進んだため，土壌水および葉内水の $\delta^{18}O$ が徐々に増加していったことが観測されている．それに対応して，図 7 の δ_l と δ_s も増加し，δ_{ec} も増加している．式（19）より求められた生態系呼吸に占める土壌呼吸の割合の期間中の平均は，0.80 ± 0.12（1σ）であり，別途チャンバー法で求められた割合（0.77）と良く一致していた．

本研究の事例では，観測期間中，降雨イベントがなく徐々に乾燥化が進んでいったが，降雨イベントがあると，急激に土壌水の $\delta^{18}O$ が変化する（例えば，Nakazawa et al,. 1997）．それに応じて各呼吸の $\delta^{18}O$ も変化すると考えられるが，それぞれの応答時間が異なるため，δ_{ec} が図 6 に示された範囲に入らない場合があり，式（19）で求められる R_s/R_{ec} が 1 を超えたり負の値を示したりする場合があるので注意が必要である．本研究では，上述のとおり関連する同位体分別を単純化しているため，そのことに伴う誤差について Bowling et al.（2003）では議論されており，より詳細なプロセスを考慮したモデルを導入することで，より精度の高い推定が可能になり得ることが示唆されている．一方で，複雑な同位体分別プロセスを導入するためには，そのために必要な観測項目が増えたり，プロセスを導入するために用いられるモデルに高い精度が求められたりするため，研究対象に応じて必要なプロセスを抽出し，できる限りモデルを単純化することも必要であろう．

4.2　レーザー分光法による CO_2 安定同位体比連続観測に基づく森林生態系における炭素フローの分離評価

これまで CO_2 の安定同位体比を高精度に測定するために，2 章で述べた IRMS を用いた分析法が用いられてきた．しかし，森林生態系のように，生物活動の影響により短時間で CO_2 濃度やその同位体比が大きく変動する観測地では，その変動を正確に捉えるためには，高頻度に試料を採取して多数の試料の分析を行う必要があり，従来の手法では限界があった．一方，近年のレーザーや半導体技術の急速な進歩により，レーザー分光法による連続測定が普及しつつある．当手法では，CO_2 の各同位体で吸収線波長が異なることを利用し，光学セルに導入された大気試料中の CO_2 の各同位体により，各吸収線

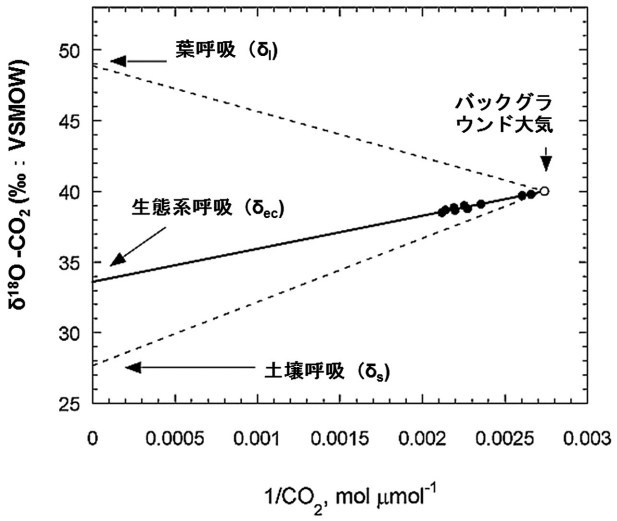

図 6：夜間のデータに関する Keeling Plot から求まる生態系呼吸の $\delta^{18}O$ のシグナル（δ_{ec}）と土壌呼吸（δ_s）および葉呼吸（δ_l）の $\delta^{18}O$ のシグナルの関係（Bowling et al., 2003 を元に改編）．

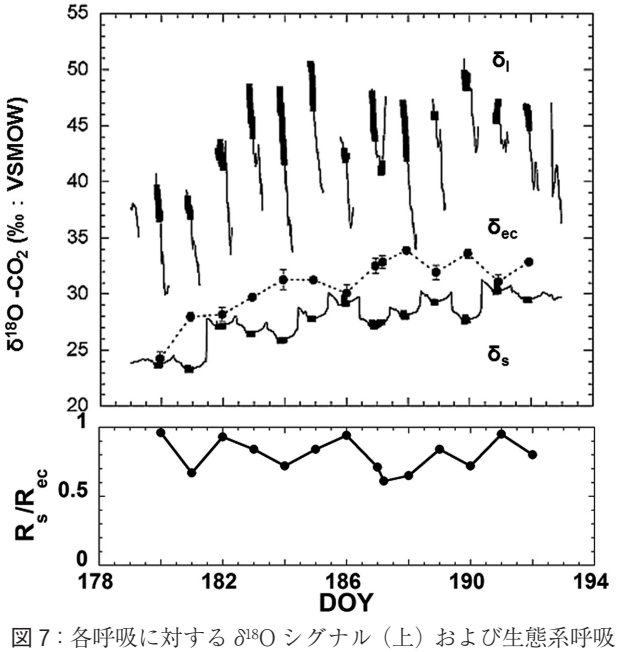

図 7：各呼吸に対する $\delta^{18}O$ シグナル（上）および生態系呼吸に占める土壌呼吸の割合（下）の時間変動（Bowling et al., 2003 を元に改編）．

で赤外光がどれだけ減衰するかにより各同位体の濃度を求め，濃度比から同位体比が計算される．高精度の同位体分析には吸収線強度が強い 4.3 μm 付近の中赤外域の利用が適しているが，この波長帯には多数の吸収線が密にある．隣接する吸収線の干渉を避けるため，波長幅が狭い中赤外光を射出できるレーザー光源が必要である．また，低濃度の同位体についても高精度に測定できるように，高感度の検出器やコンパクトで光路長が長く取れる光学セルが必要であり，さらにレーザー光源の可変な波長範囲も考慮して，濃度で重み付けした吸収線強度が各同位体で近くなるように吸収線を選定する必要がある．以上のような仕様を満たす分析計が開発され，森林生態系における観測にも導入されつつある．測定精度は IRMS よりやや劣るが，近年は IRMS に匹敵するものも使用されるようになってきた．

Wehr et al.（2016）は，量子カスケードレーザーを搭載した高精度の CO_2 同位体連続測定装置を開発し（100 秒平均値の 3 時間以内の測定に対する 95% 信頼区間は $\delta^{13}C$：±0.04‰，$\delta^{18}O$：±0.06‰），2011 年 5 月～2013 年 10 月の期間に米国マサチューセッツ州の温帯落葉樹林観測地（Harvard Forest Environmental Measurement site）において，当装置を用いた微気象学的手法（渦相関法）による $^{12}CO_2$ および $^{13}CO_2$ の NEE 観測を実施した．同時に熱・水フラックス，各種気象，土壌環境要素，チャンバー法による土壌呼吸等の観測も行われた．本研究では，日中の総 CO_2 と $^{13}CO_2$ の収支を以下の式で表し，両式から日中の NEE を日中の生態系呼吸（DER）と総生態系生産（GEP：総光合成－光呼吸）とに分離して評価することを試み，従来広く用いられている夜間の NEE（R_{ec}）と温度の関係から DER を推定する手法との比較が行われた．

$$NEE = DER - GEP \tag{20}$$

$$\delta_{NEE}NEE = \delta_{DER}DER - \delta_{GEP}GEP \tag{21}$$

ここで δ 値は各添え字で示された CO_2 フローに対する $\delta^{13}C$ のシグナルを表す．本研究では，DER をさらに日中の葉呼吸（F_{DR}）とその他の呼吸，GEP を総光合成（F_P）と光呼吸（F_{PR}）に分け（図 2 参照），各 CO_2 フローの量と対応する $\delta^{13}C$ が決定された．そのために観測で求められた NEE と NEE および葉以外の呼吸の $\delta^{13}C$ が用いられ，また図 2 で示した詳細な葉内の同位体分別について熱・水フラックス，各種気象，土壌環境要素等の観測結果や過去の文献値を用いてモデル化された（Wehr and Saleska, 2015）．

図 8 に観測で得られた日中の大気中 CO_2 の $\delta^{13}C$（δ_a）および夜間の葉呼吸以外の呼吸に対する $\delta^{13}C$（δ_{NR}）とモデル計算から求められた日中の光合成固定に対する $\delta^{13}C$（δ_A）および葉内細胞間 CO_2 濃度（C_i）の推定値の変動を示す．図より季節の進行とともに，δ_A が増加し，葉内の C_i が減少しているが，気孔コンダクタンスが減少して C_i が減少し，それに伴い δ_A が増加していると考えられる（式 7 参照）．

図 9 に生長季の前半（6～7 月）と後半（8～9 月）に分けた 3 年間の平均的な NEE，および同位体観測に基づいて分離された DER と-GEP の日内変動を示す．DER と-GEP については，従来の夜間の NEE と温度の関係から求めた結果も示す．図から生長季前半（6～7 月）は，生態系呼吸が日中に夜間と比べて半分以下に減少しており，DER が従来法に比べて同位体観測に基づく推定が大幅に減少していることが分かる．また，それに対応して GEP も減少（図中の-GEP は増加）している．一方，生長季後半（8～9 月）については，夜間と日中の生態系呼吸の差は小さい．従来法と比べても，DEP および GEP はわずかに減少する程度で大きな差は無い．土壌呼吸については，日中と夜間の差はチャンバー法による観測結果から，当観測地では一般的に 10% 以内の変動の小さな変動であることが分かっており，同位体法による生長季前半に見られた日中の生態系呼吸の減少は，地上部呼吸の減少に起因するものであることが示唆される．

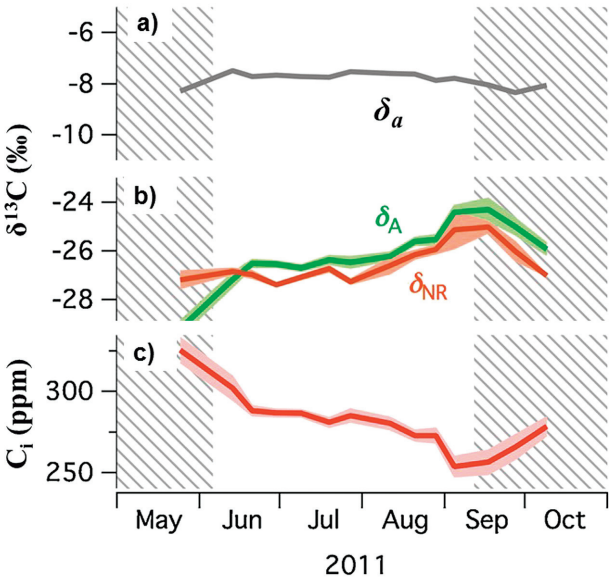

図 8：日中観測で得られた大気中 CO_2 の $\delta^{13}C$（δ_a）（a），夜間の観測で得られた葉呼吸以外の呼吸に対する $\delta^{13}C$（δ_{NR}）とモデル計算により求められた日中の光合成固定に対する $\delta^{13}C$（δ_A）（b）および葉内細胞間 CO_2 濃度（C_i）の推定値の変動（c）（Wehr and Saleska, 2015 を元に改編）．

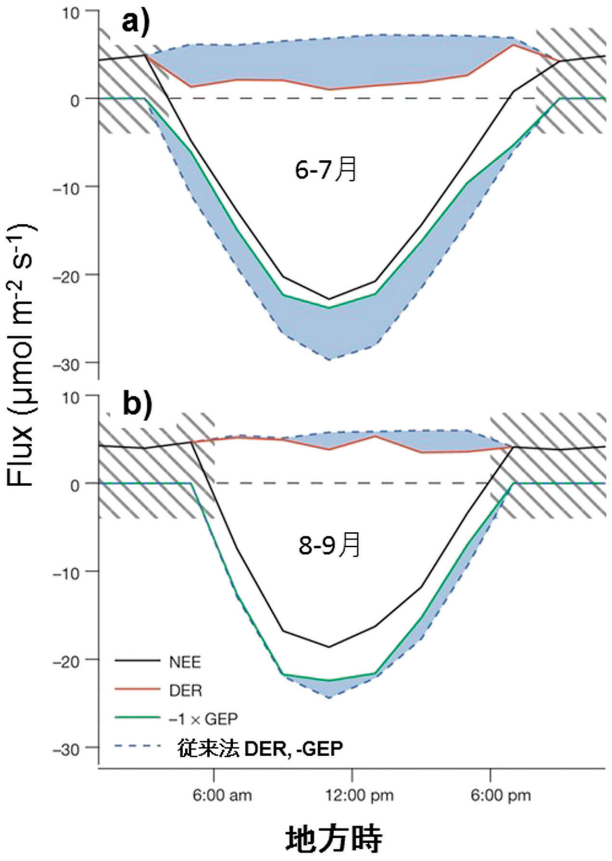

図 9：生長季の前半（6～7 月）（a）と後半（8～9 月）（b）における 3 年間の平均的な NEE，および同位体観測に基づいて分離された日中の生態系呼吸（DER）と−GEP の日内変動（Wehr et al., 2016 を元に改編）．

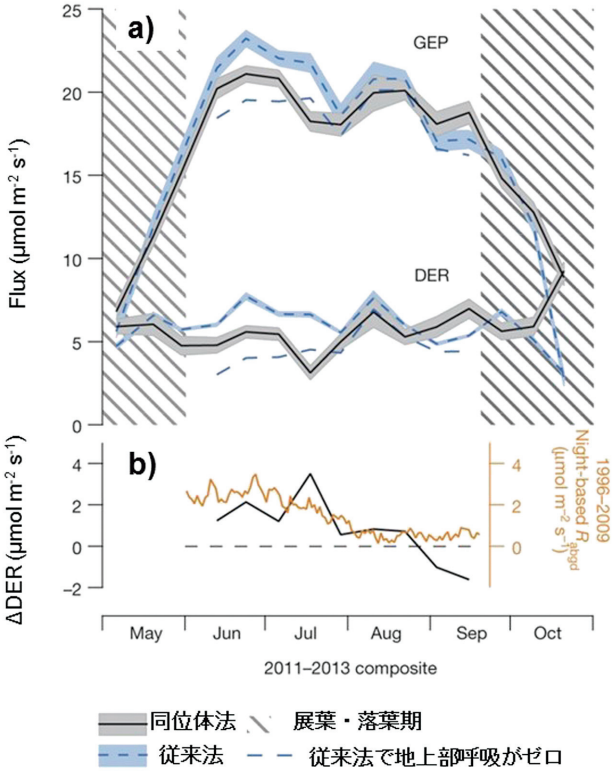

図 10：3 年間の平均的な DER と GEP の季節変動．本研究で得られた同位体観測に基づく結果と，従来法および従来法で地上部呼吸をゼロ（土壌呼吸のみ）にしたものが比較されている（a）．従来法と同位体観測に基づく DER 推定の差（ΔDER＝従来法－同位体法）（黒実線）および，1996～2009 年の平均的な夜間の地上部呼吸の変動（金実線）（b）．Wehr et al.（2016）を元に改編．

図 10 には，3 年間の平均的な DER と GEP の季節変動を示す．本研究で得られた同位体観測に基づく結果と，従来法および従来法で地上部呼吸をゼロ（土壌呼吸のみ）にしたものが比較されている．また，従来法と同位体観測に基づく DER 推定の差（ΔDER＝従来法－同位体法）および，1996～2009 年の平均的な夜間の地上部呼吸の変動も示す．この図からも，生長季前半（6～7 月）は従来法の推定が同位体法と比べて大きく，後半（8～9 月）は両者の差がほとんど無くなっているのが分かる．ΔDER の変動は，地上部呼吸と類似の季節変動を示しており，同位体法の推定では，日中の地上部呼吸が大幅に抑制されていることが示唆される．一方，当観測地における夜間の生態系呼吸に占める地上部呼吸の割合は，チャンバー観測の結果から，葉の厚みが増加し生長呼吸が活発化すると考えられる 6 月は 50%以上になるが，生長がほとんど無くなる 8 月には 10%程度に減少することが見積もられている．このため，地上部呼吸が日中に抑制される場合，日中の生態系呼吸の割合が大きい，生長季前半に生態系呼吸への影響が大きくなる．葉における暗呼吸が光の当たる環境下で抑制される現象は，Kok 効果として個葉レベルでは多くの樹種で観測されており（Kok, 1949），上記現象はこの効果を反映しているのかもしれない．

もし，同位体法による推定が正しいとすると，従来法による生長季前半の日中の生態系呼吸による CO_2 放出量および光合成による CO_2 吸収量は，過大評価していたことになる．また，同位体法に基づく GEP 推定結果を用いた場合，当森林においては，光利用効率，水利用効率について生長期前半と後半の違いがほとんど無くなった．従来法では生長季前半に GEP が大きく見積もられており，その後減少する傾向が見られ（図 10 参照），葉の劣化や水ストレスに依るものと考えられていたが，当森林においては，これらの影響は小さいのかもしれない．本研究の結果は，従来の推定値や生態系モデルについて修正が必要になる可能性や，生態系モデルを用いた陸上生態系における炭素収支予測にも影響を及ぼす可能性を示唆している．当手法による炭素フローの分離手法については，複数の分離手法との比較や他の植生への適用等をとおして，今後さらに検証していく必要がある．

5. おわりに

本稿では，森林生態系の炭素循環の研究における安定同位体比測定の有効性について，研究例を交えて紹介した．森林生態系における複雑な炭素循環プロセスをモデル化する上で，安定同位体比の観測データは新たな拘束条件を与える．森林生態系内外の気象・土壌環境要素，大気－生態系間の熱・水・CO_2 収支や CO_2 濃度等の変動に追加して同位体比の変動も再現できる生態系モデルを構築することにより，直接観測できない各炭素フローの分離推定精度の向上が期待される．レーザー分光法による連続測定は，まだ研究例が少ないが，今後，さらに測定精度や現場環境における安定性が向上して，高精度の同位体連続観測データが蓄積されれば，上記モデルの検証データとして有効に活用されるであろう．以上により，生態系モデルが改良され，生態系の各炭素フローの推定精度が向上すれば，気候変動に伴う陸上生態系の炭素収支予測の高精度化が可能になり，気候変動予測の高精度化や大規模植林等の陸上生態系を利用した地球温暖化に対する効果的な緩和策等の策定に貢献できることが期待される．

参考文献

Allison, C. E., R. J. Francey and H. A. J. Meijer (1995) Recommendations for the reporting of stable isotope measurements of carbon and oxygen in CO_2 gas. *Reference and intercomparison materials for stable isotopes of light elements*, International Atomic Energy Agency, I*AEA-TECDOC*, **825**, pp. 155–162.

Amiro, B. D., A. G. Barr, T. A. Black, H. Iwashita, N. Kljun, J. H. McCaughey, K. Morgenstern, S. Murayama, Z. Nesic, A. L. Orchansky and N. Saigusa (2006) Carbon, energy and water fluxes at mature and disturbed forest sites, Saskatchewan, Canada. *Agric. For. Meteorol.*, **136**, 237–251.

Bottinga, Y. and H. Craig (1969) Oxygen isotope fractionation between CO_2 and water, and the isotopic composition of marine atmospheric CO_2. *Earth Planet. Sci. Lett.*, **5**, 285–295.

Bowling, D. R., N. G. McDowell, J. M. Welker, B. J. Bond, B. E. Law and J. R. Ehleringer (2003) Oxygen isotope content of CO_2 in nocturnal ecosystem respiration: 2. Short-term dynamics of foliar and soil component fluxes in an old-growth ponderosa pine forest. *Global Biogeochem. Cycles*, **17**, 1124.

Bowling, D.R., P. P. Tans, R. K. Monson (2001) Partitioning net ecosystem carbon exchange with isotopic fluxes of CO_2. *Global Change Biol.*, **7**, 127–145.

Brenninkmeijer, C. A. M, P. Kraft and W. G. Mook (1983) Oxygen isotope fractionation between CO_2 and H_2O. *Isotope Geosci.*, **1**, 181–190.

Craig, H. and L. I. Gordon (1965) Deuterium and oxygen-18 variations in the ocean and the marine atmosphere. *Stable Isotopes in Oceanographic Studies and Paleotemperatures*. Cons. Naz. delle Ric., Lab. di Geol. Nucl., Spoleto, Italy, pp. 9–130.

Cuntz, M., P. Ciais, G. Hoffmann and W. Knorr (2003) A comprehensive global three-dimensional model of $\delta^{18}O$ in atmospheric CO_2: 1. Validation of surface processes. *J. Geophys. Res.*, **108**, 4527.

Ekblad, A., B. Boström, A. Holm, and D. Comstedt (2005) Forest soil respiration rate and $\delta^{13}C$ is regulated by recent above ground weather conditions. *Oecologia*, **143**, 136–142.

Farquhar, G. D. and J. Lloyd (1993) Carbon and oxygen isotope effects in the exchange of carbon dioxide between terrestrial plants and the atmosphere. *Stable Isotopes and Plant Carbon-Water Relations*, Academic Press, Inc., San Diego, California, USA, pp. 47–70.

Farquhar, G. D., M. H. O'Leary and J. A. Berry (1982) On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Aust. J. Plant Physiol.*, **9**, 121–137.

Flanagan, L. B., J. R. Brooks, G. T. Varney and J. R. Ehleringer (1997) Discrimination against $C^{18}O^{16}O$ during photosynthesis and the oxygen isotope ratio of respired CO_2 in boreal forest ecosystems. *Global Biogeochem. Cycles*, **11**, 83–98.

Gillon, J. and D. Yakir (2001) Influence of carbonic anhydrase activity in terrestrial vegetation on the ^{18}O content of atmospheric CO_2. *Science*, **291**, 2584–2587.

Graven, H. D., R. F. Keeling, S. C. Piper, P. K. Patra, B. B. Stephens, S. C. Wofsy, L. R. Welp, C. Sweeney, P. P. Tans, J. J. Kelley, B. C. Daube, E. A. Kort, G. W. Santoni and J. D. Bent (2013) Enhanced seasonal exchange of CO_2 by northern ecosystems since 1960. *Science*, **341**, 1085–1089.

Griffis, T. J., S. D. Sargent, J. M. Baker, X. Lee, B. D. Tanner, J. Greene, E. Swiatek and K. Billmark (2008) Direct measurement of biosphere-atmosphere isotopic CO_2 exchange using the eddy covariance technique. *J. Geophys. Res.*, **113**, D08304.

半場祐子（2009）光合成研究のための安定同位体測定法．低温科学，**67**，73–82.

IPCC (2013) *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 1535 pp.

Keeling, C. D. (1958) The concentration and isotopic abundances of carbon dioxide in rural areas. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **13**, 322–334.

Kok, B. (1949) On the interrelation of respiration and photosynthesis in green plants. *Biochim. Biophys. Acta*, **3**,

625–631.

Lai, C. T., J. R. Ehleringer, B. J. Bond and K. T. Paw U (2006) Contributions of evaporation, isotopic non-steady state transpiration and atmospheric mixing on the $\delta^{18}O$ of water vapour in Pacific Northwest coniferous forests. *Plant Cell Environ.*, **29**, 77–94.

Lee, X., T. J. Griffis, J. M. Baker, K. A. Billmark, K. Kim and L. R. Welp (2009) Canopy-scale kinetic fractionation of atmospheric carbon dioxide and water vapor isotopes. *Global Biogeochem. Cycles*, **23**, GB1002,

Miller, J. B. and P. P. Tans (2003) Calculating isotopic fractionation from atmospheric measurements at various scales. *Tellus*, **55B**, 207–214.

Miller, J. B., D. Yakir, J. W. C. White and P. P. Tans (1999) Measurement of $^{18}O/^{16}O$ in the soil-atmosphere CO_2 flux, *Global Biogeochem. Cycles*, **13**, 761- 774.

Mook, W. G., M. Koopmans, A. F. Carter and C. D. Keeling (1983) Seasonal, latitudinal, and secular variations in the abundance and isotopic ratios of atmospheric carbon dioxide: 1. Results from land stations. *J. Geophys. Res.*, **88**, 915–933.

Murayama, S., C. Takamura, S. Yamamoto, N. Saigusa, S. Morimoto, H. Kondo, T. Nakazawa, S. Aoki, T. Usami and M. Kondo (2010) Seasonal variations of atmospheric CO_2, $\delta^{13}C$, and $\delta^{18}O$ at a cool temperate deciduous forest in Japan: Influence of Asian monsoon. *J. Geophys. Res.*, **115**, D17304.

Nakazawa, T., S. Murayama, M. Toi, M. Ishizawa, K. Otonashi, S. Aoki and S. Yamamoto (1997) Temporal variations of the CO_2 concentration and its carbon and oxygen isotopic ratios in a temperate forest in the central part of the main island of Japan. *Tellus*, **49B**, 364–381.

Ogée J., P. Peylin, M. Cuntz, T. Bariac, Y. Brunet, P. Berbigier, P. Richard and P. Ciais (2004) Partitioning net ecosystem carbon exchange into net assimilation and respiration with canopy-scale isotopic measurements: An error propagation analysis with $^{13}CO_2$ and $CO^{18}O$ data. *Global Biogeochem. Cycles*, **18**, GB2019.

Reichstein, M., E. Falge, D. Baldocchi, D. Papale, M. Aubinet, P. Berbigier, C. Bernhofer, N. Buchmann, T. Gilmanov, A. Granier, T. Grünwald, K. Havránková, H. Ilvesniemi, D. Janous, A. Knohl, T. Laurila, A. Lohila, D. Loustau, G. Matteucci, T. Meyers, F. Miglietta, J. -M. Ourcival, J. Pumpanen, S. Rambal, E. Rotenberg, M. Sanz, J. Tenhunen, G. Seufert, F. Vaccari, T. Vesala, D. Yakir and R. Valentini (2005) On the separation of net ecosystem exchange into assimilation and ecosystem respiration: review and improved algorithm. *Global Change Biol.*, **11**, 1424–1439.

Stern, L. A., R. Amundson and W. T. Baisden (2001) Influence of soils on oxygen isotope ratio of atmospheric CO_2. *Global Biogeochem. Cycles*, **15**, 753–759.

Tans, P. P. (1998) Oxygen isotopic equilibrium between carbon dioxide and water in soils. *Tellus*, **50B**, 163–178.

Tans, P. P., J. A. Berry and R. F. Keeling (1993) Oceanic $^{13}C/^{12}C$ observations: a new window on ocean CO_2 uptake. *Global Biogeochem. Cycles*, **7**, 353–368.

Vogel, J. C. (1980) Fractionation of the carbon isotopes during photosynthesis. *Sitzungsberichte der Heidelbelger Akademie der Wissenschaften, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Klasse Jahrgang 1980. 3.* Abhandlung Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg/New York, pp. 111–135.

Wehr, R., J. W. Munger, J. B. McManus, D. D. Nelson, M. S. Zahniser, E. A. Davidson, S. C. Wofsy and S. R. Saleska (2016) Seasonality of temperate forest photosynthesis and daytime respiration. *Nature*, **534**, 680–683.

Wehr, R. and S. R. Saleska (2015) An improved isotopic method for partitioning net ecosystem-atmosphere CO_2 exchange. *Agric. For. Meteorol.*, **214–215**, 515–531.

Welp, L. R., J. T. Randerson and H. P. Liu (2006) Seasonal exchange of CO_2 and $\delta^{18}O$-CO_2 varies with postfire succession in boreal forest ecosystems. *J. Geophys. Res.*, **111**, G03007.

Wingate, L., J. Ogée, M. Cuntz, B. Genty, I. Reiter, U. Seibt, D. Yakir, K. Maseyk, E. G. Pendall, M. M. Barbour, B. Mortazavi, R. Burlett, P. Peylin, J. Miller, M. Mencuccini, J. H. Shim, J. Hunt and J. Grace (2009) The impact of soil microorganisms on the global budget of $\delta^{18}O$ in atmospheric CO_2. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **106**, 22411–22415.

Yakir, D. and X.-F. Wang (1996) Fluxes of CO_2 and water between terrestrial vegetation and the atmosphere estimated from isotope measurements. *Nature*, **380**, 515–517.

Zhang, Q. L., T. L., Chang and W. J. Li (1990) A calibrated measurement of the atomic weight of carbon. *Chinese Sci. Bull.*, **35**, 290–296.