



マングローブ林生態系における天然有機物の分布特性と機能

木田, 森丸

(Degree)

博士 (農学)

(Date of Degree)

2018-03-25

(Date of Publication)

2019-03-01

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第7211号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1007211>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



博士論文

マングローブ林生態系における天然有機物の分布特性と機能

平成 30 年 1 月

神戸大学大学院 農学研究科

木田 森丸

目次

第1章 序論.....	1
1-1 マングローブ林研究の概観.....	1
1-2 マングローブ林生態系における炭素動態.....	2
1-2-1 土壌有機物.....	2
1-2-2 溶存有機物.....	5
1-3 マングローブ林生態系における土壌有機物（SOM）蓄積機序.....	6
1-4 補足：マングローブ林と土壌学.....	8
第2章 フミン物質分別定量法における塩濃度の影響の検証.....	10
2-1 背景と目的.....	10
2-2 試料と方法.....	11
2-2-1 標準フルボ酸試料.....	11
2-2-2 試料の調整.....	12
2-2-3 バッチ式樹脂吸着・炭素量測定法.....	13
2-2-4 分析条件.....	13
2-2-5 統計解析.....	14

目次

2-3 結果と考察.....	14
2-4 結論.....	17
第3章 マングローブ林生態系における溶存有機物の分布特性	19
3-1 背景と目的.....	19
3-2 試料と方法.....	19
3-2-1 調査地.....	19
3-2-2 サンプルング	20
3-2-3 分析項目	21
3-2-4 統計解析	25
3-3 結果.....	25
3-3-1 分画定量	25
3-3-2 光学的分析.....	27
3-4 考察.....	27
3-4-1 吹通川における溶存有機物の組成とその変化.....	27
3-4-2 溶存有機物の組成と光学的特性との関連性.....	31
3-5 結論.....	32

第4章 マングローブ林土壌有機物の蓄積機序.....	39
4-1 背景と目的.....	39
4-2 試料と方法.....	39
4-2-1 調査地.....	39
4-2-2 サンプルング.....	40
4-2-3 逐次洗浄試験.....	41
4-2-4 再凝集沈殿試験.....	42
4-2-5 分析条件.....	43
4-3 結果.....	43
4-3-1 逐次洗浄試験.....	43
4-3-2 再凝集沈殿試験.....	44
4-4 考察.....	44
4-5 結論.....	47
第5章 マングローブ林土壌有機物の化学構造特性.....	52
5-1 背景と目的.....	52
5-2 試料と方法.....	52

目次

5-2-1 調査地	52
5-2-2 サンプルング	53
5-3-3 土壌物理化学性	53
5-3-4 腐植物質分析	54
5-3 結果と考察	57
5-3-1 土壌コア試料の一般特性	57
5-3-2 腐植物質の元素組成	59
5-3-3 核磁気共鳴分析	60
5-4 結論	62
第6章 総合考察	70
要約	76
謝辞	81
引用文献	82

第1章 序論

1-1 マングローブ林研究の概観

マングローブは熱帯・亜熱帯の汽水域に生息する地球上で唯一の木本塩生植物である。陸上樹木とは大きく異なる形質—根の発達様式、嫌氣的な土壤環境への適応、耐塩性など—によりマングローブは昔から生態学者の興味関心を引いてきた。1980年代にはマングローブ林の生物地球化学的・生態学的機能の研究が進み、時を同じくして都市化や農業、水産業によるマングローブ林の伐採、面積減少が問題視され始めた。人間社会への生態系サービスや沿岸生態系における重要性が明らかになるにつれてマングローブ林保全の機運は高まり（総説：Kelleway et al., 2017）、さらに気候変動により大気中 CO₂ の削減が叫ばれる中で炭素プール（炭素の貯蔵庫、吸収源にも放出源にもなりうる）としての重要性が認識され、2000年代からはマングローブ林炭素プールの定量結果が多く報告されている（Donato et al., 2011; Murdiyarso et al., 2015; Atwood et al., 2017）。加えて、2004年に発生したスマトラ島沖地震（2004年12月26日に発生し、主に津波により23万人近い死者を出した。マグニチュード9.1）を受けてマングローブ林の天然の防波堤としての重要性が認識され、2005年以降はマングローブ林の復元と沿岸保護に関する研究報告数が増加した（Kristensen and Rabenhorst, 2015）。2017年現在においてもマングローブ林研究報告は増加の一途であるが、これは炭素プールとしての重要性を受けて、塩性湿地、藻場、海草（うみくさ）とともに「Blue Carbon」として世界的な保全の対象となったことによるものが大きいであろう（The Blue Carbon Initiative, <http://thebluecarboninitiative.org/>）。しかしながら、現状では都市化やエビの養殖などの水産業などの影響を受けてマングローブ林は世界平均で毎年0.16~0.39%の面積を減少させており、マングローブ林面積の半分を占める東南アジアでは減少率は年0.30~0.67%に上ると試算されている（2000~2012年データ：Hamilton and Casey, 2016）。

なお、「Blue Carbon」プロジェクトはマングローブ林の単位面積当たりの炭素プールの大きさを受けて各国の政府や非政府組織主導で進められており、その究極の効果としては気候変動の緩和を期待したものであるものの、Alongi (2014) の指摘にもあるようにマングローブ林面積を世界的に増加させても大気中 CO₂ の削減に有意に寄与するとは考えづらい。マングローブ林の現在の年間 CO₂ 固定量 (24 Tg C = 24 Mt C) を植樹によって倍増させたとしても、全球の年間 CO₂ 放出量 (30.6 Gt CO₂ = 8.3 Gt C) と比較すればごく僅か (0.58%) にすぎない (Alongi, 2014)。むしろ、保全プロジェクトの短中期レベルでの価値は、マングローブ林が沿岸海域とそこに生息する生物や人間社会に与える多様な生態系サービス (基盤サービス: 沿岸生態系への微量金属元素や栄養供給・土壌形成, 調整サービス: 台風や波浪からの沿岸保護・水質浄化・炭素プール, 供給サービス: 漁場やバイオマス燃料供給・生物への生息環境の提供・生物多様性, 文化的サービス: エコツーリズム, など) によるところが大きいであろう。本研究においてはそうした考えに立脚し、特にマングローブ林の基盤サービスおよび調整サービスの多くにとって重要な因子であると考えられる天然有機物の分布や特性の解析を目的として研究をおこなった。続く第2節においてマングローブ林生態系における炭素動態を土壌有機物 (Soil Organic Matter, SOM) および溶存有機物 (Dissolved Organic Matter, DOM) に絞って概説し、それら天然有機物のマングローブ林生態系サービスにおける重要性を示す。

1-2 マングローブ林生態系における炭素動態

1-2-1 土壌有機物

マングローブ林は河川や海と接しているので水の動きに伴う物質動態が複雑で動的である。通常の陸上植生においては植物が光合成により同化した炭素は落葉落枝 (リター) として直下の土壌に供給されるが、マングローブ林においては潮汐によりリターは沿岸海域へと流

出する。その程度はマングローブ林の条件（地形、降雨量、樹種、潮汐や生物による摂食の程度など）により様々であり、世界平均ではリターのおよそ半分が沿岸海域へと流出するようである（Jennerjahn and Ittekkot, 2002）。結果として、陸域から海洋への有機態炭素の全球移動において、実に11%をマングローブリターが占めるとも概算されている（Jennerjahn and Ittekkot, 2002）。

潮汐によって流出されなかった残りの有機物は土壌へと供給され、土壌表層や土壌内で摂食および分解、変質を受ける。土壌有機物（Soil Organic Matter, SOM）を起点とした好氣的もしくは嫌氣的な腐食連鎖の始まりである。以前はマングローブ林土壌における SOM 分解は好氣的分解が卓越すると考えられていたようであるが、現在ではそれぞれのマングローブ林の土壌環境により状況は異なることが明らかになっている（Alongi et al., 1998, 1999; Kristensen and Alongi, 2006）。好氣的な SOM 分解による酸素消費速度は一般にマングローブ林土壌への酸素の拡散浸透速度より早く、土壌かく乱のない場合は数 mm 以深においては直ちに酸素が欠乏する（Kristensen et al., 2000）。そのような嫌氣状態では嫌氣性細菌が幾種もの電子受容体（ Mn^{4+} , NO_3^- , Fe^{3+} , SO_4^{2-} ）を利用して SOM 分解の大部分を担う。嫌氣性細菌が獲得するエネルギーは $Mn^{4+} > NO_3^- > Fe^{3+} > SO_4^{2-}$ の順に大きく、優先的に消費される傾向にあるものの（Kristensen et al., 2008）、主として利用される電子受容体の種類は、マングローブ根や埋込動物（マングローブ林に生息する土壌動物）などの土壌かく乱要因の量・種組成や、土壌粒径分布・SOM 量・酸化還元電位などの土壌物理・化学性によって左右される（Kristensen et al., 2000）。SOM 分解のうち、硫酸還元が100%となる場合や（Alongi et al., 1998, 1999）鉄還元が80%を占める場合もあれば（Kristensen et al., 2000）、好氣的分解が支配的な場合もあることから（Alongi et al., 2001）、マングローブ林土壌における SOM 分解過程の複雑さが見てとれる。

マングローブ林生態系サービスにおける SOM の重要性は炭素プールの担い手であることがまず挙げられる。マングローブ林生態系の単位面積当たり世界平均炭素プールは 956 t

C ha^{-1} と試算されている (Alongi, 2014). 同緯度の他の生態系の炭素プールは, 593 t C ha^{-1} (塩性湿地) および $142.2 \text{ t C ha}^{-1}$ (海草), 241 t C ha^{-1} (熱帯雨林), 408 t C ha^{-1} (PEAT性スワンプ) であることから, マングローブ林が単位面積当たり多くの炭素を蓄えていることがわかる (Alongi, 2014). マングローブ林炭素プールの内訳をみると枯死根を含む SOM がもっとも大きな炭素プールを形成しており, その割合は 75%にのぼる (Alongi, 2014). 全 SOM の約三分の一を枯死根だと仮定すると (Alongi et al., 2003, 2004), 枯死根を除いた SOM (狭義の土壤有機物) はマングローブ林炭素プールの 50%を占めることになる.

マングローブ林生態系サービスにおける SOM の重要性の 2 点目は, 生元素の循環や汚染物質の移動集積に影響を与える生物地球化学的役割が挙げられる (Dodla et al., 2012). マングローブによって同化された C, N, P, S などの生元素はリターなどとともに土壤に供給され, SOM の一部として供給・消費や流入・流出といった動的平衡状態下において維持される. なお, マングローブ林においては N および P のどちらも欠乏状態にあることが多く, 一時的な N・P の供給のあった場合にマングローブがそれらを積極的に利用して成長を促進させることから示唆されるように, マングローブ林生態系は N・P の吸収源として働いていると捉えることができる (Kelleway et al., 2017). また, SOM の多くは両親媒性であるため, 重金属や極性有機汚染物質は化学結合によって, 非極性有機汚染物質は非特異的な疎水的相互作用によって土壤中に保持される (Li et al., 2003). こういった機能性は SOM の化学構造特性によって異なるため, 対象とする土壤ごとに SOM の化学構造特性を分析することが重要になる. 第 5 章においては低 SOM 含量のマングローブ林が世界的には主要であるにも関わらずそういったマングローブ林の SOM 研究は不足していることを指摘し, 石垣島吹通川河口マングローブ林の SOM 特性を分析して SOM 画分別の生物地球化学的・生態学的役割を考察する.

1-2-2 溶存有機物

マングローブ林は SOM の大きな炭素プールであるだけでなく、有機物の海洋への重要な供給源（放出源）としても機能する。これは、沿岸に位置する立地条件、狭い面積に対して多くの炭素を蓄えていること、河川・潮汐による水の動きと共に有機物が移動すること、の3条件が重なった結果と考えられる。従来は、マングローブ林由来のリターを主とする固形有機物が沿岸海域の二次生産（底生性従属栄養生物によるバイオマス生産）の直接的なエネルギー源として重要であるとする「Outwelling 仮説」が1960年代後半から80年代初頭にかけて Odum らによって提唱・検証されたが（Odum, 1968; Odum and Heald, 1972; Odum et al., 1979）、現在ではその効果は小さいかマングローブ林のごく近傍の水域（direct vicinity）に限定されるとの考えが主流になっている（Kristensen et al., 2008）。その大きな理由の一つが、流出したリターからの溶存有機物（Dissolved Organic Matter, DOM）の溶脱である。マングローブリター分解は初期の急速な分解とその後の緩慢な分解の二段階で進行し、初期段階（落葉後2, 3週間スケール）のDOM溶脱によってリターは約6割の重量を損失する（Benner et al., 1990; Wafar et al., 1997）。溶脱したDOMは、光分解や微生物分解を受けながらも水の流れに伴って沿岸、そして外洋へと拡散する。海洋に流入するマングローブ林由来DOMの全球規模での量的寄与を推定した有名な研究で、陸域から海洋へ流入するDOMの10%はマングローブ林由来の難分解性DOM（光・微生物分解を受けた後の難分解性残さ）であるとの報告もある（Dittmar et al., 2006）。

マングローブ林の多様な生態系サービスにおいて、最も生態系への影響が大きいと思われるDOMの役割は微量金属元素および栄養塩の沿岸海域への供給である。DOMは水への相対的な溶解性によりフミン物質（疎水性画分；Humic Substances, HS）と非フミン物質（親水性画分；non-HS, NHS）に大別することができる（Thurman and Malcolm, 1981）。HSはカルボキシ基やフェノール性ヒドロキシ基に富む化学構造特性を有しており微量金属元素との複合体形成能が高い（Catrouillet et al., 2014）。特に鉄との複合体形成能は海洋の生

態系維持に決定的な重要性をもたらし、通常であれば中性 pH・高塩濃度下で沈殿して海洋の一次生産者に利用されなくなる鉄を溶存態に保つ働きがある（総説：Gledhill and Buck 2012）。一方の NHS は生体由来のタンパク質、脂質、アミノ酸、糖などを含み、生分解性が高く従属栄養微生物への C, N, P などの供給源となる（microbial loop concept：Tranvik, 1992）。このように、海洋生態系を支える DOM の大きな放出源としてのマングローブ林の重要性は炭素プールと対をなすマングローブ林のホットトピックスであり、関連する研究報告は 2000 年以降増加している（Dittmar and Lara, 2001a; Dittmar et al., 2001, 2006, Maie et al., 2008, 2012, 2014; Chen et al., 2013; Cawley et al., 2014; Ho et al., 2017）。地形や水文環境によって大きく変動するものの、マングローブ林から沿岸海域へ流出する有機態炭素量の 90%以上を DOM が占める場合もあることが報告されている（e.g., Sutula et al. 2003; Ray et al. 2015）。DOM の流出量を測ることが目的であれば全量分析で十分であるが、その生物地球化学的・生態学的機能を念頭に置くのであれば HS/NHS に分画してそれぞれの動きを把握することが有効である。第3章においては、DOM を HS/NHS に分画定量することでマングローブ林生態系における DOM の詳細な分布特性と組成変化を分析した。

1-3 マングローブ林生態系における土壌有機物（SOM）蓄積機序

ここまでで概述したようなマングローブ林生態系における精力的な炭素動態研究にもかかわらず、なぜマングローブ林は地下部に大きな炭素プールを持ちうるのかという理由は実は明らかでない（Kida et al., 2017b）。生態学的観点ではマングローブの光合成による炭素固定能力の高さと塩性・還元的環境による SOM 分解（土壌呼吸）の遅さの結果として生態系正味の炭素固定能力（Net Ecosystem Production, NEP）が高いと説明されてきた（Alongi et al., 2000; Komiyama et al., 2008）。このことは、チャンバー法で測定したマングローブ林土壌表面からの CO₂ ガス放出量が少ない（土壌呼吸速度が遅い）ことが理論的根拠となっている（Alongi et al., 2000, 2001）。しかしながら、常に水に漬かっているマングローブ林で

は土壤呼吸の多くが溶存無機炭素 (Dissolved Inorganic Carbon, DIC) として間隙水に溶存し、測定されることなく系外に流出してしまっており、土壤呼吸を過小評価してしまっていることが近年問題提起された (Bouillon et al., 2008a; Alongi et al., 2012). 例えば、海洋へ流出する DIC に占めるマングローブ林の寄与を試算した初の定量報告例として、Maher et al. (2013) は地下水からクリークへ潮汐移流 (advective tidal pumping) によって流出したマングローブ由来 DIC が 93~99% を占めると試算している. その一方で、マングローブのバイオマスが陸上生態系に比べて地下部 (根) に相対的に多いことも SOM 蓄積に有利に働くと考えられている (Komiya et al., 2000; Ong et al., 2004; Castañeda-Moya et al., 2013). しかし、生根からの浸出物 (exudation) の寄与は未知であり、枯死根の土壤炭素プールへの量的寄与も 1 m 以浅の土壤炭素プールへの寄与を定量した数例を除きほとんど報告されていないために (Alongi et al., 2003, 2004), マングローブ林の光合成による炭素固定のうち、おおよそ半分の行方が現在でも明らかになっていない (Breithaupt et al., 2012). このように、生態学分野においてもマングローブ林生態系における炭素動態の定量的把握とその評価指標が課題として挙げられており (大塚, pers. comm.), マングローブ林は分野の垣根を越えて研究に取り組む必要のある生態系であることに間違いない.

マングローブ林が陸上の森林生態系ともっとも異なる点は、海水に漬かる機会を持つという点に尽きる. この特殊な環境は SOM の挙動に対して以下のような可能性をもたらす. すなわち、高塩濃度 (高イオン強度) の影響による SOM の凝集沈殿である. 古くから、河口域において塩濃度の上昇に伴って河川中の DOM が凝集沈殿することは Sholkovitz らの一連の研究によってよく知られている (Eckert and Sholkovitz, 1976; Sholkovitz, 1976, 1978; Sholkovitz et al., 1978; Sholkovitz and Copland, 1981; Elderfield et al., 1990). ところが、マングローブ林の土壤中に存在する SOM の挙動に対して海水塩の影響を評価した研究は見当たらない. 第 4 章ではこの点を考察するモデル実験をおこない、マングローブ林土壌の SOM 蓄積メカニズムに新たな可能性を提示することを試みた.

1-4 補足：マングローブ林と土壌学

マングローブが根を下ろす支持体を堆積物 (sediment) と呼ぶか土壌 (soil) と呼ぶかは議論の余地がある。これはどういうことであろうか。マングローブ林は陸域と海洋の間に位置することから多様な研究分野が関わっている。マングローブ林生態系における物質循環にテーマを限定しても土壌学および堆積学、地質学、陸水学、海洋学、水文学、陸域・海洋双方の生態学・生物地球化学、と幅広い。Kristensen and Rabenhorst (2015) によると、マングローブ林はもともと海洋の研究領域に属する研究者コミュニティによって主として研究がなされてきた経緯があり、それらの研究者は一貫して「堆積物」と表現した。一方で、1970年代から陸域の研究者が研究を始め、特に土壌学者は土壌生成的な層位が見いだされること、根を生やす植物 (マングローブや湿生植物) の存在を根拠として「土壌」と表現し始めた (Demas et al., 1996; Demas and Rabenhorst, 1999)。こうした流れを受け、アメリカ農務省の土壌分類体系「Soil Taxonomy」は第2版において「Subaqueous soil」を新設した (Soil Survey Staff, 1999)。この「Subaqueous soil」は潮間帯 (満潮時と干潮時の海岸線との帯状部分) のみならず、潮下帯 (干潮時でも海水に漬かっている部分) のうち水深 2.5 m 以浅を含む。問題であったのは、この新分類体系が海洋の研究者コミュニティとの議論を経て設定されたものではなかったため、沿岸海域の研究に従事する研究者間で用語法に齟齬が生じてしまったことである。その結果として、同一の研究対象 (土壌・堆積物) の同一の分析項目 (例えば塩濃度や pH といった基礎的な項目) を異なる分析手法で分析し、得られた結果の相互比較が困難であったり誤解を招くことにつながった。この点は今後整理される必要があるものの、本研究においては一貫して土壌学の観点に基づいて分析及び結果の解釈をおこなった。詳細に関しては該当する章 (第5章) の試料と方法の説で述べる。

なお、*Aquatic Botany* 誌の Special Issue 「Mangrove ecology – applications in forestry and coastal zone management」として 12 編の総説が 2008 年 89 巻 2 号に上梓されている (<https://www.sciencedirect.com/science/journal/03043770/89/2>)。カバーする研究領域は

第1章 序論

マングローブ林の生態系生態学や生物地球化学から社会学，経済学まで多岐に渡っており，本博士論文の執筆にも大いに役立ったことを記す。

第2章 フミン物質分別定量法における塩濃度の影響の検証

2-1 背景と目的

序論 (1-2-2) で述べたようにマングローブ林における DOM の生物地球化学的・生態学的機能を詳細に調べるためには DOM を HS と NHS とに分画定量することが必要である。HS の定量法や半定量法として報告されている方法は幾種類かある。すなわち、代表的なものに限っても、紫外・可視吸光光度法や蛍光分光法といった光学的分析 (クロマトグラフィーの検出部に吸光や蛍光を用いるものも含む) (Hautala et al., 2000; Dilling and Kaiser, 2002; Wu et al., 2007; Palomeque and Ortiz, 2013; Wang et al., 2016), 化学発光法 (Cheng et al., 2007), HS の金属 (鉄・銅・モリブデン) との複合体形成能力を利用したボルタンメトリー法 (Chanudet et al., 2006; Laglera et al., 2007; Pernet-coudrier et al., 2013; Whitby and van den Berg, 2015), そして HS の分離精製にも用いられる DAX-8 樹脂による分画を通じて炭素濃度 (Dissolved Organic Carbon, DOC) を測定する樹脂分画定量法がある (Imai et al., 2001; Tsuda et al., 2012; Watanabe et al., 2012)。それぞれの手法の利点・欠点は Filella (2010) に詳しいのでここでの詳細説明は割愛するが、樹脂分画法以外の方法は測定対象の組成や化学構造特性に分析感度が依存するという性質があり、異なる水系間での分析結果の比較はできない。そのため、通常は国際腐植物質学会 (International Humic Substances Society, IHSS) の頒布する標準試料に換算した相対濃度で結果の報告がなされる。樹脂分画法の測定結果は絶対定量値なので研究間での比較が容易である。さらに、測定される炭素は DOM のおよそ半分を占める最も基本的な構成元素であり、DOM の動態を解析する場合、炭素濃度ベースで評価することが最も合理的である。

一般的に、HS はろ紙の孔隙サイズ (一般に 0.2~1 μm) により操作的に溶存態と粒状態に分別され、様々な水系において HS の多くは溶存態で存在している。HS は高分子電解質としての性質を有しており (Ephraim et al., 1986), pH や塩濃度のような溶液の化学性によ

り両者は相互に移行しうる。多くの研究において研究対象となるのは天然水のろ過後の溶存態画分であるが、溶存態 HS の DAX-8 樹脂への吸着挙動に対する塩濃度の影響は確認されていない。HS が塩濃度に依存して河口で凝集沈殿することはよく知られているが (Eckert and Sholkovitz, 1976; Sholkovitz et al., 1978; Fox, 1983), 溶存態画分のサイズや立体構造もまた溶液の塩濃度の変化により影響を受けている可能性がある。つまり、塩濃度が上昇すると、溶存態 HS と DAX-8 樹脂との疎水的相互作用は何らかの影響を受ける可能性があり、塩を含む水域における DAX-8 樹脂を用いた分画定量値や分離精製された HS の質は、認知されないままに変化しているかもしれない。本章では、HS と DAX-8 樹脂との疎水的相互作用が溶液の塩濃度の上昇によってどのような影響を受けるのかを確かめ、塩濃度の変動するマングローブ林生態系における DAX-8 樹脂を用いた分画定量法 (バッチ式樹脂吸着・炭素量測定法: Tsuda et al. 2012) の妥当性を検証した (Kida et al., 2016)。

2-2 試料と方法

2-2-1 標準フルボ酸試料

海水塩の影響程度は HS の化学構造特性により異なることが想定されたため、化学構造特性の対照的な標準試料を用意した。すなわち、芳香族性試料として Suwannee River フルボ酸 (Suwannee River Fulvic Acid, SRFA, 1S101F, 芳香族度 0.33) と Nordic Reservoir フルボ酸 (NRFA, 1R105F, 芳香族度 0.46) を、脂肪族性試料として Pony Lake フルボ酸 (PLFA, 1R109F, 芳香族度 0.15) と Lake Biwa フルボ酸 (LBFA, 芳香族度 0.21) を IHSS および日本腐植物質学会から購入して使用した。これら 4 つの試料は全て同一の方法 (Thurman and Malcolm, 1981) により精製されており、化学構造特性などの情報は公表されている (Fujitake et al. 2009; IHSS HP <http://humic-substances.org/>)。HS は酸への溶解性の違いによりフルボ酸 (酸性で可溶) とフミン酸 (酸性で沈殿) に操作上分画されるが、モデル試料

としてフルボ酸のみを用いた理由は以下のとおりである。すなわち、本研究で想定する海水中の HS は 90%以上がフルボ酸であること (Thurman, 1985), そして本研究で用いるバッチ式樹脂吸着・炭素量測定法の実験デザインでは, 試料を酸性化した際に塩濃度によらず全てのフミン酸は樹脂吸着もしくは沈殿してしまい, 塩濃度の影響を評価することが不可能なためである。

2-2-2 試料の調整

各粉末試料 10 mg をバイアルに量り取り 0.1 M NaOH 水溶液 5 mL を加えた。完全溶解を確認後, 1 L 容メジューム瓶に移し超純水を約 600 mL 加えたのち, 0.1 M HCl を用いて pH を中性 (6.9~7.0) に合わせた。フルボ酸は全ての pH 領域で溶存するものの, 一度アルカリ性にしてから中和したほうがフルボ酸分子を完全にかい離させることができる (Swift, 1989)。特に非有色水系から精製された脂肪族性に富むフルボ酸は純水への溶解性が低く, 少量のアルカリ添加は他の論文でもおこなわれている (e.g., Fujii et al., 2014)。この一連の作業で NaCl が生成されるが, その濃度は 0.1×10^{-2} M 以下であり無視できる。DAX-8 樹脂との疎水的相互作用に影響を及ぼすと考えられるフルボ酸分子の三次元立体構造 (conformation) は溶液の pH および塩濃度, 試料濃度により変わりうるが, フルボ酸試料濃度の異なる試験区は用意しなかった。これは, 本実験で DAX-8 樹脂吸着をおこなう条件のように pH を酸性側に大きく下げる場合は pH の影響が試料濃度の影響に打ち勝つためである (Chen and Schnitzer, 1989)。よって, 試料濃度は塩の影響を検出でき, かつ使用した定量法の適用上限 (36.9 mgC L^{-1} : Tsuda et al. 2012) に収まるよう 10 mgC L^{-1} 前後に設定した。

微生物分解を避けるために, 試料液をクリーンベンチ内で無菌的に $0.22 \mu\text{m}$ のメンブレンフィルター (JGWP, Millipore, Japan) を用いてろ過除菌した。器具の滅菌にエタノールを用いると DOC 汚染が危惧されるために器具は全て 80°C 一晚の乾熱滅菌に処し, メンブ

レンフィルターはクリーンベンチ内で紫外線照射に処した。それぞれのフルボ酸試料溶液はガラス瓶5本に110 mL ずつ分注した。瓶には事前に適切な量の塩(NaCl, CaCl₂, MgCl₂)を入れて乾熱滅菌に処しておき、それぞれの瓶内溶液の塩分濃度は Deslouis et al. (2006) に準拠した人工海水 [NaCl (0.5 M), CaCl₂ (1.05×10^{-2} M), MgCl₂ (5.5×10^{-2} M)] の0, 1/4, 1/2, 3/4, 1倍 (0~1ASW と表記する) 相当となるように設定した。完全に塩を溶かした後、平衡化のために25°Cで48時間静置した。その後、ガラス繊維ろ紙 (GF-75, Toyo Roshi Kaisha, Japan) でろ過をして沈殿を取り除いたものを試料ろ液とした。全ての試薬は特級グレードのものを用い、使用した全てのガラス器具は事前に酸洗浄し、マッフル炉を用いて450°Cで3時間以上燃焼した。なお、マッフル炉に収まりきらない器具 (吸引瓶) はクロム酸硫酸混液を用いた加温処理によって有機物除去をおこなった。

2-2-3 バッチ式樹脂吸着・炭素量測定法

試料ろ液に対してバッチ式樹脂吸着・炭素量測定法 (Tsuda et al., 2012) を用いて樹脂吸着量の定量をおこなった。ただし、原法に微修正を加えており、修正点の詳細は藤嶽・木田 (2018) を参照されたい。樹脂吸着の理論は、HS 分子の疎水性部分が樹脂の基材であるアクリルエステルに疎水的相互作用により吸着もしくは分配されることによる (Thurman, 1985)。

2-2-4 分析条件

炭素濃度測定は全有機炭素計 (TOC-V_{CPH}, Shimadzu Corporation, Japan) を用いて680°C 燃焼触媒酸化方式で測定した。すなわち、試料溶液を燃焼管注入前に装置備え付けのシリンジ内で2 M HCl を1.5%添加し、キャリアガスを90秒間スパーズしてDICを除去した (NPOC 測定、ただし測定試料液が酸性の場合の酸添加は省略)。装置の校正にはフタル酸

水素カリウム（試薬特級，Wako Pure Chemical Industries, Japan）を用い，装置の自動希釈機能を用いて原点を含めた5点検量線を作成した．1試料に対して原則3回の注入・測定をおこない（「多段注入」はON），結果は3回測定の平均値を用いた．3回繰り返し測定の分析精度が変動係数（CV）で2.0%を上回った場合は追加測定をおこなって最大5回の注入・測定をおこなった．後者の場合は外れ値を1つないしは2つ除外し，残りの3回分の平均値を用いた．なお，この複数回測定の設定は装置のデフォルト設定である．また，検出限界の公称値は $4\mu\text{gC L}^{-1}$ であるが，実用上の定量下限（超純水10回測定の標準偏差の10倍）は 0.05 mgC L^{-1} 程度である．

2-2-5 統計解析

塩濃度の異なる試験区間の樹脂吸着割合の比較には統計解析ソフト（SPSS 17.0 statistics, IBM）を用いて一元配置分散分析を実施したのち，Tukey-HSD検定（有意水準： $P < 0.05$ ）によって試験区間平均の多重比較をおこなった．

2-3 結果と考察

標準試料の定量結果を表2-1に示した．LBFAとPLFAは塩濃度に依存した試料溶液のDOC変化はほとんどなく，塩の添加による凝集沈殿は生じなかったと考えられる．SRFAとNRFAのDOCは塩濃度の上昇とともに減少傾向を示し，塩濃度の増加により凝集沈殿してろ過により取り除かれたことを示している．特に，1/4ASWから1ASWまでDOCは塩濃度の上昇に対してほぼ直線的に減少し，SRFA・NRFAそれぞれにおいておおよそ7%のDOC減少が認められた．塩濃度の変化に対するこの凝集特性の違いは標準試料の化学構造特性の違いによると考えられる．LBFA・PLFAは脂肪族割合が高くカルボキシ基割合と芳香族割合が低く，SRFA・NRFAはその逆の特性を有する．カルボキシ基やフェノール性

ヒドロキシ基のような酸性官能基は塩濃度のような溶液の物理化学特性にとっても敏感であり (Baalousha et al., 2006; Yu et al., 2010), 溶液の塩濃度が高い条件下では官能基にカチオンが電氣的に結合してフルボ酸の負荷電が減少し, フルボ酸分子同士の凝集沈殿につながる (homoaggregation : Tipping and Ohnstad 1984; Buffle et al. 1998).

LBFA と PLFA は塩濃度勾配に応じた樹脂吸着割合の変化は示さず, LBFA では 87.1~88.0%, PLFA では 66.4~67.1%の吸着が認められた. 一方, SRFA と NRFA は塩の添加により樹脂吸着割合がわずかに減少した. その傾向を詳しくみると, 塩濃度が 0 ASW から 1/4ASW になった時にもっとも減少し, 0ASW における吸着割合はそれぞれ 76.3%と 83.3%だったものの, 1/4ASW においては 73.7%と 80.6%に減少した. その後は塩濃度が上昇しても樹脂吸着割合に大きな変化は認められなかった. 同様に, Baalousha et al. (2006) も溶液の CaCl_2 の濃度を上昇させた際に, SR フミン酸のサイズが 0.02 M CaCl_2 までの濃度範囲で大きく増加し, それ以降はあまり変化しないという二段階の凝集様式を報告している. 本実験の結果はフルボ酸分子のサイズや立体構造の変化など何らかの構造変化が生じて DAX-8 樹脂への吸着力が低下したことを示唆しているが, それでもなお, 塩の影響により樹脂に吸着しなくなった画分の, DOC に対する相対的な寄与は SRFA・NRFA 共に僅か 2.6%であり, 海水塩がフルボ酸と DAX-8 樹脂の疎水的相互作用に及ぼす影響は些細だと考えた.

SRFA と NRFA の吸着割合の減少理由は, 次の 2 つの塩濃度範囲に分けて考える必要がある. 0~1/2ASW までの塩濃度範囲と 1/2~1ASW までの塩濃度範囲である. 0~1/2ASW の範囲では, DOC が減少しているにも関わらず樹脂非吸着画分は増加していることから, 溶液の塩濃度上昇に対応してフルボ酸と DAX-8 樹脂との疎水的相互作用が低下したと考えられる. 一方, 1/2~1ASW までの塩濃度範囲では, DAX-8 樹脂への吸着画分・非吸着画分ともに濃度が減少している. このことは, 0~1/2ASW の範囲までにおいてフルボ酸と DAX-8 樹脂間の疎水的相互作用を低下させる働きは頭打ちになっていることを示唆している. こ

の条件下では、DAX-8 樹脂吸着画分・非吸着画分それぞれのろ過によって除去される凝集量の違いが定量割合を決定する要因であろう。

Pettersson and Rahm (1996) はイオン強度の上昇により DAX-8 樹脂と HS 間の疎水的相相互作用は強まると推論しているものの、明確な証拠は何も示していない。Kruger et al. (2011) は DAX-8 樹脂ではなく C18 カートリッジを用いて河川・湖沼水に対して本研究と同様の実験をおこない、塩濃度の上昇 (0, 10, 30 ppt) により吸着割合の増加・減少どちらも認められ、分離精製物の質も少し変化したことを報告している。吸着割合の増加・減少や質的变化とその程度は試料の起源や組成に応じて異なり、汽水域のような塩濃度の変動する環境においてはこの点に特に注意を要する。すなわち、源流—河口—海というスペクトルの中で DOM の分離精製をおこなった場合に精製物の質的变化が認められたとして、それが DOM の真の質的变化を示すのか精製手法の特性として持ち込まれた質的变化なのか判断がつかないからである。本研究において DAX-8 樹脂が塩濃度変化に応じた HS の吸着特性に大きな変化を示さなかったことは、塩濃度の変動するマングローブ林生態系における DAX-8 樹脂を用いた HS の定量的のみならず定性的分析の安定性・信頼性を保証するものである。

なお、全てのフルボ酸標準試料において樹脂吸着割合は 88.0%以下だった。フルボ酸標準試料はもともと DAX-8 樹脂を用いて天然水から分離精製されているため、理論的にはフルボ酸のみを溶かした標準試料溶液の樹脂吸着割合は 100%になるはずであるが、そうはならない。なぜなら、Tsuda et al. (2012) も指摘しているように、フルボ酸試料精製過程 (IHSS 法による DAX-8 からのアルカリ溶出後) と凍結乾燥して粉状試料にした後の保存過程において、いくらかの分解と変質が起りうるからである。IHSS によって頒布されている標準試料は化学組成値のみが保証されているのであって、再溶解された標準試料の全量が DAX-8 樹脂に再吸着することは保証されていない。このことは当該研究分野においても周知徹底がなされているとは言えず、留意する必要がある。

2-4 結論

脂肪族性試料の樹脂吸着割合は塩濃度により変化せず，芳香族性試料の樹脂吸着割合は塩濃度の上昇に応じて減少したものの，その減少程度は軽微だった．以下のことが結論として導かれる．すなわち，海水までの塩濃度は HS と DAX-8 樹脂間の疎水的相互作用に大きな影響は与えず，DAX-8 樹脂を用いた HS の分別定量結果は塩濃度に左右されない．さらにこのことは，DAX-8 樹脂により分離精製された HS の化学構造特性は塩濃度に左右されず，塩濃度の異なる水系同士でもそれらの結果を互いに比較できることを意味している．この結果は，淡水・汽水・海水を含む様々な水環境における DAX-8 樹脂を用いた HS の分別定量と分離精製の結果を支持するものである．この結果を受け，第3章・第4章・第5章において，塩濃度の変動するマングローブ林生態系における DAX-8 樹脂を用いた HS/NHS 分画定量および HS の抽出精製と特性評価をおこなった．

表 2-1. 標準フルボ酸試料の塩濃度による定量割合の変化. 試料名の横の数字は海水塩濃度と比較した塩濃度比を示す (Kida et al., 2016 を一部改変).

Sample name		DOC concentration (mgC L ⁻¹)	Unabsorbed concentration (mgC L ⁻¹)	Quantified concentration (mgC L ⁻¹)	Quantified proportions (%)
Aliphatic	LBFA 0	8.47	1.03 ± 0.01	7.44 ± 0.01	87.8 ± 0.10 a
	LBFA 1/4	8.46	1.09 ± 0.03	7.37 ± 0.03	87.1 ± 0.33 a
	LBFA 1/2	8.44	1.09 ± 0.02	7.35 ± 0.02	87.1 ± 0.29 a
	LBFA 3/4	8.46	1.04 ± 0.03	7.42 ± 0.03	87.7 ± 0.37 a
	LBFA 1	8.48	1.02 ± 0.04	7.46 ± 0.04	88.0 ± 0.43 a
Aliphatic	PLFA 0	8.48	2.79 ± 0.08	5.69 ± 0.08	67.1 ± 1.00 a
	PLFA 1/4	8.48	2.84 ± 0.01	5.64 ± 0.01	66.5 ± 0.18 a
	PLFA 1/2	8.46	2.85 ± 0.01	5.62 ± 0.01	66.4 ± 0.14 a
	PLFA 3/4	8.45	2.80 ± 0.02	5.65 ± 0.02	66.9 ± 0.26 a
	PLFA 1	8.46	2.85 ± 0.02	5.61 ± 0.02	66.3 ± 0.24 a
Aromatic	SRFA 0	9.18	2.17 ± 0.03	7.01 ± 0.03	76.3 ± 0.29 a
	SRFA 1/4	9.16	2.41 ± 0.02	6.75 ± 0.02	73.7 ± 0.25 b
	SRFA 1/2	9.02	2.43 ± 0.01	6.58 ± 0.01	73.1 ± 0.13 d
	SRFA 3/4	8.81	2.36 ± 0.02	6.44 ± 0.02	73.2 ± 0.19 cd
	SRFA 1	8.56	2.26 ± 0.01	6.30 ± 0.01	73.6 ± 0.06 bc
Aromatic	NLFA 0	8.31	1.39 ± 0.03	6.92 ± 0.03	83.3 ± 0.38 a
	NLFA 1/4	8.31	1.61 ± 0.04	6.70 ± 0.04	80.6 ± 0.47 b
	NLFA 1/2	8.02	1.68 ± 0.02	6.34 ± 0.02	79.1 ± 0.19 c
	NLFA 3/4	7.86	1.65 ± 0.03	6.21 ± 0.03	79.0 ± 0.42 c
	NLFA 1	7.70	1.63 ± 0.01	6.07 ± 0.01	78.8 ± 0.18 c

Errors are standard deviations.

Different letters in the same FA sample indicate significant differences between treatments at P < 0.05 according to Tukey-HSD adjustment.

第3章 マングローブ林生態系における溶存有機物の分布特性

3-1 背景と目的

DOM を生物地球化学的機能の異なる HS・NHS に分画定量して動態を把握することがマングローブ林生態系サービスを評価する上で重要であることは序論 (1-2-2) で述べた。しかしながら、分析対象としては希薄な DOM 中の HS 組成を分析することは容易ではなくその定量的評価は少ない。半定量分析としては、三次元励起蛍光分析 (Excitation Emission Matrix Spectroscopy, EEM) に並列因子分析 (Parallel Factor Analysis, PARAFAC) を適用し (EEM-PARAFAC)、マングローブ林からフミン物質様 (Humic-like) 成分が供給されていることが示された (e.g., Cawley et al. 2014)。我々の研究室では DAX-8 樹脂を用いた高精度な HS 定量法を開発し (樹脂吸着・炭素量測定法: Tsuda et al. 2012)、日本各地の湖沼をはじめとする世界の様々な水系における HS 定量データならびに DOM 組成と環境要因との関係性を報告してきた (Kida et al., 2015, in revision a, in revision b; Sato et al. submitted; Tsuda et al. 2016)。当該定量法は海水塩による影響が無視できる範囲であるとの第2章の結果を受け、本章では、マングローブ林流域河川における HS/NHS 分画定量をおこない、源流—マングローブ林内—海の DOM の特性および組成変化の把握を試みた (Kida et al., 2017a)。

3-2 試料と方法

3-2-1 調査地

沖縄県石垣島吹通川河口のマングローブ林と周辺域を調査地とした (図 3-1)。このマングローブ林は石垣島の中では名蔵湾、宮良川河口マングローブ林に次ぐ大きさであり約 22 ha の面積を有する (Google Earth Pro を用いて測定)。石垣島は亜熱帯気候に属し、1981 年から 2010 年 (30 年間) の平均気温は 24.3°C、平均湿度は 75%、平均降水量は 2107 mm であ

る（気象庁，石垣島地方気象台）．明瞭な雨季と乾季はないものの，5月から10月にかけて梅雨と台風で雨が多く，この期間の降水量の月間平均は211 mm，年間降水量に占める割合は60%である．吹通川マングローブ林には淡水供給源となる数本の小河川が流入しており，1つの狭い河口に収束して東シナ海に流出している．水文環境によるマングローブ林のタイプ分けとしては河口型（estuarine type）である．河川面積は約1.5 haであり（マングローブ林面積の6.8%），ヤエヤマヒルギ（*Rhizophora stylosa/mucronata*）およびオヒルギ（*Bruguiera gymnorhiza*）が生育する．集水域には田畑（主にサトウキビ畑）が点在する程度であり，マングローブ林への人為的影響は軽微である．1日2回の明瞭な潮汐の干満があり，満潮時にはマングローブ林内は上流部までほぼ全て海水に没し，干潮時にはくぼ地を除いて土壌表面は空気にさらされる．

3-2-2 サンプルング

吹通川の源流部から湾にかけて7地点から表層水を採取した（図3-1に黒丸で示す）．2013年5月から2016年6月にかけておおよそ季節に1回，合計15回のサンプルングをおこない103試料を得た．サンプルングは1回の満潮時を除きすべて干潮時におこない，市販の550 mL 容飲料水 PET ボトルに直接採水した（容器からの DOC 汚染は 0.05 mgC L^{-1} 程度）．採水時にはコンパクト電気伝導率計・pH 計（LAQUAtwin シリーズ，HORIBA, Japan）を用いて電気伝導率（Electrical Conductivity, EC）および pH の現場測定をおこなった．満潮時にサンプルングをおこなった場合，源流から数えて3番目の試料以降はほぼ海水と同じ DOM 組成と EC 値であったので本研究の目的にはそぐわないと判断し，3-3以降の結果の議論からは除外した．

サンプルング日によって降雨の影響程度が異なっており，前回の降雨後24時間以上経った干潮時を「ベースフロー」と定義した（15回のサンプルングのうち9回がベースフロー条件であった）．2015年8月24~26日には3日間にわたって採水をおこない，台風による

豪雨によって集水域からマングローブ林内に流入する DOM の量および特性の変化を追跡した。23日の夜20時ごろに平成27年台風第15号が石垣島を通過しており観測史上当地点1位となる最大瞬間風速 71.0 m s^{-1} の猛烈な風が観測された。降水量は23日は241 mm, 24日は33 mm, 25日は54 mm, 26日は14 mmであった(気象庁, 石垣島地方気象台)。採水した試料はクーラーボックスに入れて研究室に保冷移送し, 直ちに孔径 $0.3 \mu\text{m}$ のガラス繊維ろ紙 (GF-75, Toyo Roshi Kaisha, Japan) で吸引ろ過した。その後の分析に供するまでは試料水容器の上部空間に窒素ガスを封入して冷暗所で保存した。

3-2-3 分析項目

3-2-3-1 フミン物質定量

ろ過後の試料に対して DAX-8 樹脂吸着・炭素量測定法を用いて HS/NHS 分画定量をおこなった。方法および分析条件は 2-2-3 および 2-2-4 に準じる。なお, 2015 年度の途中から全有機炭素計を TOC- V_{CPH} から TOC- L_{CPH} に刷新したが, 測定精度に大きな変更はない。

3-2-3-2 紫外・可視吸収スペクトル

ろ過後の試料に対して分光光度計 (V-630, JASCO Corporation, Japan) を用いて紫外・可視 (UV-Vis) 吸収スペクトルを測定した。光路長 1 cm もしくは 5 cm の石英セルを使用してブランクには超純水を用い, バンド幅を 1 nm に設定して 240~600 nm のスペクトル測定を長波長側からおこなった。さらに, DOC 濃度および UV 測定値から各試料の SUVA_{254} (Specific Ultraviolet Absorbance at 254 nm) を求めた。 SUVA_{254} は, 光路長 1 m, DOC 濃度 1 mgC L^{-1} 当たりの 254 nm における吸光度として定義され, DOM の芳香族性の簡易指標として用いられている (Weishaar et al. 2003, 単位は $\text{L mgC}^{-1} \text{ m}^{-1}$)。UV-Vis 吸収スペクトルは 2014 年 9 月以降の試料に対して測定した。なお, SUVA_{254} 測定においては溶存第二鉄 Fe(III) による吸光度の過大評価がよく知られているものの (Weishaar et al., 2003;

Poulin et al., 2014), ICP-AES を用いた溶存鉄濃度の予備検討において鉄濃度はごく希薄であり (機器の検出限界 $10 \mu\text{g L}^{-1}$ 以下), 鉄補正は必要ないと判断した.

3-3-3-3 三次元励起蛍光分析

a) 測定条件

ろ過後の試料に対して分光蛍光光度計 (FP-6200, JASCO Corporation, Japan) を用いて EEM を測定した. EEM は 2015 年 5 月以降の試料に対して測定した. 1 cm 角の 4 面透明石英セルを使用してブランクには超純水を用い, 以下の条件で測定した.

光源: キセノンランプ

励起光: 240~450 nm (5 nm 間隔)

蛍光: 300~550 nm (1 nm 間隔)

バンド幅: 励起光側・蛍光側ともに 5 nm

操作速度: 500 nm min^{-1}

測定モード: 蛍光強度と励起光強度の比 (S/R ratio) モード

b) 補正方法

測定後はインナーフィルター補正およびブランク補正を施し, 蛍光強度をラマン単位に標準化した. インナーフィルター効果は吸光度 0.042 以上で真の蛍光強度に対して 5% 以上の減衰効果を生じる (Kothawala et al., 2013). また, インナーフィルター効果を精度よく補正できる吸光度の最大値には上限があり, 0.2~0.3 (Ohno, 2002; Miller et al., 2010; Korak et al., 2014) とする研究と 1.5 (Kothawala et al., 2013) とする研究があって意見の一致は得られていないものの, 本研究においては全試料の吸光度は最大でも 0.17 であったのでインナーフィルター補正は有効であると判断した. そこで Kothawala et al. (2013) に習いインナ

ーフィルター補正を実施し、インナーフィルター補正用の吸光度データには 3-2-3-2 の測定結果を用いた。ブランク補正には試料と同日に測定した超純水の EEM 測定結果を用いた。ラマン標準化は、同じく試料と同日に測定した超純水の EEM 測定結果の励起波長 (Ex) 350 nm におけるラマンスペクトルを用い、ラマンピーク面積で各種補正後試料の EEM 結果を除すことでおこなった (Lawaetz and Stedmon, 2009)。ただし、ラマンスペクトルのベースラインの上下変動が認められたためベースラインを蛍光波長 (Em) 370 ~428 nm において引き直し、ラマンピークのピーク部分のみの面積を算出した (おおよそ Em 388~410 nm に相当)。同様の補正方法は Murphy (2011) において報告されている。本研究においては装置特有の光学的特性の補正は製造元提供の補正関数がないためおこなっていないものの、後述する蛍光指標 (BIX) の解釈に影響はないとされている (Parlanti et al., 2000; Huguet et al., 2009)。EEM の測定上の注意点や各種補正に関しては既報に詳しいので参照されたい (Holbrook et al., 2006; DeRose et al., 2007; Cory et al., 2010; Murphy et al., 2010; Ryder et al., 2017)。

なお、全補正終了後の各試料の EEM を確認したところ、励起波長の短波長側において S/N 比が悪くベースラインの上下動も確認された。光源のキセノンランプが劣化するとまず短波長側の発光強度が低下し S/N 比が悪くなるが、光源は新品のものを用いているのでその劣化ではなく、そもそもの光源や装置のスペックによるものと思われる。したがって、Ex 260 nm 以降のデータのみを用い、次段落に述べる蛍光指標においては Ex 254 nm の蛍光を用いる Humification index (HIX: Ohno 2002) は採用しなかった。ただし、HIX は DOC 濃度の希薄な試料においても DOM の腐植化度を評価できる指標として有用であり DOM 中の HS 割合を推定できる可能性もあるので、測定可能な場合は測定することが望ましい。また、DOM の起源推定に用いられる Fluorescence index (FI: McKnight et al. 2001) は算出したものの、全試料において変動幅が小さく有用な情報は得られなかったため結果は省略する。なお、装置特有の光学的特性補正の有無により FI の算出に用いる蛍光波長は Em

450/500 (McKnight et al., 2001) または Em 470/520 (Cory and McKnight, 2005) と変更が必要となることを記す。これは、光学的特性の補正により蛍光波長が 15 nm ほど長波長側にシフトするからである (Cory et al. 2010: ただし装置による)。

c) 蛍光指標

EEM データからは、S/N 比の悪かったピーク A 領域 (Ex 250~260 nm, Em 380~480 nm : Coble 1996; Parlanti et al. 2000) 以外の領域における最大蛍光強度 F_{max} およびそれを単位炭素濃度あたりに標準化した Specific F_{max} (SF $_{max}$) を算出した。また、蛍光指標のひとつ Biological index (BIX) を算出した。BIX は励起波長 310 nm における蛍光波長 380 nm と 430 nm の蛍光強度の比 (I_{380}/I_{430}) であり、水系における微生物活動の指標として用いられている (Parlanti et al., 2000; Huguet et al., 2009)。

BIX の解釈に関して邦文で詳細に記述した文献が見受けられないのでここで詳しく説明する。一般に、水中の一次生産者 (大型藻類や植物プランクトン) がタンパク様ピークを発生する成分を滲出物として水中に放出し (exudation), それを従属栄養バクテリアが分解・修飾することでより長波長側に蛍光を発生するピークが出現する。タンパク様ピークは一般に Tryptophan 様ピークと Tyrosine 様ピークが観察され、Coble はこれらをピーク T・ピーク B と表現した (Coble, 1996)。Parlanti et al. (2000) は大型藻類 (オオバアオサ, *Ulva lactuca*) が大増殖した河口域から採取した水に特異な蛍光ピークが検出されたことをうけ、アオサの生分解実験をおこなった。純水中にアオサを入れると初日にはタンパク様ピーク (Ex 270~280 nm, Em 300~320 nm) のみが認められ、2 日目には長波長側 (Ex 310~320 nm, Em 380~420 nm) にピークが出現し、3 日目にはさらに長波長側 (Ex 330~350 nm, Em 420~480 nm) にピークが出現した。これらはそれぞれピーク M およびピーク C と呼ばれるフミン物質様ピークであり、特にピーク M は海洋から分離精製した HS に初めて見いだされたので Marine-humic-like ピーク、ピーク C は (Terrestrial-) Humic-like ピークと呼

ばれる (Coble, 1996). Parlanti らは Coble らとは異なる呼称体系を用いており, ピーク T・B・M・C はそれぞれピーク σ ・ γ ・ β ・ α に対応する (Parlanti et al., 2000). BIX の蛍光波長に用いられる 380 nm と 430 nm はそれぞれピーク M (β) とピーク C (α) の最大蛍光ピーク波長に対応し, つまり BIX はピーク C に対するピーク M の相対強度を示している. BIX 確立の出発点が河口域における大型藻類の増殖により特異的に出現する蛍光ピークの正体解明だったので Biological index は他にも「Index of recent autochthonous contribution /production」や「Freshness index」という名称で呼ばれているものの, 実用上は水域で生産される成分 (autochthonous) と陸域で生産される土壌由来の成分 (allochthonous) の相対寄与を評価していると考えたほうが便利な場合が多い. 実際, Parlanti らは河口域において BIX を用い, 陸域の影響が強い淡水域から水系の影響が主要になる海域にかけて BIX が連続的に上昇することを示し, 河口域における DOM の起源推定として BIX が有効であることを報告している (Huguet et al., 2009). BIX は通常 0.5 から 1 を少し超える程度の範囲で変動し, 0.7 以下は陸域の影響が強く, 1 以上は水域の成分が支配的であると考えられる (Huguet et al., 2009).

3-2-4 統計解析

降雨の有無による測定値の差の比較および測定項目間の相関関係の解析にはデータ分析ツールもしくは統計関数 (Excel 2013/2016, Microsoft) を用いた.

3-3 結果

3-3-1 分画定量

全試料の HS/NHS 分画定量結果を, EC 値を横軸にとり採水日ごとに図 3-2 に示した. HS, NHS 濃度はそれぞれ 0.29~2.34 mgC L⁻¹ および 0.22~1.37 mgC L⁻¹ の範囲であった. ベー

スフロー条件における HS 濃度は一度上昇した後に低下する凸型の傾向を示し、マングローブ林土壌からの HS の供給とその後の海水との混合による希釈が認められた。一方の NHS 濃度は $1\sim 2 \text{ S m}^{-1}$ 以下の低塩濃度域において上昇し、その後は 0.5 mgC L^{-1} 程度のほぼ一定の値を維持する傾向にあった。降雨の影響を受けている場合は特に源流と低塩濃度域において DOM 濃度の上昇が認められ、流域土壌からの有機物供給が示唆された。台風後に 3 日連続採水をおこなった 2015 年 8 月 24~26 日には源流の DOM 濃度は 3 日間でほぼ一定であったが、マングローブ林内以降の DOM 濃度は全地点において上昇を続けた。また、マングローブ林上端におけるスパイク状の DOM 濃度の上昇が特徴的であった。さらに、同一の地点で採水をおこなっているにも関わらず EC 値が低下しており、台風による豪雨により少なくとも湾内までの海水は淡水により希釈されたことが見てとれる。なお、2015 年 1 月 23 日および 5 月 14 日は 2 日前にそれぞれ 31 mm と 5 mm の降雨が観測されたものの（気象庁、石垣島地方气象台）、DOM 濃度の上昇は観測されず、降雨の影響は見受けられなかった。吹通川は流域面積が小さく分水嶺から最上流の採水地点（源流）までの河川長も 1.5 km 弱しかないため（Google Earth Pro を用いて測定）滞留時間が短く、少なくとも表層水の滞留時間は 2 日にも満たないことが考えられた。

DOM 濃度に占める HS 濃度の割合（%HS）については、各採水日ごとに類似した傾向を示したので全試料における %HS と EC 値との関係をまとめて図 3-4 示した。%HS は 33.6 ~ 75.9% の範囲で変動し、EC の上昇、つまり海水との混合に伴って低下した。%HS の最大値は源流において、最低値は海において観測された。源流と海の平均 %HS（±標準偏差）は、源流では $68.0 \pm 3.5\%$ 、海では $46.6 \pm 7.0\%$ であった。また、源流における %HS は降雨の影響のある日には $71.2 \pm 2.9\%$ 、ベースフロー条件では $66.3 \pm 2.5\%$ であり、降雨によって有意に上昇した（ $P < 0.05$ ）。

3-3-2 光学的分析

SUVA₂₅₄ および BIX は各採水日ごとに類似した傾向を示したので、全試料における EC 値との関係をまとめて図 3-4 に示した。SUVA₂₅₄ は %HS と同様に海水との混合に伴って低下し、一方、BIX は 2~3 S m⁻¹ 程度の塩濃度領域までは横ばいで推移し、それ以降は上昇する傾向を示した。Fmax および SFmax は降雨の影響の有無によって異なる傾向を示したので、各採水日ごとの結果を図 3-3 に示した。ベースフロー条件では、1~2 S m⁻¹ 程度の塩濃度領域で Fmax, SFmax とともに最大値を示しその後は単調に低下する凸型の傾向を示した。一方、降雨の影響のある場合は 1 S m⁻¹ 以下の塩濃度領域で最大値を示した。特に台風により降雨の影響が顕著であった 2015 年 8 月 24~26 日には、マングローブ林上端の採水地点において EC 値が約 0.3 S m⁻¹ のときに Fmax, SFmax とともに最大値を示した。

3-4 考察

3-4-1 吹通川における溶存有機物の組成とその変化

水系における %HS は環境条件により 10% 以下から 100% 近くまで変動し (Stuermer and Harvey, 1977; Artinger et al., 2000), 一般に有色水系よりは非有色水系において、また、河川よりは湖沼や海洋において低くなる傾向にある (Thurman, 1985)。これは、滞留時間の増加による HS の光分解および現地性生産 (水中の一次生産者の活動) による NHS の増加を反映していると考えられる。同一水系においては、流域土壌からの有機物供給の増加する降雨後や雨季に上昇し、また、微生物分解によって易分解性の NHS が選択的に分解された結果として %HS が上昇することもある。このように、%HS は DOM の起源および環境における修飾過程を示す有効な指標となりうる。本研究における吹通川源流の %HS は 68.0 ± 3.5% (N = 14) であった。%HS の定量報告結果は少なく、本研究と同様の亜熱帯・鈹質土壌流域を流れる河川における報告値は見受けられなかった。Spencer et al. (2012) はアメリ

カ合衆国の大小さまざまな30河川における数年間のモニタリング結果において (N = 734), 河川別の平均として28~67%の幅があり平均値は47%であったことを報告している. 本研究において彼らの報告より高い%HSを示したことは, 亜熱帯気候における微生物活性の高さにより流域土壌中のアミノ酸や糖類といった易分解性の NHS が選択的に分解され, 「難分解性残渣」ともいえる HS が吹通川に流入していることを示唆する. ただし, 熱帯泥炭地帯を流れる河川 (高濃度の HS により茶色を呈することが多い) においては%HS は80%を越すことも珍しくない (Watanabe et al., 2012).

吹通川における源流から海への DOM の組成変化を考察するうえで, 生物地球化学的・生態学的役割を異にする HS と NHS が異なる挙動を示すことは興味深い (図 3-2). NHS は $1\sim 2 \text{ S m}^{-1}$ 以下の低塩濃度域において上昇しその後はほぼ一定の値を維持する傾向にあったが, このことはマングローブ林土壌から NHS の供給を受けて濃度が上昇して海の NHS 濃度と同程度になったことを意味している. 一方の HS はベースフロー条件では凸型の傾向を示し, マングローブ林土壌からの HS 供給および海水による希釈が見てとれる. 採水地点数が少ないので明確なことは述べられないが, 各サンプリング日における HS 濃度の最大値から海における最小値まで HS 濃度は直線的に低下している. すなわち, この EC 値範囲 ($2\sim 5 \text{ S m}^{-1}$) では序論 (1-3) で触れたような凝集沈殿ではなく海水との単純混合により HS 濃度が低下していることが分かる (conservative mixing). HS の凝集沈殿現象は海水との混合初期に相当する低塩濃度域において生じることは第 2 章においても示した. 低塩濃度域において HS 濃度の上昇したことは源流水中 HS の沈殿が全く生じていないか, 生じていたとしてもマングローブ林土壌から供給される HS により見かけ上その濃度低下が打ち消されている結果であると考えられる. なお, 林内土壌から供給される HS について, フミン酸は海水中の陽イオンとの相互作用で容易に沈殿することが知られており, 河口域において 100%凝集沈殿したことが報告されている (Fox, 1983). 一方のフルボ酸は第 2 章でも示したように海水塩の添加によってもほとんど沈殿しないため (Kida et al., 2016), このマング

ローブ林から供給される HS は特にフルボ酸主体であると考えた。いずれにせよ、マングローブ林土壌から HS・NHS 両成分が供給されていることは、マングローブ林が沿岸生態系を支える役割の重要性を改めて支持する。

吹通川における DOM 組成変化において、もっとも興味深いのは台風後に3日連続採水をおこなった際にマングローブ林上端の採水地点においてスパイク状の DOM 濃度の上昇が認められたことである (図3-2)。それに伴い、Fmax, SFmax のどちらも上昇した (図3-3)。これは、多量の降雨による塩濃度の低下に伴い蛍光量子収率の高い蛍光発色団を多く含む化学構造を持つ SOM が可溶化したことを示していると考えた。ただし、他の採水日において同地点の EC が同程度の場合でも同様の現象が認められなかった場合もあったので (例えば2015年6月1日や2016年6月20日)、重要なのは表面流去水ではなく地下水の塩濃度かもしれない。すなわち、高塩濃度により凝集していたマングローブ林土壌内 SOM が塩濃度の低下により可溶化し、河川水に滲出した可能性が考えられる。地下水の塩濃度変化を測定していないので推論の域を出ないものの、台風による多量の降雨により少なくともマングローブ林上端の河川付近の地下水塩濃度は同時期同地点の河川水の塩濃度 (0.3 S m^{-1}) 付近まで低下していたと予想する。吹通川は流域面積が狭く河川長も短いので地下水の滞留時間も表層水同様短いことが予想され、降雨後数日のタイムスケールで地下水としてマングローブ林に到達していたのかもしれない。土壌中の SOM は太陽光にさらされていないので光分解の程度が低いことが予想され、光分解前の DOM は光分解後と比較して高い蛍光量子収率が一般に認められることから (e.g., Del Vecchio and Blough, 2002) この推論は支持される。また、Fmax の観測される励起・蛍光波長にも大きな違いが認められた (図3-5)。ベースフロー条件においては Fmax の観測される波長は Ex 320~335 nm, Em 411~436 nm に集中していたが、台風の影響のある時には Ex 355~365 nm, Em 443~471 nm に上昇した (red shift)。それぞれのピーク位置はおおよそピーク M (Marine-humic-like) とピーク C (Humic-like) に対応する (Coble, 1996; Parlanti et al., 2000)。源流においても台風後

は同様の位置に F_{max} が観測されたが、ベースフロー条件では短波長側であったことから、この F_{max} 位置のシフトは源流においては流域土壌から供給される DOM に占める Humic-like な成分の寄与が増加したことにより生じ、マングローブ林内以降においては林内土壌からの溶出成分と淡水の優先により生じたことと示唆された。降雨時に源流における %HS が有意に上昇したこと (3-3-1) はこの蛍光分析の結果を支持する。降雨条件、より一般化すれば淡水と海水の相対寄与の変化によってマングローブ林炭素動態が変化することは、マングローブ林の炭素循環を考えるうえで極めて重要である。多くのマングローブは熱帯地域に分布しているため台風の影響を受けやすい。また、マングローブ林によって水文学的環境 (hydrological regime) は異なり (Pérez et al., 2017; Signa et al., 2017)、塩濃度によって優先するマングローブ樹種や成長速度も異なるため、淡水と海水の相対寄与をパラメータとしてマングローブ林を分類したうえでマングローブ林炭素プールや流出 DOM の大きさについては生態系サービスを評価する必要があると思われる。

吹通川が源流からマングローブ林内に流入し、海に流出する中で %HS と $SUVA_{254}$ は低下し、BIX は上昇した (図 3-4)。DOM の濃度や組成が降雨条件や日変動によって異なるにも関わらずこうした一定の傾向が認められたことは、吹通川における一般的な傾向と考えてよいだろう。海水との混合に伴うこうした変化は間違いなく DOM の起源が流域土壌 (allochthonous) から水系における生産 (autochthonous) に移行していることを示している。海水との混合に伴う $SUVA_{254}$ と BIX の変化は河口域において一般に認められる傾向であるものの (e.g., Huguet et al. 2009)、従来の研究では HS/NHS 分画定量はおこなわれていない。本研究はマングローブ林河川における DOM の光学的特性の変化をその HS/NHS 組成変化によって明示した初めての例である。EC 値がおおよそ 3.5 S m^{-1} までは %HS は 50% 以上、 $SUVA_{254}$ は 3 以上、BIX は 0.7 以下を維持しており、その塩濃度範囲においては DOM の起源は流域土壌やマングローブ林土壌 SOM が主要であることがわかる。

3-4-2 溶存有機物の組成と光学的特性との関連性

従来の光学的手法による研究成果により、単位炭素当たりの吸光性と蛍光性が高い DOM 成分がマングローブ林より供給されることは広く知られている (e.g., Maie et al. 2014; Cawley et al. 2014). 本研究で用いた HS/NHS 分画定量法によって明らかになった HS 濃度の凸型の変動パターンはマングローブ林内において河川水に HS が供給されることを明示しており、従来の光学的分析による報告を支持するものであった。また、降雨の影響による源流における DOM 蛍光特性の変化や、海水との混合に伴う $SUVA_{254}$ と BIX の変化も HS/NHS 組成の変化によって定性的に説明された。

これらの関係を定量的に説明するために、 $SUVA_{254}$ と BIX を %HS に対して図 3-6 にプロットした。 $SUVA_{254}$, BIX とともに %HS に対して 0.1%水準で有意な直線関係を有しており、%HS が両変数に対して有意な説明変数であることが示された。また、図 3-4 から明らかであったように、%HS は $SUVA_{254}$ とは正の関係にありその変動の 63%を説明し、BIX とは負の関係にありその変動の 65%を説明した。こうした関係性の成立することは光学的指標の実際的な説明根拠を与えるとともに、簡易な光学的分析により DOM の組成をおおよそ推測できることを示している。特に HS と NHS はその生物地球化学的機能が異なるので、光学的分析によりそうした DOM の組成ひいては機能まで推測できることは有用である。前項でも引用した Spencer et al. (2012) は DOM の %HS と吸光度法による光学的特性 ($SUVA_{254}$, $a_{250}:a_{365}$, $S_{350-400}$, $S_{275-295}$, S_R) との関係性も議論しており同様の結論に達している。ただし、Kida et al. (in revision a) が明示しているように、これら光学的指標と %HS との関係性 (回帰直線の傾き) やその強さ (決定係数) は同一の水系においても例えば季節や降雨条件によって変わりうるので安易な使用には注意が必要である。

3-5 結論

マングローブ林の生態系サービスにおける DOM の役割は微量金属元素および栄養塩の沿岸海域への供給であり，生物地球化学的・生態学的機能の異なる HS・NHS に分画定量して DOM 動態を把握することはマングローブ林の生態系サービスを評価する上で重要である．本章ではこうした考えに基づいて吹通川における DOM の組成変化を分析し，以下の結論を得た．

- ・ マングローブ林河川における DOM の光学的特性の変化をその HS/NHS 組成変化によって明示した．%HS は $SUVA_{254}$ ，BIX に対して有意な説明変数であってそれらの変動の 60%以上を説明した．HS と NHS はその生物地球化学的機能が異なるので，簡易な光学的分析によりそうした DOM の組成ひいては物地球化学的機能まで推測できることは有用である．
- ・ マングローブ林土壌から供給される HS は塩濃度の増加によってもほとんど沈殿しないフルボ酸であると考えた．マングローブ林土壌からフルボ酸・NHS 両成分が供給されていることは，マングローブ林の沿岸生態系を支える役割の重要性を改めて支持する．
- ・ 多量の降雨による塩濃度の低下に伴い SOM が可溶化して河川へと供給された．降雨条件によってマングローブ林炭素動態が変化することは，マングローブ林の炭素動態を考えるうえで極めて重要である．

マングローブ林によって水文学的環境は異なり，塩濃度によって優先するマングローブ樹種や成長速度も異なるため，淡水と海水の相対寄与をパラメータとしてマングローブ林を分類したうえでマングローブ林炭素プールや流出 DOM の大きさひいては生態系サービスを評価する必要がある．

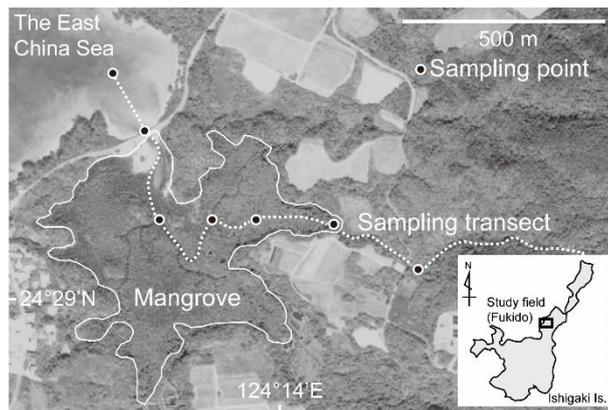


図 3-1. 沖縄県石垣島吹通川河口マングローブ林.
点線はサンプリング対象とした河川を示す.

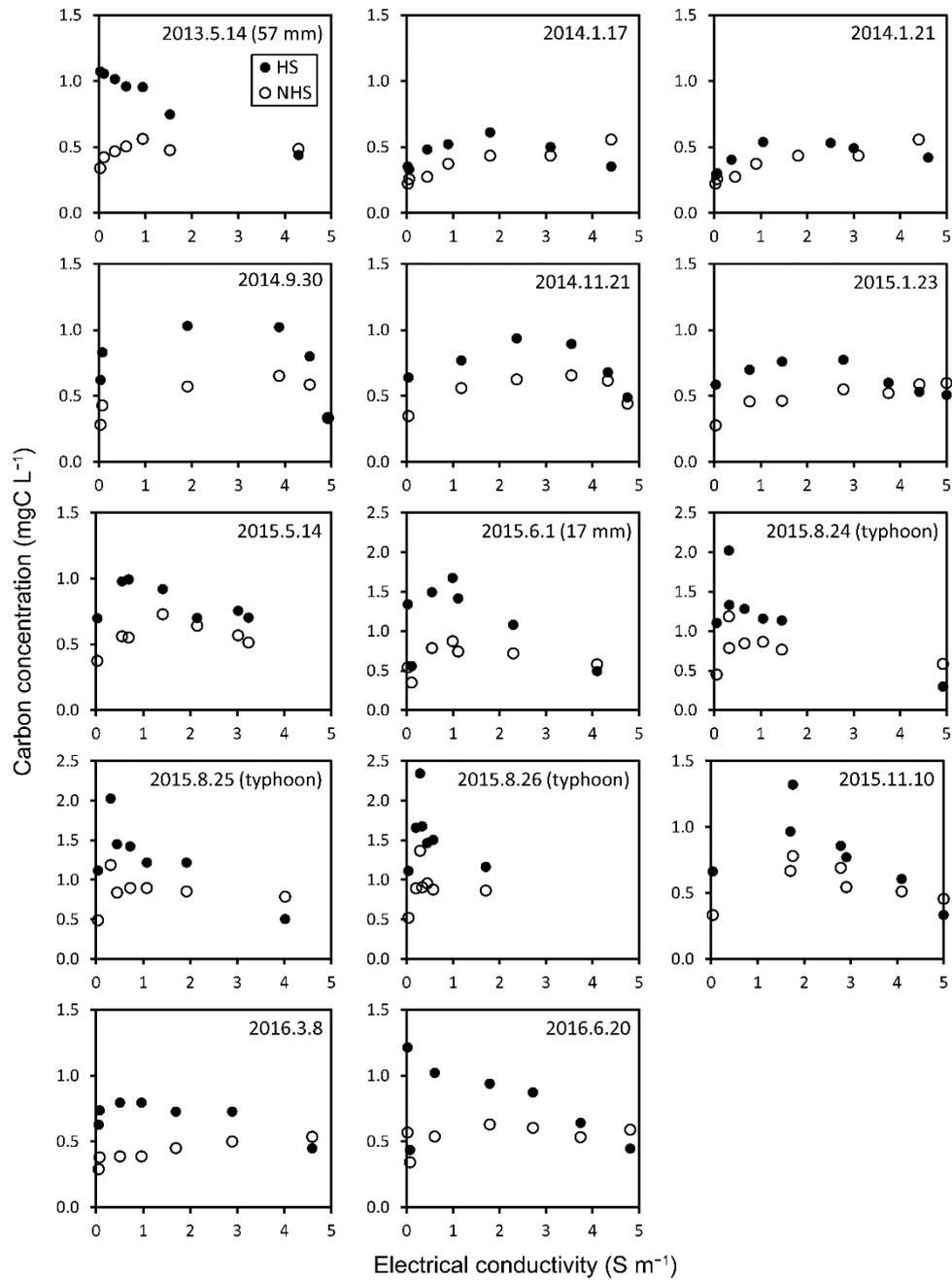


図 3-2. 採水日ごとの HS/NHS 分画定量結果. 日付後のカッコ内は前日降水量もしくは台風の影響のあることを示す. 2015 年 8 月 23 日~26 日における降水量はそれぞれ 241, 33, 54, 14 mm であった. 縦軸のスケールの違いに注意.

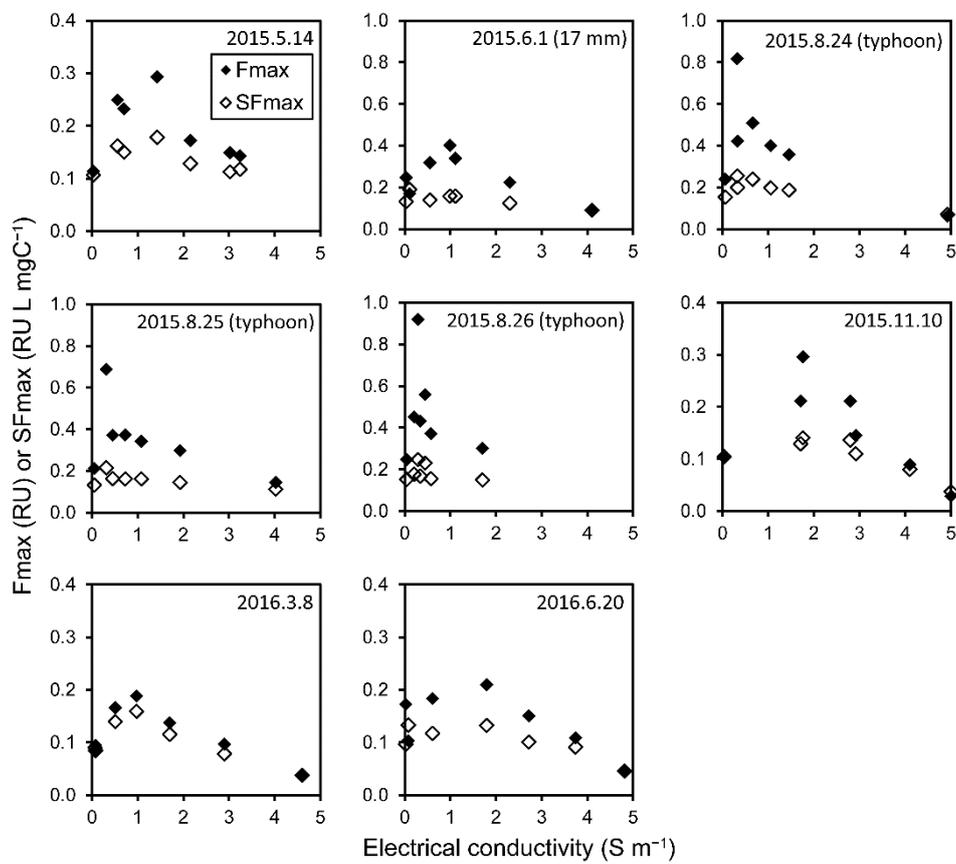


図3-3. 採水日ごとの Fmax および SFmax. 日付後のカッコ内は前日降水量もしくは台風の影響のあることを示す. 2015年8月23日~26日における降水量はそれぞれ 241, 33, 54, 14 mm であった. 縦軸のスケールの違いに注意.

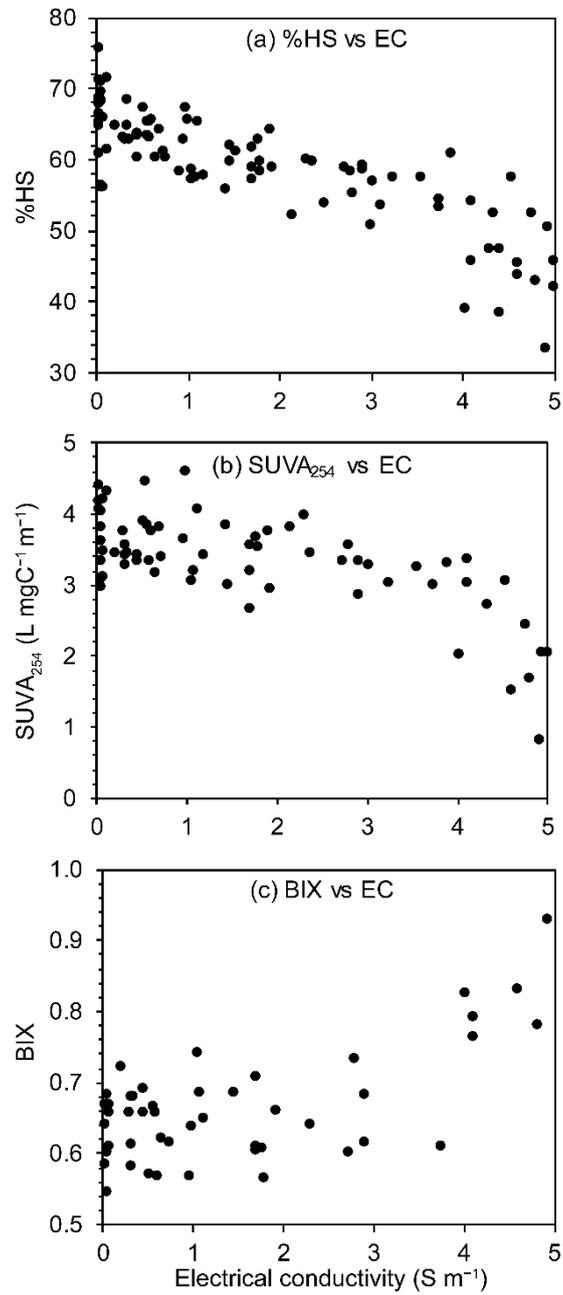


図 3-4. %HS および SUVA₂₅₄, BIX と電気伝導率の関係.

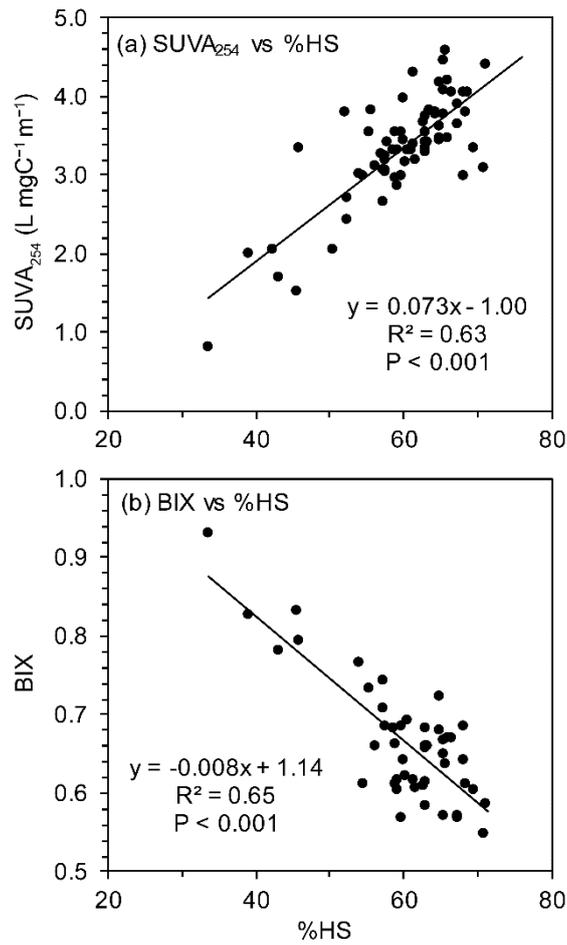


図 3-6. SUVA₂₅₄ および BIX と %HS の関係.

第4章 マングローブ林土壌有機物の蓄積機序

4-1 背景と目的

マングローブ林生態系における炭素動態・収支を見積もる大きな努力にもかかわらず, SOM蓄積メカニズムは依然として明らかにされていないことは序論(1-3)で述べた。「SOMを凝集してマングローブ林土壌に固定化していると予想される要因」を取り除けば, すなわちマングローブ林土壌の塩濃度を下げれば, SOMが水中に分散, もしくは可溶化されると考えたが, 実際の検証事例は見受けられない。第3章において現場においても塩濃度の低下によるSOM可溶化現象が示唆されたことから考えても, 塩濃度低下によるSOM可溶化の可能性は大きい。本章では, マングローブ林内土壌を人工海水と超純水それぞれで逐次洗浄した際にSOMがどのような挙動を示すかを検証した(Kida et al., 2017a, 2017b)。そのうえで, マングローブ林土壌へのSOM蓄積におけるひとつのメカニズムを新規に提示し, SOM蓄積における有機地球化学的側面のさらなる議論を喚起することを目的とした。

4-2 試料と方法

4-2-1 調査地

3-2-1に同じく, 石垣島吹通川河口マングローブ林を調査対象地とした。また, タイ王国トラート県トラート川河口のマングローブ林を調査地に追加した。トラート県は熱帯モンスーン気候に属し, 2009年から2013年の平均気温は28.0°C, 平均降水量は5207 mmである。明瞭な雨季(5月から10月)と乾季(11月から4月)があり, 2009年から2016年平均では年間降水量に占める雨季の降水量割合は88%であった(Trat Meteorological station, Thai Meteorological Department)。水文環境によるマングローブ林のタイプ分けとしては, トラート川河口マングローブ林は大きな河川沿いに発達する河川型(riverine type)である。昔は木材や炭用に伐採されていたが, 1980年代からはタイ政府のDepartment of Marine

and Coastal Resources の保護管理下に置かれている。サイトには横幅 50 m, 奥行 120 m の植物バイオマス調査用の長方形区が設置されており, 河川側から内陸側に向かってナンヨウマヤブシキ (*Sonneratia caseolaris*) とウラジロヒルギダマシ (*Avicennia alba*) が生育する「Avicennia 帯」, フタバナヒルギ (*Rhizophora apiculata*) とヤエヤマヒルギ (*Rhizophora mucronata*) が生育する「Rhizophora 帯」, ホウガンヒルギ (*Xylocarpus granatum*) とオヒルギ (*Bruguiera gymnorrhiza*) が生育する「Xylocarpus 帯」に植生帯が分かれている (Poungparn et al., 2016)。Avicennia 帯の標高がもっとも低く 0~50 cm 程度であり, Xylocarpus 帯では 60~90 cm 程度である。流域にはトラート市街地が広がっていて河川沿いにはエビの養殖場も多く, マングローブ林への人為的影響は比較的大きいと考えられる。潮汐の干満は石垣島と比べると不明瞭であり 1 日 1 回潮に近く, 満潮時にはサイト内は全て海水に没し, 干潮時には Avicennia 帯も含め土壌表面が空気にさらされる。

4-2-2 サンプルング

a) 石垣島

2015 年 8 月 25 日の干潮時に植物バイオマス調査用の 80 m 方形区内の対角線上の 3 地点から表層土 (0~20 cm) を採取した。植生はオヒルギが優先する。試料はポリ製土壌袋に入れ, 酸化をできるだけ防ぐために空気をできるだけ抜いてきつく縛り, クーラーボックスに保存して研究室へと保冷移送した。

b) トラート

2016 年 1 月 12 日 (乾季) の干潮時に Avicennia, Rhizophora, Xylocarpus 帯それぞれの中央付近から表層土 (0~30 cm) を採取した。試料はポリ製土壌袋に入れ, 酸化をできるだけ防ぐために空気をできるだけ抜いてきつく縛り, クーラーボックスに保存して研究室へと保冷移送した。

4-2-3 逐次洗浄試験

4-2-3-1 洗浄操作

超純水と人工海水を用いて土壌試料をそれぞれ逐次洗浄した。人工海水は 2-2-2 と同様に Deslouis et al. (2006) に準拠して作成した。ただし、人工海水による逐次洗浄は石垣島の試料のみおこなった。持ち帰った土壌試料を生土のまま以下のように用いた。すなわち、小口試料をとって目視確認できる粗大な根を手で取り除き、乾土相当 30 g を PPCO 製遠沈管 (Nalgene) に入れて窒素ガスを封入した。遠心分離を 12,000 rpm で 10 分間おこない、試料に含まれる全水量のうち約 50% を孔隙水として採取した。ついで固液比 1:5 になるように溶媒を遠沈管に入れ、窒素ガスで 5 分間スパージして溶存酸素を除去した。10 分間の振とう後に遠心分離し (9,000 rpm, 10 分間)、上澄液を回収して重量を測定した。回収した上澄液と同じ重さの溶媒を再び加えて WEOM の逐次洗浄を続け、合計 6 回の抽出操作をおこなった。全ての上澄液と孔隙水は採取後ただちに孔径 0.3 μm のガラス繊維ろ紙 (GF-75, Toyo Roshi Kaisha, Japan) で吸引ろ過して予備燃焼済みガラス瓶に保存した。逐次洗浄操作を 6 回にした理由は、予備試験において石垣島試料に対して超純水を用いた 21 回の逐次洗浄操作をおこなった際、6 回の洗浄操作で EC 値が十分に下がり切り、それ以降の洗浄は本実験の目的にそぐわないと判断したからである。なお、濃度は低下するものの 21 回目においても DOM は溶出し続けるので、6 回の洗浄操作で溶出した DOM は潜在的に溶出可能な DOM 全てを分析しているわけではない。参考として当該予備試験の結果を掲載した (図 4-1)。

4-2-3-2 測定項目

a) 石垣島

4-2-3-1 で得た上澄み液については EC, 254 nm 吸光度測定および 2-2-3 の通りに HS/NHS 分画定量をおこなった。孔隙水は液量が少なかったために HS/NHS 分画定量はおこなわず

DOC 濃度のみを測定した。吸光度と DOC 濃度から 3-2-3-2 と同様に $SUVA_{254}$ を算出した。

b) トラート

4-2-3-1 で得た上澄み液と孔隙水については EC, 254 nm 吸光度および DOC の測定をおこなった。さらに、上澄み液を以下の操作に供した。すなわち、濃塩酸（試薬特級, Wako Pure Chemical Industries, Japan）を少量用い、上澄み液に含まれるフミン酸画分を凝集させるために pH を 1 に調整した。軽く振とう後に一晩静置し、フルボ酸と NHS のみを含む上澄みを慎重にデカンテーションにて採取し（上澄みは透き通っていた）、ガラス繊維ろ紙（GF-75）を用いて吸引ろ過した。ろ液は 2-2-3 の通りにフルボ酸と NHS の分画定量に処した。また、酸性化前の DOC 濃度とフルボ酸・NHS のみを含む各ろ液の DOC 濃度とのバランスによりフミン酸画分濃度を求めた。なお、少量添加した濃塩酸による体積変化は 1%程度であり無視できるものとして扱った。

4-2-4 再凝集沈殿試験

石垣島試料について、乾土当たり 240 g の表層土を生土のまま用いて 4-2-3 と同条件下で超純水を使って 4 回の逐次洗浄をおこなった。1, 2 回目の上澄み液（高塩濃度で色が薄い）は廃棄し、3, 4 回目の上澄み液（低塩濃度で茶色く着色）を回収して一つにまとめ、予備燃焼済みガラス瓶に保存した。これらの操作で EC が 16.7 mS m^{-1} , DOC が 16.9 mgC L^{-1} の試料溶液を約 2 L 得た。この溶液は以下のように再凝集沈殿試験に供した。すなわち、あらかじめ各 20 mL の試料溶液を入れたガラスバイアルに異なる液量の人工海水を分注し、EC 値の異なる 17 試験区を設けた ($54\sim 715 \text{ mS m}^{-1}$)。軽く振とう後に 12 時間静置し、ガラス繊維ろ紙（GF-75）を用いて吸引ろ過した。ろ液の DOC 濃度を TOC 計によって測定し、海水添加による希釈率を補正したうえで、初期 DOC 濃度と各ろ液の DOC 濃度とのバ

ランスから沈殿割合を求めた。この実験は3連でおこなった。なお、凝集沈殿時間については予備実験の結果から12時間で平衡に達することを確認して設定した。

4-2-5 分析条件

DOC 測定は 2-2-4 の通りにおこなった。254 nm 吸光度は分光光度計 (V-630, JASCO Corporation, Japan) を用いて単波長測定をおこなった。光路長 1 cm の石英セルを使用してブランクには超純水を用い、バンド幅を 1 nm に設定して 254 nm の吸光度を 3 連で測定し、結果には平均値を用いた。なお、試料溶液が濃い場合は適宜超純水で希釈して測定した。

4-3 結果

4-3-1 逐次洗浄試験

a) 石垣島 (図 4-2)

人工海水を用いて逐次洗浄をおこなった場合には EC は高いままであり、HS・NHS 濃度は洗浄に伴い漸減した。SUVA₂₅₄ は 3 回目にかけて少し上昇し、その後は一定であった。超純水で逐次洗浄をおこなった場合には EC は指数関数的に低下した一方で HS 濃度は 2 回目の洗浄で 2 倍に上昇し、EC の低下により HS が液相に移行溶出したことが確認された。NHS 濃度は 1 回目の洗浄で最大値を示し、その後は単調に減少した。結果として、%HS は 2 回目の洗浄において 80.6 ± 1.4% に上昇し、その後は高い値を維持した。SUVA₂₅₄ は %HS と同様の傾向を示したが、その絶対値は既報と比較して数倍高かった。

b) トラート (図 4-3)

超純水で逐次洗浄をおこない、全ての植生帯において石垣島試料と同様に指数関数的に EC は低下した。それに伴い炭素濃度の急上昇が認められた画分はフミン酸画分であった。フミ

ン酸画分は2, 3回目の洗浄で3, 4倍に上昇し, その後は低下に転じた. フルボ酸と NHS についてはフミン酸画分と比較すれば濃度が数倍低いものの, 互いに異なる傾向を示した. すなわち, フルボ酸は全ての植生帯において洗浄を重ねるたびに溶出濃度が上昇したが, NHS は植生帯によって異なり, Avicennia 帯では一度低下した後に上昇, Rhizophora 帯では横ばい, Xylocarpus 帯では漸減した. ただし, 試料の連数は1連しか用意していないのでこの違いが植生帯によるものなのか空間的ばらつきを示すのかは不明である. また, 全ての植生帯においてフルボ酸と NHS が5, 6回目の洗浄においてほぼ同濃度となった. 以上をまとめると, 全ての植生帯において溶出炭素に占めるフミン酸画分の割合(%HA)は2回目以降の抽出で高い値を示し, 6回洗浄における累積%HSは Avicennia 帯, Rhizophora 帯, Xylocarpus 帯においてそれぞれ66.3%, 64.4%, 64.2%であった. 加えて, SUVA₂₅₄は%HSと同様の傾向を示したが, その絶対値は石垣島試料と同様に既報と比較して数倍高かった.

4-3-2 再凝集沈殿試験

再凝集沈殿試験の結果を図4-4に示した. EC値が150 mS m⁻¹を超えた時に沈殿割合は急上昇を始め, おおよそ600 mS m⁻¹で頭打ちとなり, この時の沈殿割合は約50%であった. この実験ではこれ以上の高塩濃度区は用意していないものの, 凝集沈殿時間を検討した予備実験において, 海水塩濃度時(5 S m⁻¹)には71%が沈殿したことを確認した.

4-4 考察

序論(1-2-1)でも述べたようにマングローブ林は河川や海と接しているので水の動きに伴う物質動態が複雑で動的である. マングローブ林 SOM は自生性(マングローブ由来, 底生性や着生性の藻類や海藻)と他生性(陸域由来, 海由来, 人為物質)の両成分を起源としており, それぞれの寄与率はマングローブ林の環境条件により大きく異なる. 対象とするマングローブ林における炭素動態を把握する上で SOM の起源推定の研究は重要であり, 今日ま

で多くの報告例がある（総説：Bouillon et al., 2008b; Kristensen et al., 2008）。一方で，Ferreira et al. (2007) や Andreetta et al. (2014) で議論されているように，マングローブ林生態系を支える支持体を堆積物ではなく土壌とみなし，リターや SOM，抽出精製した HS の化学構造特性を土壌学的，生物地球化学的手法により分析する研究も盛んになりつつある（Santín et al., 2009; Zhang et al., 2011; Ono et al., 2015）。ここで大事なのは，SOM の化学特性をその機能と関連させてマングローブ林生態系における役割と紐づけることである。マングローブ林 SOM を単なる炭素プールの塊とせず，異なる機能と挙動を示す異なる成分の有機的集合体であると捉えることが必要であろう。本章では，マングローブ林土壌を脱塩洗浄して溶出される成分を分画定量することで，EC の変化に対応した各成分の異なる挙動を把握することができた。

Weishaar et al. (2003) によると， $SUVA_{254}$ は DOM を構成する全分子の見かけ上の平均吸光度であり，DOM の芳香族性の代替指標として用いられてきた。興味深いことに，本実験における超純水による逐次洗浄で得られた $SUVA_{254}$ の値は Weishaar et al. (2003) が芳香族性の異なる 13 試料（精製フミン酸・フルボ酸）に対して報告した値の最大値である $5.3 \text{ L mgC}^{-1} \text{ m}^{-1}$ （芳香族性は 40.8%）と比較して数倍高かった。これは，2 回目以降の抽出液においてチンダル現象が確認されたことから判断できるように，EC の低下により溶出する有機物が真の溶存態ではなく， $0.3 \mu\text{m}$ 公称孔径のろ紙を通り抜けるほどの大きさのコロイド態で存在しており散乱により吸光度を過大評価したことが原因である。

トラート試料の結果において，EC が低下した際に多量に溶出した画分はフミン酸画分であったことと，フルボ酸と NHS のみを含む上澄みは透き通っていたことから，以下のような現象が推測される。すなわち，マングローブ林土壌中のフミン酸画分は現場環境の塩濃度が高いために凝集（塩析）しており水の流れに伴う系外流出は起こりにくいが，塩濃度が低下すると凝集状態が解除されて分散し可動化する。ただし，このフミン酸画分はおそらく粘土または金属陽イオンとの複合体として存在しており，溶液中においてはコロイドとして

振る舞う。フミン酸画分の凝集・分散が塩濃度によって支配されているということは再凝集沈殿実験の結果によってさらに支持される(図4-4)。EC値 505 mS m^{-1} において50%近くが沈殿しており、海水塩濃度時の沈殿量(71%)の約三分の二が海水の十分の一の塩濃度で沈殿したことになり、塩濃度上昇にとっても敏感な凝集沈殿様式が見てとれる。

ここで重要なのは、どの程度の塩濃度(EC)でフミン酸画分の分散は起きるのかという点と、現場環境においてそのような状況になりうるのかという点である。石垣島試料においては、3連の試料において $89 \pm 23 \text{ mS m}^{-1}$ (最大値 115 mS m^{-1}) のEC値でHSの分散が認められた(図4-2)。吹通川源流のECが $30\sim 60 \text{ mS m}^{-1}$ であったことを考慮すると、仮に海水の供給がなくなり河川水で洗われ続けると、林内土壌中のHSは凝集状態が解かれ可動化する可能性が考えられる。しかしながら、マングローブ林に流入するとECは急上昇し、上端の採水地点においても干潮時 $60 \text{ mS m}^{-1}\sim 1.8 \text{ S m}^{-1}$ (中央値 202 mS m^{-1}) を示す。また、マングローブ林面積と比較して河川面積は1割にも満たず流量も少ないため河川による海水塩の希釈効果は小さく、そのようなことが起きるとは考えにくい。逆に考えると、石垣島吹通川河口マングローブ林においては林内土壌中の塩濃度が高いからこそHSは凝集沈殿して蓄積されていることが強く示唆される。一方のトラート試料においては、*Avicennia* 帯、*Rhizophora* 帯、*Xylocarpus* 帯それぞれにおいてEC値 118, 197, 161 mS m^{-1} でフミン酸画分の分散が認められた(図4-3)。この値は石垣島試料の場合と極めて近い。トラート川河口マングローブ林は吹通川河口マングローブ林とは異なり河川沿いにマングローブ林が発達する河川型であり、干潮時にも(少なくとも表層水として観察できる)河川が林内を流れるような水文環境にはなっていない。したがって、たとえ干潮時の河川水のEC値は 30 mS m^{-1} 程度で十分低くても(Kida et al. in revision a)、脱塩洗浄効果は低いと当初は考えていた。しかしながら、トラートには明瞭な雨季と乾季があり、雨季の集中的な多量の降雨により淡水が長期間優先し、マングローブ林土壌表層の塩濃度が7月初めから9月終わり程度までほぼ0になるとの報告がある(Poungparn, pers. comm.)。もしもこ

の現象がトラート川河口マングローブ林全域において起こるのであれば、乾季には高塩濃度によりフミン酸画分が凝集・蓄積し、雨季には塩濃度の低下により一度に放出されるといふ季節性を示す可能性がある。このことは「水文環境を考慮したマングローブ林生態系における炭素循環論」を新たに提唱しうる可能性を秘めており、今後の調査が望まれる。

4-5 結論

マングローブ林の炭素プールとしての重要性は過去 20 年の生態学的研究により明らかになり、一方で、海水塩の存在下での HS の凝集沈殿作用は土壌／コロイド／地球化学分野で長く研究されてきたが、両者を関係付ける議論はこれまで見られなかった。海水塩の影響は世界のマングローブ林土壌に普遍的であり、本研究の結果はマングローブ林土壌の SOM 蓄積メカニズムに新たな可能性を示したと言えよう。今後は、海水塩によるフミン酸画分の凝集沈殿現象による SOM 蓄積への量的寄与を明らかにする必要がある。さらに、マングローブ林の立地条件および降雨条件により淡水と海水の寄与の程度は異なることが予想されるため、「水文環境を考慮したマングローブ林生態系における炭素循環論」を新たに提唱し、検証・構築することが課題として提示された。

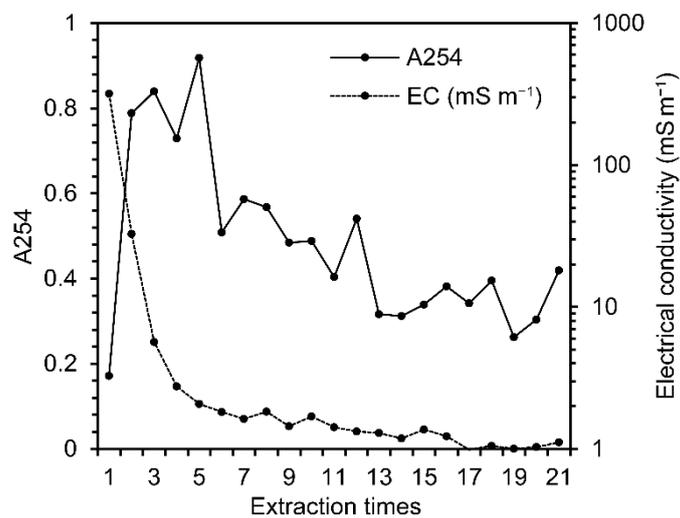


図 4-1. 超純水による逐次洗浄に伴う 254 nm 吸光度 (A254) および電気伝導率の推移 (予備試験).

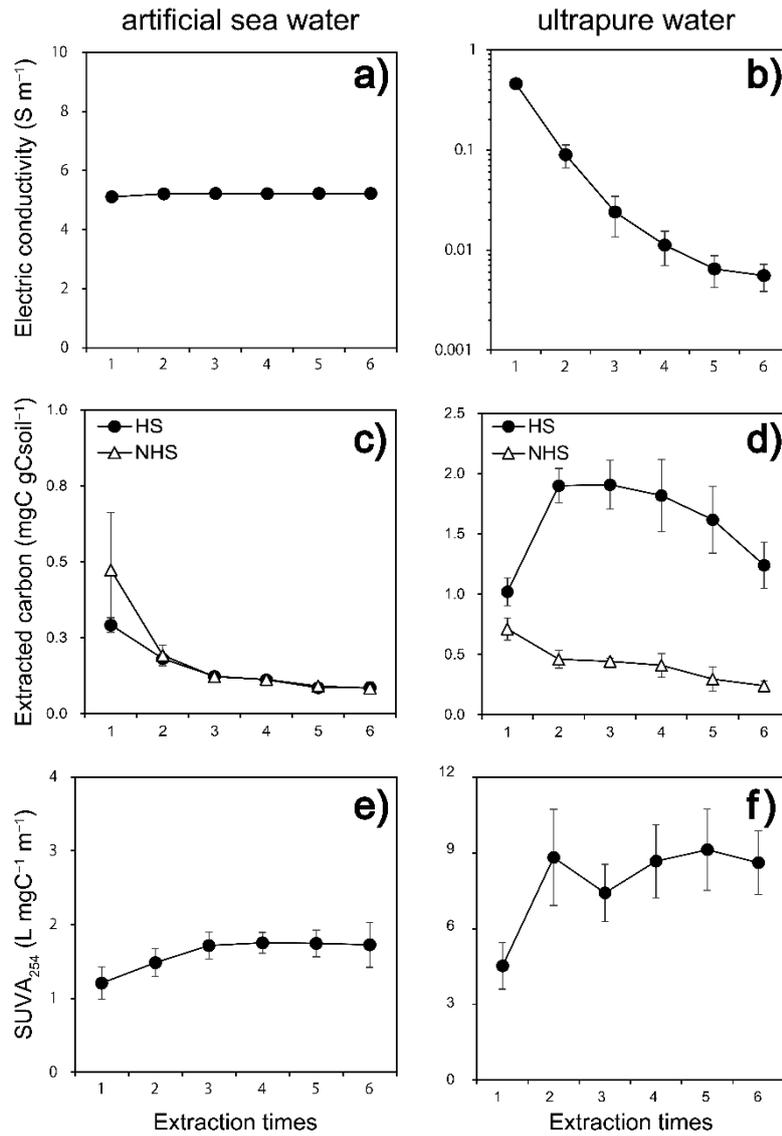


図4-2. 石垣島試料における人工海水および超純水による逐次洗浄に伴う電気伝導率 (a, b), 抽出炭素濃度 (c, d), SUVA₂₅₄ (e, f) の推移. エラーバーは3連の標準偏差を示す. (a) ではエラーバーはシンボルより小さい (Kida et al., 2017b を一部改変).

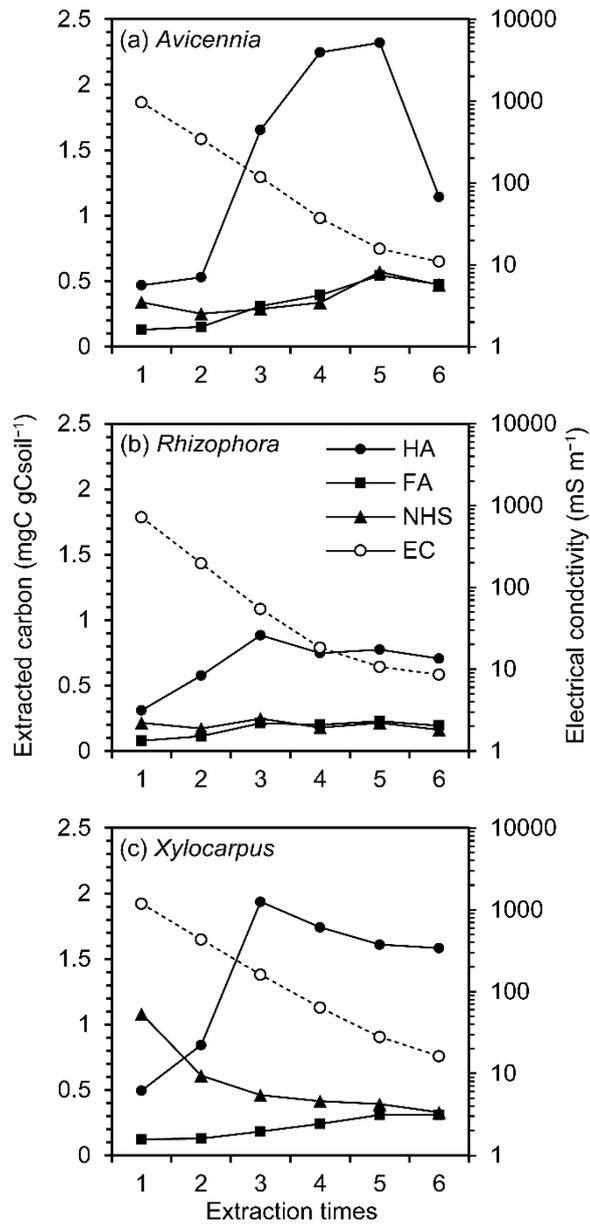


図 4-3. トラート試料における超純水による逐次洗浄に伴う電気伝導率および抽出炭素濃度の推移. HA, FA, NHS はそれぞれフミン酸画分, フルボ酸, 非フミン物質.

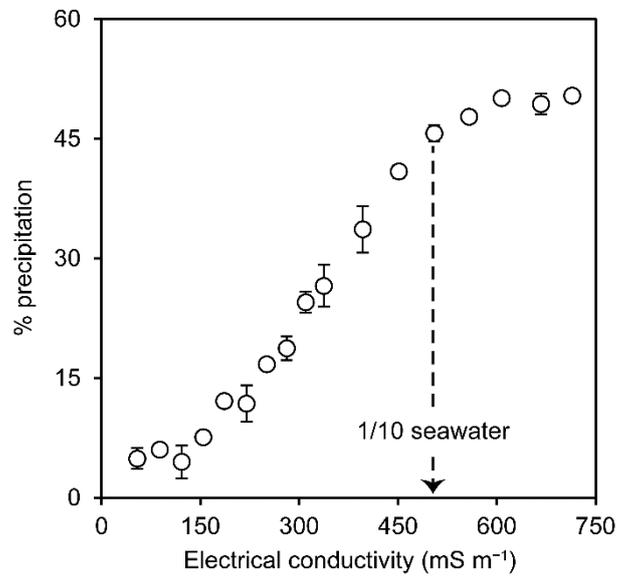


図 4-3. 石垣島試料における再凝集沈殿試験の結果. 矢印は海水の十分の一の塩濃度を示す. エラーバーは3連の標準偏差を示す (Kida et al., 2017b を一部改変).

第5章 マングローブ林土壌有機物の化学構造特性

5-1 背景と目的

マングローブ林生態系の重要性は沿岸海域と人間社会に与える多様な生態系サービスによるところが大きいことを序論 (1-1) で述べ、マングローブ林 SOM を異なる機能と挙動を示す幾種もの成分の有機的集合体と捉えることが必要であることを第4章 (4-4) で指摘した。この観点に立ち、その機能性と循環速度に影響を与えうるマングローブ林 SOM の質的特性を調べるのが重要になる。現状としては、塩性湿地 (e.g., Ferreira et al., 2013) および河口 (e.g., Santín et al., 2009)、沿岸域 (e.g., Rosa et al., 2011) と比較して、マングローブ林における SOM の質を分析した研究はわずかであり、限られた報告も SOM 含量の多いマングローブ林有機質土のものが主である (e.g., Ono et al. 2015; Barreto et al. 2016)。しかしながら、現時点で入手可能なもっとも包括的なデータセットによると、マングローブ林 SOM 含量は世界平均で 2.2%、第3四分位数が 5% である (N = 947, Kristensen et al., 2008)。マングローブ林はその炭素プールの大きさから SOM 含量の多い地域 (特に Indo-Pacific region) が優先的に研究される傾向にあるものの (Donato et al., 2011; Murdiyarso et al., 2015; Atwood et al., 2017)、SOM 含量 5% 以下の土壌がマングローブ林にとってはいわば「普通」であり、そういった環境の SOM 特性をより研究する必要があるといえる。そこで本章では、SOM 含量の比較的低い石垣島吹通川河口マングローブ林において SOM の主要画分であるフミン酸およびフルボ酸を抽出してそれらの化学構造特性解析をおこなった。

5-2 試料と方法

5-2-1 調査地

3-2-1 と同じく、石垣島吹通川河口マングローブ林とした。1 m 長のハンディ採泥器を用いて植物バイオマス調査用の 80 m 方形区内の四隅と中心において予備サンプリング調査をお

こない、土壌深度がおおよそ1 mであることおよびSOM含量は1.79~4.96%であることを確認した。

5-2-2 サンプルング

2015年6月1日の干潮時に80 m 方形区のすぐ脇（上流側）から自作の1 m PVCパイプコアサンプラー（内径56 mm）を用いて1 m コアを採取した（図5-1）。コアサンプラーの両端をゴム栓で密封してビニールテープで縛り研究室へと保冷移送した。研究室にて土壌コアを慎重に押し出し4等分に切り分けた。なお、土壌コアは60 cmに圧縮されていたが、各深度の圧縮率は等しいものとして扱った。小口試料は生土のままpH・EC測定に供し、残りは風乾した。風乾後、2 mm孔径のふるいを通し、ふるいを通した土壌試料からピンセットと静電気法（Kuziyakov et al., 2001）を用いて微細な根を努力限界まで取り除き、調整試料を作成した。

5-3-3 土壌物理化学性

土壌pHおよびECはそれぞれガラス電極法およびイオン電極法にて測定した。すなわち、pHは土壌試料に蒸留水を固液比1:2.5となるように加え、30分間振とう後に1時間半静置し、測定前に再懸濁させて懸濁液をpHメーター（F-52, HORIBA, Japan）で測定した。ECは、土壌試料に蒸留水を固液比1:5となるように加え、1時間振とう後、懸濁液をECメーター（CM-30V, TOA Electronics, Japan）で測定した。堆積物研究では生土を遠心分離に処して採取した水のpH・ECを直接測定することが一般的であるが（Kristensen and Rabenhorst, 2015）、本実験においては試料量や実験計画の制約もあり土壌学の手法を用いた。粒径組成はピペット法でおこない、土色はマンセル色見本に基づいて風乾土に対して決定した。風乾土の一部を小口試料として乳棒と乳鉢を用いて粉碎し、0.5 mm孔径のふるい

を全通させた。その後、2 M HCl を用いて無機炭素 (IC) を除去し、元素分析計 (2400 II, PerkinElmer Japan, Japan) を用いて乾式燃焼法にて元素組成を求めた。表 5-1 に理化学性分析の結果を示す。

5-3-4 腐植物質分析

5-3-4-1 腐植物質の精製

5-2-2 で用意した調整試料から IHSS 法に基づきフミン酸およびフルボ酸を精製した (Swift, 1996)。詳細は藤嶽 (2006) に詳しいので参照されたい。

5-3-4-2 元素分析

精製したフミン酸およびフルボ酸の元素分析は以下のおこなった。すなわち、105°C、12 時間の乾燥操作により水分を除去し、元素分析計 (2400 II, PerkinElmer Japan, Japan) を用いて乾式燃焼法により測定した。標準試料はアセトアニリド (試薬特級, Wako Pure Chemical Industries, Japan) とし、測定には 2~5 mg の乾燥試料を用い、3~5 回測定の平均値を用いた。分析精度としては、C, H, N それぞれの元素に対してフミン酸は CV < 1.3, 2.5, 4.2%, フルボ酸は CV < 1.8, 4.2, 9.6%であった。酸素 (O) 含量は無水無灰分換算で試料重量から C, H, N 重量を差し引くことで算出した。灰分含量は 5~7 mg の試料を用い、白金ボート上にて 105°C で 12 時間乾燥させた試料を 550°C で 6 時間以上燃焼して燃焼前後の重量比から算出した。全試料において灰分含量は 3%以下であった。なお、HS 粉末試料の 105°C 乾燥時の重量変化は 12 時間までは減少を続け 12~24 時間までは 5%水準で有意に変化しなかったため、乾燥時間は 12~24 時間の間ならどの時間を採用しても構わない (園田・西村 2014, pers. comm.).

5-3-4-3 核磁気共鳴分析

精製したフミン酸およびフルボ酸について、核磁気共鳴装置 (Avance 500 spectrometer, Bruker GmbH, Germany) を用いて液体 ^{13}C NMR スペクトルを測定した。約 35 mg の試料を重水 250 μL (99.96 atom % D, Sigma-Aldrich) と 10 M 重水酸化ナトリウム水溶液 10 μL (99.5 atom % D, Sigma-Aldrich) を用いてバイアル内で完全溶解させた。内標準物質として 2.5%重トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム 5 μL (98 atom % D, Euriso-Top) を添加し、外径 5 mm の底上げ NMR 試料管 (BMS-005B, Shigemi, Japan) に試料溶液を移した。この試料溶液を逆ゲート付きカップリング法により ^{13}C NMR 分析に供した。測定条件は以下のとおりである。

観測周波数：125.76 MHz

パルス角：45°

データ取得時間：0.839 s

遅延時間 2.5 s

取得した NMR スペクトルは以下の化学シフト領域に帰属した。すなわち、5~48 ppm は飽和脂肪族炭素 (alkyl C)、48~60 ppm は N 含有脂肪族炭素およびメトキシ基炭素 (N-alkyl/methoxy C)、60~110 ppm はアルコール、糖などの酸素の結合した炭素 (O-alkyl C)、110~145 ppm は脂肪族鎖の結合した炭素や縮合環の芳香族炭素 (aryl C)、145~165 ppm は窒素または酸素 (フェノール性ヒドロキシ基) の結合した芳香族炭素 (O-aryl C)、165~190 ppm はエステル炭素、アミド炭素およびカルボキシ基炭素 (carboxy C)、190~220 ppm はカルボニル基炭素 (carbonyl C) とした (Hatcher et al., 1980; Knicker and Lüdemann, 1995)。ついで、NMR 解析ソフトウェア (Topspin 3.5, Bruker) を用いて各化学シフト領域のピーク強度を積算し面積割合を求めることで各官能基の相対含有割合を算出した。さらに、芳香

族度 (Aromaticity) を以下の式により算出した (Hatcher et al., 1980).

$$\text{Aromaticity} = (\text{aryl C} + \text{O-aryl C}) / (\text{alkyl C} + \text{O-alkyl C} + \text{aryl C} + \text{O-aryl C})$$

また, alkyl/O-alkyl 比を有機物分解程度の指標として以下の式により算出した (Baldock et al., 1997).

$$\text{alkyl/O-alkyl} = \text{alkyl C} / (\text{N-alkyl/methoxy C} + \text{O-alkyl C})$$

5-3-4-4 腐植物質形態分析

IHSS 法は HS 抽出においては定量的でないので, 以下の方法によりフミン酸・フルボ酸画分の定量をおこなった (腐植形態分析: Kumada et al. 1967). すなわち, 5-2-2 で用意した調整試料を 0.5 mm 孔径のふるいを全通するまで微粉碎し, 300 mgC 相当の試料に対して 0.5% NaOH 溶液 90 mL を添加し, 30 分間の加温抽出に処した. 室温まで冷却後に遠心分離 (11,000 rpm, 15 分間) をおこない, 上澄み液を得た. ついで, 上澄み液 20 mL を採取し, 濃硫酸 0.2 mL を添加して酸性化し (pH = 1), 一晩静置後にろ紙 (No. 2, Toyo Roshi Kaisha, Japan) を用いてフミン酸画分とフルボ酸画分を分離した. ろ紙上のフミン酸画分は 0.1% NaOH 水溶液を用いて 100 mL の全量フラスコに溶かし込み, 定容とした. 定容試料は 0.1% NaOH 水溶液を用いて 10 倍希釈し, 分光光度計 (V-630, JASCO Corporation, Japan) を用いて 600 nm および 400 nm の吸光度 (A400, A600) を測定した. 光路長 1 cm の石英セルを使用してブランクには 0.1% NaOH 水溶液を用い, バンド幅を 1 nm に設定して 3 連で測定し, 結果には平均値を用いた. ついで, フミン酸およびフルボ酸画分の炭素濃度を TOC 計により測定した. フルボ酸画分の測定条件は 2-2-4 の通りであるが, フミン酸画分の測定時には酸性化による沈殿を避けるために Ikeya and Watanabe (2003) に準じて測定

した。すなわち、定容試料を 1/15 M KH_2PO_4 溶液(試薬特級, Wako Pure Chemical Industries, Japan) を用いて 5 倍希釈して pH を 7 以下とし、TOC 計による酸添加はおこなわず、キャリアガスによるスパージのみをおこない炭素濃度を測定した。Ikeya and Watanabe (2003) はこの操作で IC は完全除去できるとしているものの、酸性時と比較して IC 除去が困難であることは間違いないので、スパージ時間は 5 分間と長めにとった。ヒューミン (HU) 含量は SOM 含量からフミン酸およびフルボ酸画分含量を差し引くことで算出した。また、フミン酸画分については吸光度および炭素濃度を用い、 $\log (A_{400}/A_{600})$ および A_{600}/C を求めた (Ikeya and Watanabe, 2003)。

5-3 結果と考察

5-3-1 土壌コア試料の一般特性

土壌深度に伴いシルトおよび粘土含量は増加して砂含量は減少した。しかしいずれの深度においても土性は砂埴壤土 (Sandy Clay Loam, SCL) に分類された。pH は 6.5~7.0 の範囲で大きくは変化せず、EC は深度に伴って増加した。土壌有機炭素 (Soil Organic Carbon, SOC) 含量は深度に伴って 3.1% から 4.4% まで増加し、全窒素 (Total Nitrogen, TN) 含量も同様の増加傾向を示した。その結果、C/N 比は 27.6~33.6 の間で推移した。SOC および TN 含量、C/N 比は予備サンプリング調査の試料に対して得られた値の範囲内に収まっており、本研究で得られた土壌コア試料をサイトの代表試料とみなすことは妥当であると考えた。

アルカリ抽出可溶画分の割合 (%FA + %HA) はコア試料の全深度において一定の値 (約 40%) を示した。なお、アルカリ抽出前に HCl 処理をおこなった場合でも抽出割合は増加しなかった (データは示さず)。フミン酸画分含量はフルボ酸画分含量のおおよそ 2 倍であり深度に伴ってわずかに増加した。Kinjo et al. (2006) は本研究と同じ石垣島吹通川河口マ

ングローブ林において（本研究のサンプリング地点から直線距離で250~400 m離れた6地点）、表層0~5 mmの粘土層に対して同様の実験をおこなっている。本研究の結果と Kinjo et al. (2006) の結果について、フミン酸画分の $\log(A400/A600)$ 値と $A600/C$ 値の関係性を図5-2に示した。また、腐植形態分析は沿岸生態系の土壌や堆積物に対して用いられた例は極めてまれであるものの、先行研究として2報を確認できたので併載した。ただし、これらの結果は原文においては図として記載されていたため WebPlotDigitizer を用いてデータを抽出した (<https://automeris.io/WebPlotDigitizer/>)。

本研究の結果は、表層0~5 mmの土壌試料に対して得られた Kinjo et al. (2006) の結果と比較すると $A600/C$ 値が少し高く、かつ土壌深度に伴う $\log(A400/A600)$ の低下と $A600/C$ 値の上昇が認められた（図5-2の内挿図）。一般に、 $\log(A400/A600)$ 値はフミン酸の共役結合の発達に伴って低下し、 $A600/C$ 値は発色団を持つ吸光性成分と非吸光性成分（もしくは弱吸光性成分）の比率により変動し、非吸光性成分の減少に伴い上昇する (Ikeya and Watanabe, 2003)。したがって、 $\log(A400/A600)$ 値の低下および $A600/C$ 値の上昇はフミン酸画分の腐植化度の進行として解釈され (Ikeya and Watanabe, 2003)、この時、図5-2において左下から右上に曲線的に上昇する。この解釈に倣うと、吹通川河口マングローブ林フミン酸画分はスペインの塩性湿地フミン酸 (Santín et al., 2009) よりは腐植化が進行しており、インドの未開拓マングローブ林フミン酸 (Ranjan et al., 2010) よりは未熟であると考えられる。また、本研究の1mコアの結果は深度に伴うフミン酸画分の腐植化度の進行を示唆する。通常、マングローブ林においては潮汐や生物活動の影響により土壌の鉛直かく乱が生じるが、本土壌コアにおいては巨視的にみると腐植化度の進行が時間の進行に並行しているという一般的な堆積・有機物分解が起きていると考えられる。ただし、石垣島吹通川河口マングローブ林全体における堆積・有機物分解過程を評価するには、広範囲にわたるサンプリングをおこない ^{14}C 年代を測定する必要がある。なお、腐植の形態分析における型としては1 m コアのいずれの深度の試料も B 型に分類された。

5-3-2 腐植物質の元素組成

フミン酸およびフルボ酸の元素分析結果を表 5-2 に示す。また、N, H, O 含量の C 含量に対する比を原子数比（モル比）で記載した。全深度において、フミン酸はフルボ酸と比較して C, H, N 含量が多く O 含量が少なかった。結果として、フミン酸は N/C 比および H/C 比が高く、一方のフルボ酸は O/C 比が高かった。これらの元素組成の結果から、フミン酸は脂肪属性構造に富み、フルボ酸は炭水化物構造やカルボキシ基およびフェノール性ヒドロキシ基、カルボニル基などの酸素含有官能基に富むことが示唆される。フルボ酸は窒素に乏しく、結果として C/N 比は極めて高かったものの、中国のマングローブ林土壌から精製されたフルボ酸の値 (51.1) と同程度であった (Zhang et al., 2011)。フルボ酸の精製に用いられる DAX-8 樹脂は疎水性成分を選択的に吸着するため、窒素を含有する極性が高く親水性の成分は吸着しにくかった結果かもしれないが (Reemtsma et al., 2008)、いずれにしろフルボ酸として精製された成分の N 含量の低かったことは事実であり、有機物給源として高等植物の寄与が大きいのか、分解過程で選択的に窒素が消費されたことを示唆する (Sun et al., 1997; Hunt et al., 2000)。フミン酸は N 含量が多く H/C 比が高かったことより、タンパク質やペプチドのような部分構造を持つ N 含有成分をフルボ酸より多く含むことが示唆される。

深度に伴う元素組成の変化については、フミン酸およびフルボ酸の C 含量は深度に伴う明確な変化は示さなかったが、H 含量は深度に伴ってわずかに減少した。フミン酸において H/C 比の減少したことは腐植化過程において芳香族度が上昇したことを示唆し (Rodríguez-Murillo et al., 2017)、このことは前節で述べた $\log(A400/A600)$ 値および $A600/C$ 値の変化と整合性がある (図 5-2, 表 5-1)。フミン酸において深度に伴う N 含量の減少が認められたことは、分解・腐植化過程において選択的に窒素が消費されたことを示している。C 含量との相対含量で評価すると 0~25 cm から 75~100 cm 深になることで N

含量は25%減少し、その結果C/N比は20.4から26.8へ上昇した。分解に伴うこの選択的なN含量の低下を考慮すると、フルボ酸においてC/N比の高かったことはフルボ酸がフミン酸と比較して分解の進んだ状態にあることを示唆する (Sun et al., 1997; Hunt et al., 2000; Tremblay and Gagné, 2007)。

5-3-3 核磁気共鳴分析

図5-3にフミン酸およびフルボ酸の液体¹³C NMRスペクトルを示した。また、各種官能基炭素割合および芳香族度とalkyl C/O-alkyl C比を表5-3に示した。全試料において長鎖脂肪族のメチレン炭素(32 ppm)およびメトキシ基炭素(59 ppm)、ヘキソースの6番炭素(64 ppm)、ヘキソースの2~5番不斉炭素や脂肪族アルコール炭素(74 ppm)、水素のみが結合した芳香族炭素(118 ppm)、炭素で置換された芳香族炭素(132 ppm)、酸素で置換された芳香族炭素やフェノール性炭素(155 ppm)、カルボキシ基炭素(176 ppm)に由来するピークが観測された (Knicker and Lüdemann, 1995)。また、55と59 ppmおよび118と132 ppm, 155 ppmはそれぞれリグニンのメトキシ基炭素および芳香族炭素、フェノール性炭素に由来すると帰属された (Hatcher, 1987)。フミン酸とフルボ酸のNMRスペクトルの間では全深度において大きな違いが認められた。すなわち、フルボ酸はフミン酸と比較してシャープで明瞭なピークを有しており、分子の多様性がフミン酸と比較して小さいことがわかる。また、フルボ酸のみが20 ppm(末端のメチル基炭素)および28と39 ppm(メチレン炭素)、108 ppm(多糖のアノメリック炭素)、199 ppm(カルボニル基炭素)のシグナルピークを有していた (Knicker and Lüdemann, 1995)。

¹³C NMRスペクトルの各化学シフト領域の面積割合から算出した各官能基の相対含有割合に基づく、フミン酸はフルボ酸と比較してalkyl CおよびN-alkyl/methoxy Cが多く、O-aryl Cおよびcarboxy C, carbonyl Cが少なかった(表5-3)。フミン酸のalkyl Cが多いことはH/C比およびalkyl/O-alkyl比が高いことにも反映されており、これは沿岸生態系の

土壌に共通して見出される特徴である (e.g., Santín et al., 2008). Zhang et al., (2011) はフルボ酸の alkyl C が少ないことはフルボ酸中の比較的親水性の短鎖脂肪属成分の潮汐による洗脱により生じると考察している。一方で、フルボ酸は O-aryl C および carboxy C, carbonyl C が多く、フミン酸と比較してより酸化されて含酸素官能基に富むことを示しており、このことは O/C 比が高かった結果と整合性がある (表 5-2)。O-alkyl C 含量は上部 50 cm ではむしろフミン酸が多く、methoxy C 含量もフミン酸で高かったことから、フルボ酸における酸素含有量の高さはこれら含酸素官能基に起因すると結論付けた。フルボ酸における含酸素官能基の豊富さと海水でも可溶性な特徴は (Kida et al., 2016)、微量金属元素との複合体形成および沿岸生態系への運搬において重要であると考えられる。

深度に伴う各官能基割合の変化については、フミン酸の芳香族度が上昇していることはフミン酸の腐植化度の進行を示しており、このことはフミン酸画分の光学的特性の変化とも一致する (図 5-2)。芳香族度の上昇は alkyl C (5~48 ppm) と O-alkyl C (60~110 ppm) の減少および aryl C と O-aryl C (110~165 ppm) の増加により生じている。また、0~25 cm のフミン酸に見いだされるリグニンの芳香族炭素 (118・132 ppm) およびメトキシ基炭素 (55 ppm) に由来するシャープで明瞭なピークは深度に伴い減衰もしくはブロード化しており、リグニン分子の分解が示される。一方のフルボ酸は芳香族炭素、芳香族度、リグニンピークのいずれにおいても深度に伴う明瞭な変化は示さなかった。フルボ酸の変化は O-alkyl C と N-alkyl/methoxy C (48~110 ppm) の増加と alkyl C (5~48 ppm) の減少により特徴づけられ、その結果、alkyl/O-alkyl 比は 0.84 から 0.65 へと低下した (表 5-3)。深い深度ほど堆積後の時間が経過し有機物分解が進行していると仮定すると、このフルボ酸の alkyl/O-alkyl 比の変化は、分解に伴い alkyl/O-alkyl 比が上昇するというよく知られた有機物分解過程と矛盾する。この点について Baldock et al. (1997) は、この指標は単一の有機物を給源とする有機物分解過程の変化を追跡する場合にのみ有効であるとしており、本研究のようなマングローブ林土壌における有機物給源は流域土壌および河川、マングローブ、海洋と様々

であるため、有機物分解指標としての alkyl/O-alkyl 比の使用は適さないかもしれない。特に海水にも可溶性フルボ酸については潮汐による水の動きに伴って土壌中で上下に移動する可能性があり、さらに alkyl/O-alkyl 比の変化を不明瞭にすることが考えられる。

以上より、フミン酸はフルボ酸のおよそ2倍存在し(表5-1)、深度に伴う特性変化が明瞭であったことから、土壌の鉛直かく乱がない限りフミン酸はマングローブ林土壌における SOM 分解のよい指標として用いることができると考える。また、海水への溶解度は低く重金属元素や疎水性有機汚染物質との相互作用も一般に高いことから (Chiou et al., 1986; Wershaw, 1986; Gauthier et al., 1987; Chin et al., 1997)、それらの元素や物質をマングローブ林土壌に固定・保持する役割を果たしている可能性がある。一方のフルボ酸は含酸素官能基に富み海水可溶性ことから (Catrouillet et al., 2014; Kida et al., 2016)、微量金属元素との複合体形成・海洋への運搬に重要であろう。このように、マングローブ林土壌におけるフミン酸、フルボ酸の生物地球化学的・生態学的役割を区別して議論や考察をおこなう必要性があると考えられる。

5-4 結論

マングローブ林の生態系サービスにおける SOM の役割は生元素の循環や汚染物質の移動集積に影響を与える生物地球化学的機能であり、その機能性は SOM の化学構造特性によって異なるために対象とする土壌ごとに SOM の化学構造特性を分析することが重要である。本章では、低 SOM 含量のマングローブ林が世界的には主要であるにも関わらずそういったマングローブ林の SOM 研究は不足していることを鑑みて、石垣島吹通川河口マングローブ林における SOM の主要画分であるフミン酸およびフルボ酸の分析を通じてそれらの生物地球化学的・生態学的役割を考察した。

- ・ 光学的分析・元素分析・NMR 分析の全てにおいて、深度に伴うフミン酸の腐植化（吸光度の増加・H/C, N/C の低下・リグニンピークの減衰・芳香族度の上昇）が認められ

た。全深度においてフルボ酸の2倍存在していたことから、フミン酸はマングローブ林土壌における SOM 分解のよい指標として用いることができる。フミン酸は海水への溶解度は低く重金属元素や疎水性有機汚染物質との相互作用も高いのでそれらをマングローブ林土壌に固定・保持する役割を果たしていると考えられる。

- ・ フルボ酸は深度に伴う明瞭な変化は示さず、フミン酸と比較して分子の多様性が小さくより酸化分解の進んだ成分であると考えられた。フルボ酸は含酸素官能基に富み海水可溶性なことから、微量金属元素の沿岸海域への運搬に重要であると考えられる。

さらに、第3章および第4章で論じたような淡水の流入によるフミン酸の可動化、沿岸への放出があるとする、フミン酸と共にマングローブ林土壌へ固定された汚染物質の集中放出も考える。第3章から本章までの実験結果ならびに考察から一貫して導きだされたことは、水文環境を考慮したマングローブ林生態系における物質循環論の必要性である。

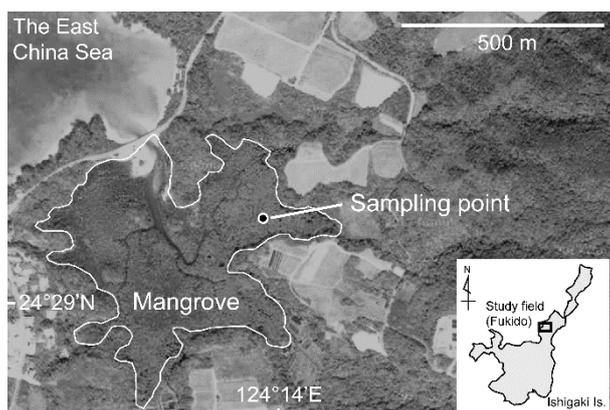


図 5-1. 沖縄県石垣島吹通川河口マングローブ林における 1m コア採取地点.

表 5-1. 1m コアの一般理化学性および腐植形態分析結果.

Section depth (cm)	0-25	25-50	50-75	75-100
pH (H ₂ O)	6.5	7.0	6.8	7.0
pH (KCl)	6.1	6.3	6.1	6.0
EC (mS m ⁻¹)	460	549	691	673
%SOC	3.1	3.2	4.0	4.4
%TN	0.10	0.10	0.14	0.16
C/N	30.2	33.6	28.7	27.6
%Sand	69.8	67.5	65.4	60.1
%Silt	14.9	14.5	15.2	17.6
%Clay	15.3	18.0	19.3	22.3
texture	SCL	SCL	SCL	SCL
color (dry)	2.5YR 4/2	2.5YR 4/2	2.5YR 4/1	2.5YR 4/1
%FA	12.8	13.7	12.8	11.6
%HA	26.7	26.5	27.3	28.6
%HU	60.4	59.8	59.8	59.8
Log (A400/A600)	0.822	0.820	0.804	0.790
A600/C	2.68	2.89	2.92	3.24

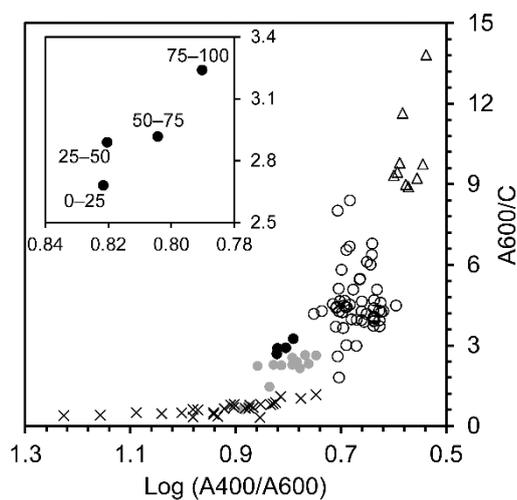


図5-2. 1mコア腐植形態分析結果の他研究との比較. 黒丸は本研究, 灰丸は本研究と同じ吹通川河口マングローブ林の表層0~5 mmの粘土層 (Kinjo et al., 2006), 白丸および三角はそれぞれインドのマングローブ林および近傍の河口土壌 (Ranjan et al., 2010), バツ印はスペインの塩性湿地 (Santín et al., 2009). 内挿図は本研究結果の拡大図. A600/Cについては, データがRFで与えられていた場合は $A600/C = 0.0648 * RF$ (Ikeya and Watanabe 2003) により数値の変換をおこなった. Ranjan et al. (2010) および Santín et al. (2009) の報告値はそれぞれIHSS法およびNAGOYA法により精製されたフミン酸における結果である. また, Ranjan et al. (2010) のコアAの結果はA600/Cが高すぎ信憑性に欠けると判断して除外した.

表 5-2. 1m コアから精製したフミン酸 (HA) およびフルボ酸 (FA) の元素分析結果.

Depth (cm)	C%	H%	N%	O%	N/C (atomic)	H/C (atomic)	O/C (atomic)	C/N
HA								
0-25	54.3	4.67	3.10	37.9	0.049	1.03	0.52	17.5
25-50	53.0	4.42	2.76	39.8	0.045	1.00	0.56	19.2
50-75	53.7	4.45	2.51	39.3	0.040	0.99	0.55	21.4
75-100	52.2	4.21	2.27	41.3	0.037	0.97	0.59	23.0
FA								
0-25	50.3	3.84	0.97	44.8	0.017	0.91	0.67	52.4
25-50	49.9	3.80	0.90	45.4	0.015	0.91	0.68	55.9
50-75	51.1	3.70	0.95	44.3	0.016	0.86	0.65	54.3
75-100	50.5	3.68	0.94	44.9	0.016	0.87	0.67	53.8

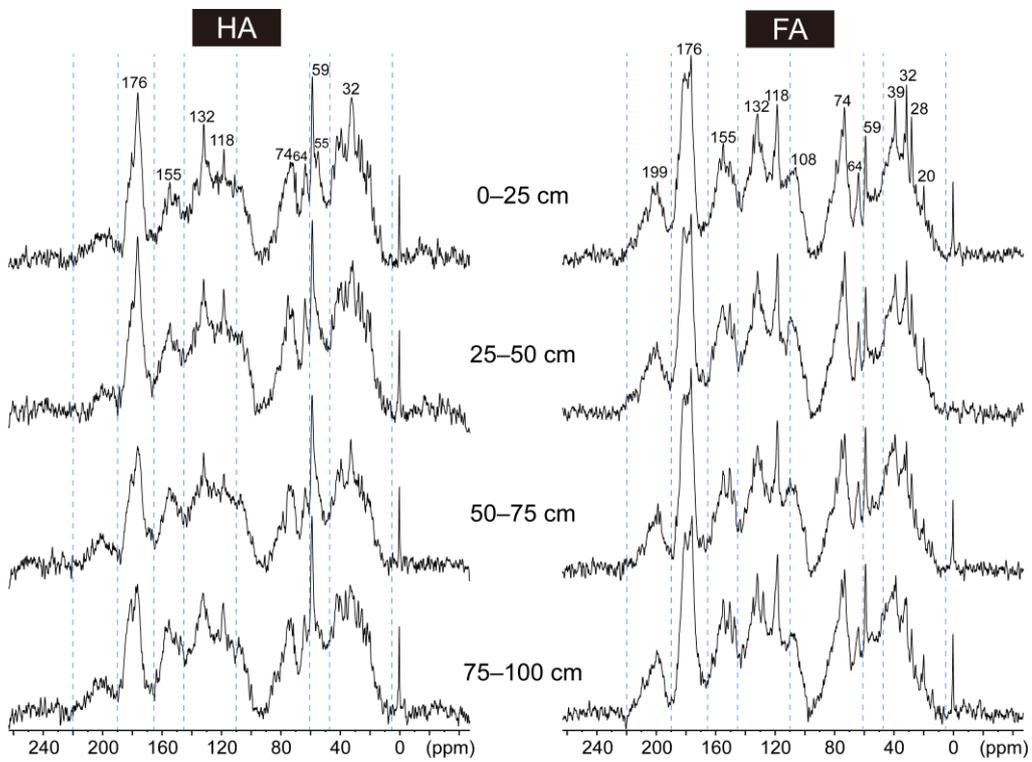


図 5-3. 1m コアから精製したフミン酸 (HA) およびフルボ酸 (FA) の ^{13}C NMR スペクトル. 破線は各種官能基帰属領域の境界を示す.

表 5-3. 1m コアから精製したフミン酸 (HA) およびフルボ酸 (FA) の ^{13}C NMR スペクトルの相対ピーク強度から算出した各種官能基炭素割合および芳香族度 (Aromaticity) と alkyl /O-alkyl 比.

Depth (cm)	Carbonyl	Carboxyl	O-aryl	Aryl	O-alkyl	N-alkyl	Alkyl	Aromaticity	Alkyl/O-alkyl
	220-190	190-165	165-145	145-110	110-60	Methoxyl 60-48	48-5		
HA									
0-25	3.8	12.4	7.9	21.7	19.3	8.7	26.2	35.3	0.93
25-50	2.6	12.8	9.2	22.1	19.6	8.7	25.1	36.9	0.89
50-75	3.9	12.8	9.8	23.4	17.6	9.0	23.3	39.9	0.87
75-100	4.5	12.4	10.3	22.2	17.7	9.0	24.0	39.1	0.90
FA									
0-25	7.6	16.1	10.5	21.7	18.4	5.6	20.1	42.3	0.84
25-50	7.8	16.1	10.8	21.4	19.2	5.4	19.3	42.2	0.78
50-75	6.3	15.9	9.9	21.3	20.6	6.6	19.4	40.2	0.71
75-100	6.0	15.7	11.0	22.2	20.2	7.2	17.8	42.3	0.65

第6章 総合考察

本研究は、マングローブ林の価値は沿岸海域および人間社会に与える多様な生態系サービスであるという考えに立脚し、マングローブ林生態系サービスの重要な因子である天然有機物の分布や特性に着目して研究をおこなった。

第1章ではマングローブ林生態系研究の歴史を概観したあと、マングローブ林生態系における炭素動態を SOM および DOM に絞って概説し、それら天然有機物のマングローブ林生態系サービスにおける重要性を説明した。また、マングローブ林土壌への SOM 蓄積機序が実は不明確であることを指摘した。第2章では、塩濃度の変動するマングローブ林生態系における非イオン性 DAX-8 樹脂の使用可能性を検証し、その結果を受けて第3章から第5章においては当該樹脂を用いて DOM・SOM の定量・定性をおこなった。具体的には、第3章においては石垣島吹通川において源流—マングローブ林内—海における DOM の特性および組成変化の把握をおこない、マングローブ林から HS・NHS 両成分の供給されること、および降雨の影響によって流域やマングローブ土壌からのそれら成分の供給量が増加することを見出した。第4章においてはマングローブ林内土壌の塩濃度を変動させた際の SOM の挙動を検証してマングローブ林における新たな SOM 蓄積機序を提唱した。第5章においては低 SOM 含量のマングローブ林が世界的には主要であるにも関わらずそういったマングローブ林の SOM 研究は不足していることを指摘し、ケーススタディーとして石垣島吹通川河口マングローブ林の SOM 特性を分析し、フミン酸・フルボ酸の生物地球化学的・生態学的役割を区別して議論や考察をおこなう必要性を示した。さらに、第3章から第5章にわたった一貫した議論として、水文環境を考慮したマングローブ林生態系における物質循環論の必要性を説いた。以下、これらの議論に関して今後必要な検討事項や研究の方向性を論じる。

本研究で提唱した、海水塩によるフミン酸画分の凝集沈殿現象によるマングローブ林土壌への SOM 蓄積メカニズムは新規性と普遍性が高く、今後の活発な展開が期待されるものの、その新規性ゆえに未解明な部分も多い。主要な点に限っても以下の項目が挙げられる：

- ① フミン酸画分の起源
- ② フミン酸画分の存在形態
- ③ 可動化したフミン酸画分の運命
- ④ 可動化したフミン酸画分が沿岸生態系に与える影響
- ⑤ フミン酸画分を可動化させる降雨量
- ⑥ 炭素プールへの量的寄与

具体的には、① フミン酸画分は流域、マングローブ、海水中有機物のいずれに由来するの
であろうか。吹通川マングローブ林 SOM の安定炭素同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$) の結果では、有機
物の起源の指標となる $\delta^{13}\text{C}$ は平均して -28‰ を示しており (飯村, pers. comm.), SOM
は高等植物由来であることが明らかとなっている。したがって、当該フミン酸画分と SOM
の起源が同一であると仮定すると、海水中有機物の可能性は消えるか無視できる程度であ
ると考えることができる。マングローブ由来であれば、マングローブ林は光合成によって固
定した炭素を効率的に土壌炭素プールに変換・固定化する役割を担っていると言えるが、吹
通川マングローブ林は規模が小さく、流域からの距離が短いことも相まって、流域土壌中の
有機物 (流域の高等植物由来) の影響も無視できない。実際、マングローブ林の場所によっ
ては流域の土砂が流入していることをフィールド調査によって確認している。Dittmar et al.
(2001) によれば、マングローブ由来有機物と流域由来有機物はリグニン由来フェノール分
析をおこなうことで判別できる。

- ② SUVA₂₅₄ の値が高かったことから判断して、可動化したフミン酸画分はおそらく粘土

または金属陽イオンとの複合体コロイドとして存在していると推測した。この可動化したフミン酸画分に NaOH 水溶液を添加して溶液をアルカリ性にしてもなお溶液は透き通らずにコロイドが維持されることを確認したことから、特に Na 型粘土鉱物との複合体コロイドである可能性が高いと考えた (Na 型の粘土鉱物は、イオン強度を低下させると分散することが知られている)。また、トラート試料の可動化したフミン酸画分について、6 回の逐次洗浄分をひとまとめにし、残留している可能性のある塩分を透析によって取り除いた後も、Avicennia 帯, Rhizophora 帯, Xylocarpus 帯においてそれぞれ 7.3%, 5.1%, 2.8% の灰分を含んでいた (550°C 燃焼)。さらに Avicennia 帯と Rhizophora 帯の灰分残渣は赤褐色を呈しており、鉄の存在が示唆された。現場で土壤中においてもコロイド態で存在しているとすれば、コロイド態の有機物は一般に微生物にとって利用しづらい形態なので (Lützow et al., 2006)、マングローブ林の SOM 分解が遅いとされていることへの重要な示唆となる。マングローブ林の SOM 分解が遅い理由としては (本当に遅いのかは別として: 1-3 参照), (i) マングローブリターにはリグニンやタンニンといったフェノール性成分含量が多く, (ii) それらの分解を担う微生物酵素 (フェノールオキシダーゼ) が活性を示すためには酸素分子が必須であるため嫌氣的環境ではフェノール性成分の分解は進まないこと, および (iii) それら集積したフェノール性成分がさらに他種の有機物分解酵素 (加水分解酵素, これら自体は酸素分子を必要としない) の活性を阻害すること (Freeman et al., 2001, 2004) が主因として挙げられている (Saraswati et al., 2016; Friesen et al., 2017)。なお, (ii), (iii) を併せて「enzymic latch」効果と呼び、スコットランドなどの北方地方におけるピート集積メカニズムとして考えられている (Freeman et al., 2001, 2004)。ただし、これは一般にマングローブピートと称される特定のマングローブ林に成立する有機質土における話であって、吹通川河口マングローブ林のような鉱質土壌 (そういった土壌がマングローブ林では普通: 5-1 参照) においてはリグニンの半減期 (150 年) は SOM 全体の半減期 (300 年) より短いのでリグニンは常に欠乏している状態にあることが報告されており (Dittmar and Lara, 2001b),

そもそもマングローブリターは流域由来有機物よりもリグニン含有量が少ないこともあり (Dittmar et al., 2001), (i) の前提にも疑問が残る. マングローブ林土壌は塩濃度が高いことから SOM がコロイド態や凝集態で存在している可能性が高く, その存在形態ゆえに生分解性が低い (Lützow et al. (2006) の言うところの Spatial inaccessibility および Interactions with surfaces and metal ions による) のだろうと思われる.

③ 可動化したフミン酸画分は, 淡水流入量が著しく多く沿岸海域まで運ばれた場合を想定してもなお, 再びそこで沈殿するであろう. したがって, 塩濃度によるフミン酸画分の挙動としては, 低塩濃度による可動化よりは高塩濃度による凝集沈殿・土壌への固定化が重要だと考える. ただし, トラート試料の逐次抽出試験 (4-3-1) においてはフルボ酸濃度の上昇も認められ, このフルボ酸は再凝集することはなく海洋に拡散すると考える. 高塩濃度時はマングローブ土壌中でフミン酸画分に取り込まれる形で固定化されていたのかもしれない. 水中に放出されると同時に光分解や微生物分解をより強く受けるようになりつつも (Dittmar et al., 2006), 沿岸海域の一次・二次生産を下支えする役割を果たしながら, 海洋の炭素プールの一部として取り込まれるだろう (Arrieta et al., 2015).

④ ③の議論より, フミン酸画分の可動化は炭素プールとしてはその集積場所の移動以上の意味を持たないかもしれないが, 随伴する他の物質の移動には大きな意味を持っている可能性がある. 一般にフミン酸は各種の汚染物質との相互作用が高く, マングローブ土壌にそれらの物質を集積する作用を示す (Marchand et al., 2011; Ranjan et al., 2012). 降雨の影響によって可動化されるフミン酸画分とともに汚染物質が沿岸海域に放出されることがあれば, マングローブ林が存在しない場合と比較して汚染物質の移動集積がより突発的 (episodic) になり, レジリエンスの低い生態系には大きなダメージを与えることもあるかもしれない.

⑤ 本研究においてはフミン酸画分の分散が認められた EC 値は石垣島試料においては最大 115 mS m^{-1} , トラート試料においては $118\sim 197 \text{ mS m}^{-1}$ であった (4-4). 石垣島試料の

再凝集実験においては 150 mS m^{-1} を超えた時に沈殿割合は急上昇を始めたことから判断しても (4-3-2), EC 値 150 mS m^{-1} (塩濃度換算 0.75 ppt) がフミン酸画分可動化の閾値であると考えられる. 河川中の DOM の河口域における凝集沈殿や (Asmala et al., 2014), それらの凝集様式を室内実験において塩濃度を変化させて観察した場合においても (Baalousha et al., 2006), 同様の低塩濃度域においてもっとも顕著な凝集様式が観察されることも本研究の結果を支持する. それでは, どの程度の降雨量があった場合にその閾値までマングローブ林土壌塩濃度は低下しうるのだろうか. これはマングローブ林と集水域の面積比, マングローブ林への河川の流入形態, マングローブ林土壌の物理性 (通水性), 地下水への海水の影響程度など種々のパラメータに影響を受け, 特に地形学・水文学が重要になると考えられる. マングローブ林はその発達様式により「河川型 (riverine type)」「河口型 (estuarine type)」「海岸型 (fringe type)」に大別される. ベースフロー条件においては河川型-河口型-海岸型となるにつれて海水の影響が強くなるものの, 降雨の影響は河川がマングローブ林内を蛇行しているほど効果的に現れると思われる.

⑥ 6回の逐次洗浄試験において可動化した HS が土壌炭素プール (SOM) に占める割合は 1%程度に過ぎない. さらなる逐次洗浄をおこなうと HS の溶出は続くものの (4-2-3), 21回の逐次洗浄における累積溶出量 (吸光度で評価) も 3%程度である. 形態分析におけるアルカリ加熱抽出においても 40%の抽出効率にとどまったため (5-3-1), 脱塩洗浄により潜在的に溶出可能な HS は土壌炭素プールの 10%にも満たないだろう. では, 高塩濃度によるフミン酸画分の凝集現象はマングローブ林土壌炭素プールの 10%以下の蓄積しか説明できないのであろうか. この点に関しては, HS- (Na 型) 粘土複合体に及ぼす塩濃度の影響について, 以下の点に分けて議論する必要がある. すなわち, (i) 凝集沈殿によるマングローブ林土壌への固定化と (ii) 凝集による難分解性の獲得である. (i) による寄与の最大値は, 塩濃度の低下によって分散して可動化するフミン酸画分の潜在的な全量と同量であり, 逐次洗浄の結果から判断してマングローブ林土壌炭素プールの 10%以下である. 一方,

(ii) は第4章では論じなかったフミン酸画分の存在形態による見かけの難分解性の向上である (Lützow et al., 2006). ②でも論じたような, コロイド態や凝集態という存在形態による微生物分解への物理的な耐性に関する議論はマングローブ林の SOM については全くおこなわれていない. このメカニズムがマングローブ林土壌炭素プールの何割に寄与しているかは現時点では未知であるものの, これは全てのマングローブ林に普遍的なメカニズムと考えられ, 今後の研究が必要である. 塩濃度を変化させると, SOM 分解を担う微生物の種組成にも影響が表れることが想定されるため, SOM の存在形態のみを変化させた SOM 分解速度の対照実験をおこなうことは容易ではない. まずはモデル実験として SOM 分解酵素とマングローブ土壌から抽出精製した HS を用い, 塩濃度を変化させることで HS 分解速度に生じる差を検証することから始めるのが妥当であろう. さらに, 現場試料において同定した粘土鉱物の種類や添加量を変更しながら, それらと HS との相互作用を加味して検証をおこなうとより詳細な知見が得られると考える.

要約

第1章

マングローブ林は、炭素プールとしての重要性を受けて「Blue Carbon」として世界的な保全の対象となっている。しかしながらマングローブ林の現在の年間 CO₂ 固定量を植樹によって倍増させたとしても全球の年間 CO₂ 放出量の僅か 0.58%にすぎず、マングローブ林面積を世界的に増加させても大気中 CO₂ の削減に有意に寄与するとは考えづらい。むしろ、マングローブ林保全プロジェクトの短中期レベルでの価値は、沿岸海域や人間社会に与えるマングローブ林の多様な生態系サービスによるところが大きい。本研究においてはそうした考えに立脚し、特にマングローブ林の基盤サービスおよび調整サービスの多くにとって重要な因子である土壌有機物 (Soil Organic Matter, SOM) および溶存有機物 (Dissolved Organic Matter, DOM) の分布や特性の解析を目的として研究をおこなった。マングローブ林生態系サービスにおける SOM の重要性は炭素プールの担い手であることと生元素の循環や汚染物質の移動集積に影響を与えることであり、DOM の重要性は微量金属元素および栄養塩を沿岸海域へ供給することである。SOM・DOM の循環速度や機能性はそれらの組成や化学構造特性によって異なるために対象とするマングローブ林ごとに化学構造特性を分析することが重要になる。一方で、マングローブ林生態系における精力的な炭素動態研究にもかかわらず、マングローブ林の SOM 蓄積機構は明らかでない。マングローブ林が陸上の森林生態系ともっとも異なる点は、海水に漬かる機会を持つという点に尽きる。この特殊な環境は高塩濃度の影響による SOM の凝集沈殿という可能性をもたらす。本論文ではこの点を考察するモデル実験をおこない、マングローブ林土壌の SOM 蓄積メカニズムに新たな可能性を提示することを試みた。

第2章

DOM は水への相対的な溶解性によりフミン物質 (Humic Substances, HS) と非フミン物質

(non-HS, NHS) に大別することができる。HS/NHS 分画定量には非イオン性 DAX-8 樹脂による分画定量法が用いられるが、HS は高分子電解質としての性質ゆえに pH や塩濃度のような溶液の化学性によってその立体構造を変化させ、HS と DAX-8 樹脂との疎水的相互作用は何らかの影響を受ける可能性がある。本章では、HS と DAX-8 樹脂との疎水的相互作用が溶液の塩濃度の増加によってどのような影響を受けるのかを確かめ、塩濃度の変動するマングローブ林生態系における DAX-8 樹脂を用いた分画定量法の妥当性を検証した。海水塩の影響程度は HS の化学構造特性により異なることが想定されたため、化学構造特性の対照的な標準試料を用意した。すなわち、芳香族性試料として Suwannee River フルボ酸と Nordic Reservoir フルボ酸を、脂肪族性試料として Pony Lake フルボ酸と Lake Biwa フルボ酸を使用した。結果としては脂肪族性試料の樹脂吸着割合は塩濃度による影響は受けず、芳香族性試料の樹脂吸着割合は塩濃度の上昇に応じて減少したものの、その減少程度はわずか 3% 以下だった。これらの結果から、海水までの塩濃度は HS と DAX-8 樹脂間の疎水的相互作用に大きな影響は与えず、DAX-8 樹脂を用いた HS の分別定量結果は塩濃度に左右されないと結論づけた。さらにこのことは、DAX-8 樹脂により分離精製された HS の化学構造特性は塩濃度に左右されず、塩濃度の異なる水系同士でもそれらの結果を互いに比較できることを意味している。この結果を受け、第 3 章・第 4 章・第 5 章において、塩濃度の変動するマングローブ林生態系における DAX-8 樹脂を用いた HS/NHS 分画定量および HS の抽出精製ならびに特性評価をおこなった。

第 3 章

DOM を生物地球化学的機能の異なる HS・NHS に分画定量して動態を把握することはマングローブ林生態系サービスを評価する上で重要である。しかしながら、分析対象としては希薄な DOM 中の HS 組成を分析することは容易ではなくその定量的評価は少ない。本章では、石垣島吹通川において HS/NHS 分画定量をおこない、源流—マングローブ林内—海

における DOM の特性および組成変化の把握を試みた。サンプリングは吹通川の源流部から湾にかけて 7 地点において 2013 年 5 月から 2016 年 6 月にかけて合計 15 回おこない、満潮時 1 回を除きすべて干潮時におこなって合計で 103 試料を得た。分析の結果、マングローブ林土壌からの HS・NHS 両成分の供給が認められた。また、HS/NHS 分画定量と並行して DOM の光学的分析（紫外・可視吸収スペクトル、三次元励起蛍光分析）もおこない、マングローブ林河川における報告例の多い DOM の光学的特性の変化をその HS/NHS 組成変化によって初めて明示した。さらに、多量の降雨による塩濃度の低下に伴い SOM が可溶化して河川へと供給されることを見出した。降雨条件や水文条件によってマングローブ林炭素動態が変化することはマングローブ林の炭素動態を考えるうえで極めて重要である。マングローブ林によって水文学的環境は異なり、塩濃度によって優先するマングローブ樹種や成長速度も異なるため、水文学的環境をパラメータとしてマングローブ林を分類したうえでその生態系サービスを評価する必要性が示された。

第 4 章

マングローブ林土壌の SOM 蓄積メカニズムに新たな可能性を提示することを目的とし、マングローブ林内土壌の塩濃度を変動させた際に SOM がどのような挙動を示すかを検証した。第 3 章と同じ石垣島吹通川マングローブ林に加えてタイ王国トラート県トラート川河口のマングローブ林において植生の異なる 3 地点から採取した試料も用いた。石垣島試料においては人工海水および超純水を用いて 6 回の逐次洗浄をおこない、抽出液に対して HS/NHS 分画定量をおこなった。人工海水を用いた場合には HS・NHS 濃度は洗浄に伴い漸減した。超純水を用いた場合には塩濃度は指数関数的に低下した一方で HS 濃度は 2 回目の洗浄で 2 倍に上昇し、塩濃度の低下により HS が液相に移行溶出したことが確認された。トラート試料においては超純水を用いて 6 回の逐次洗浄をおこない、抽出液を酸性化してフミン酸画分を沈殿分離したのちに上澄み液に対してフルボ酸/NHS 分画定量をおこない、

沈殿分離前後の差し引きでフミン酸画分濃度を算出した。全ての植生帯において石垣島試料と同様に指数関数的に塩濃度は低下し、それに伴いフミン酸画分濃度が3, 4倍に上昇した。石垣島試料・トラート試料においてHSの分散が認められた塩濃度は 200 mS m^{-1} 以下であった。これらの結果は塩濃度の低下によりHSが可動化する可能性を示しているものの、石垣島吹通川マングローブ林においては地形・水文学上、河川による海水塩の希釈効果は小さく、林内土壌中の塩濃度が高いからこそHSは凝集沈殿して蓄積されていることが強く示唆された。一方、トラートにおいては雨季の集中的降雨により淡水が長期間優先し、マングローブ林土壌表層の塩濃度が数カ月間ほぼ0になるとの報告がある。もしもこの現象がトラート川河口マングローブ林全域において起こるのであれば、乾季には高塩濃度によりフミン酸画分が凝集・蓄積し、雨季には塩濃度の低下により一度に放出されるという季節性を示す可能性が示唆された。

第5章

低SOM含量のマングローブ林が世界的には主要であるにも関わらずそういったマングローブ林のSOM研究は不足している。第3章と同じ石垣島吹通川河口マングローブ林において多地点土壌採取をおこない、土壌深度は1m程度であることおよびSOM含量は5C%以下であり比較的低いことを確認後、1m PVCパイプコアサンプラーを用いて1mコアを採取した。コア試料は25cm深別に4等分し、フミン酸およびフルボ酸を抽出してそれらの分析をおこなった。光学的分析・元素分析・NMR分析の全てにおいて、深度に伴うフミン酸の腐植化(吸光度の増加・H/C, N/Cの低下・リグニンピークの減衰・芳香族度の上昇)が認められた。全深度においてフルボ酸の2倍存在していたことから、フミン酸はマングローブ林土壌におけるSOM分解のよい指標として用いることができると考えられた。フミン酸は海水への溶解度は低く重金属元素や疎水性有機汚染物質との相互作用も高いのでこれらの元素や物質をマングローブ林土壌に固定・保持する役割を果たしていると考えられ

る。さらに、第3章・第4章で論じたような淡水の流入によるフミン酸の可溶化、沿岸への放出があるとする、フミン酸と共にマングローブ林土壌へ固定された汚染物質の集中放出も考える。一方のフルボ酸は深度に伴う明瞭な変化は示さず、フミン酸と比較して分子の多様性が小さくより酸化分解が進み含酸素官能基に富む成分であると考えられた。フルボ酸は第2章において示したように海水可溶であったことから、微量金属元素の沿岸海域への運搬に重要であると考えられる。このように、フミン酸およびフルボ酸の生物地球化学的・生態学的役割は異なることが明白であり、マングローブ林生態系における物質循環や生態系サービスを考察する際には両成分を区別して考えることの重要性が示された。

本研究においてはマングローブ林生態系における天然有機物の組成変化や化学構造特性の詳細な情報を示したのみならず、降雨条件や水文条件によってマングローブ林炭素動態が変化することを一貫して論じており、「水文環境を考慮したマングローブ林生態系における物質循環論」を新たに提唱し、検証・構築する必要性を提示した。

謝辞

本研究をおこなうにあたりご懇篤なるご指導を賜りました神戸大学の藤嶽暢英教授には心から感謝いたします。藤嶽暢英教授には研究の哲学もご教授いただきました。また、ご多忙の中、適切なご助言を賜り、本論文をご校閲いただきました神戸大学の土佐幸雄教授、前藤薫教授に深く感謝申し上げます。土佐幸雄教授、前藤薫教授にはそれぞれ UPLB 短期英語留学、博士課程後期課程の講義においてもお世話になりました。

研究上適切なご助言と数々のご協力を賜りました神戸大学の鈴木武志助教に深く感謝申し上げます。また、本研究を遂行するにあたって多くのご配慮とご指導、ご鞭撻を賜りました、岐阜大学の塚俊之教授、吉竹晋平助手、琉球大学の金城和俊准教授、東京農業大学の加藤拓准教授、滋賀県立大学の飯村康夫助教、国立環境研究所の近藤美由紀博士、早稲田大学の友常満利助教に深く感謝申し上げます。

神戸大学農学部土壌学研究室の卒業生、学生諸子の皆様方には研究から日常まで有形無形のご支援をいただきました。深く感謝申し上げます。また、私事ではありますが、このような研究の機会を与えていただいた両親にこの場をお借りして心から感謝いたします。

最後になりますが、公益財団法人井植記念会には英才育成奨学金を賜り、生活面のご支援をいただきました。Labtiva Inc. からは ReadCube Ambassador を拝命し、研究論文の効率的な検索・管理の環境をご提供いただきました。ここに謝意を表明いたします。

本研究は日本学術振興会の特別研究員奨励費の助成を受けたものである。石垣島吹通川河口マングローブ林は西表石垣国立公園・第1種特別地域であり、環境省九州地方環境事務所および石垣市の許可を得て調査した。タイ王国トラート県トラート川河口マングローブ林ではチュラロンコン大学・理学部の Poungporn 准教授との共同研究として、National Research Council of Thailand (NRCT) の正式な許可を得て調査をおこなった。

引用文献

- Alongi, D.M., 2014. Carbon cycling and storage in mangrove forests. *Annual Review of Marine Science* 6, 195–219.
- Alongi, D.M., Clough, B.F., Dixon, P., Tirendi, F., 2003. Nutrient partitioning and storage in arid-zone forests of the mangroves *Rhizophora stylosa* and *Avicennia marina*. *Trees* 17, 51–60.
- Alongi, D.M., de Carvalho, N.A., Amaral, A.L., Costa, A. da, Trott, L., Tirendi, F., 2012. Uncoupled surface and below-ground soil respiration in mangroves: implications for estimates of dissolved inorganic carbon export. *Biogeochemistry* 109, 151–162.
- Alongi, D.M., Sasekumar, A., Tirendi, F., Dixon, P., 1998. The influence of stand age on benthic decomposition and recycling of organic matter in managed mangrove forests of Malaysia. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 225, 197–218.
- Alongi, D.M., Tirendi, F., Clough, B.F., 2000. Below-ground decomposition of organic matter in forests of the mangroves *Rhizophora stylosa* and *Avicennia marina* along the arid coast of Western Australia. *Aquatic Botany* 68, 97–122.
- Alongi, D.M., Tirendi, F., Dixon, P., Trott, L.A., Brunskill, G.J., 1999. Mineralization of organic matter in intertidal sediments of a tropical semi-enclosed delta. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 48, 451–467.
- Alongi, D.M., Wattayakorn, G., Pfitzner, J., Tirendi, F., Zagorskis, I., Brunskill, G.J., Davidson, A., Clough, B.F., 2001. Organic carbon accumulation and metabolic pathways in sediments of mangrove forests in southern Thailand. *Marine Geology* 179, 85–103.
- Alongi, D.M., Wattayakorn, G., Tirendi, F., Dixon, P., 2004. Nutrient capital in different aged forests of the mangrove *Rhizophora apiculata*. *Botanica Marina* 47, 116–124.
- Andreotta, A., Fusi, M., Cameldi, I., Cimò, F., Carnicelli, S., Cannicci, S., 2014. Mangrove

- carbon sink. Do burrowing crabs contribute to sediment carbon storage? Evidence from a Kenyan mangrove system. *Journal of Sea Research* 85, 524–533.
- Arrieta, J.M., Mayol, E., Hansman, R.L., Herndl, G.J., Dittmar, T., Duarte, C.M., 2015. Dilution limits dissolved organic carbon utilization in the deep ocean. *Science* 348, 331–333.
- Artinger, R., Buckau, G., Geyer, S., Fritz, P., Wolf, M., Kim, J.I., 2000. Characterization of groundwater humic substances: influence of sedimentary organic carbon. *Applied Geochemistry* 15, 97–116.
- Asmala, E., Bowers, D.G., Autio, R., Kaartokallio, H., Thomas, D.N., 2014. Qualitative changes of riverine dissolved organic matter at low salinities due to flocculation. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* 557–566.
- Atwood, T.B., Connolly, R.M., Almahasheer, H., Carnell, P.E., Duarte, C.M., Lewis, C.J.E., Irigoien, X., Kelleway, J.J., Lavery, P.S., Macreadie, P.I., Serrano, O., Sanders, C.J., Santos, I., Steven, A.D.L., Lovelock, C.E., 2017. Global patterns in mangrove soil carbon stocks and losses. *Nature Climate Change* 7, 523–528.
- Baalousha, M., Motelica-Heino, M., Coustumer, P. Le, 2006. Conformation and size of humic substances: Effects of major cation concentration and type, pH, salinity, and residence time. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 272, 48–55.
- Baldock, J.A., Oades, J.M., Nelson, P.N., Skene, T.M., Golchin, A., Clarke, P., 1997. Assessing the extent of decomposition of natural organic materials using solid-state ¹³C NMR spectroscopy. *Australian Journal of Soil Research* 35, 1061–1084.
- Barreto, M.B., Lo Mónaco, S., Díaz, R., Barreto-Pittol, E., López, L., Peralba, M. do C.R., 2016. Soil organic carbon of mangrove forests (*Rhizophora* and *Avicennia*) of the Venezuelan Caribbean coast. *Organic Geochemistry* 100, 51–61.
- Benner, R., Weliky, K., Hedges, J., 1990. Early diagenesis of mangrove leaves in a tropical

- estuary: molecular-level analyses of neutral sugars and lignin-derived phenols. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 54, 1991–2001.
- Bouillon, S., Borges, A. V., Castañeda-Moya, E., Diele, K., Dittmar, T., Duke, N.C., Kristensen, E., Lee, S.Y., Marchand, C., Middelburg, J.J., Rivera-Monroy, V.H., Smith, T.J., Twilley, R.R., 2008a. Mangrove production and carbon sinks: A revision of global budget estimates. *Global Biogeochemical Cycles* 22, 12P.
- Bouillon, S., Connolly, R.M., Lee, S.Y., 2008b. Organic matter exchange and cycling in mangrove ecosystems: Recent insights from stable isotope studies. *Journal of Sea Research* 59, 44–58.
- Breithaupt, J.L., Smoak, J.M., Smith, T.J., Sanders, C.J., Hoare, A., 2012. Organic carbon burial rates in mangrove sediments: Strengthening the global budget. *Global Biogeochemical Cycles* 26, 11p.
- Buffle, J., Wilkinson, K., Stoll, S., Filella, M., Zhang, J., 1998. A generalized description of aquatic colloidal interactions: the three-colloidal component approach. *Environmental Science & Technology* 32, 2887–2899.
- Castañeda-Moya, E., Twilley, R.R., Rivera-Monroy, V.H., 2013. Allocation of biomass and net primary productivity of mangrove forests along environmental gradients in the Florida Coastal Everglades, USA. *Forest Ecology and Management* 307, 226–241.
- Catrouillet, C., Davranche, M., Dia, A., Bouhnik-Le Coz, M., Marsac, R., Pourret, O., Gruau, G., 2014. Geochemical modeling of Fe(II) binding to humic and fulvic acids. *Chemical Geology* 372, 109–118.
- Cawley, K.M., Yamashita, Y., Maie, N., Jaffé, R., 2014. Using optical properties to quantify fringe mangrove inputs to the dissolved organic matter (DOM) pool in a subtropical estuary. *Estuaries and Coasts* 37, 399–410.

- Chanudet, V., Filella, M., Quentel, F., 2006. Application of a simple voltammetric method to the determination of refractory organic substances in freshwaters. *Analytica Chimica Acta* 569, 244–249.
- Chen, M., Maie, N., Parish, K., Jaffé, R., 2013. Spatial and temporal variability of dissolved organic matter quantity and composition in an oligotrophic subtropical coastal wetland. *Biogeochemistry* 115, 167–183.
- Chen, Y., Schnitzer, M., 1989. Sizes and shapes of humic substances by electron microscopy, in: Hayes, M.H.B., MacCarthy, P., Malcolm, R.L., Swift, R.S. (Eds.), *Humic Substances II: In Search of Structure*. Wiley, New York, pp. 621–638.
- Cheng, X.L., Zhao, L.X., Wang, X., Lin, J.M., 2007. Sensitive monitoring of humic acid in various aquatic environments with acidic cerium chemiluminescence detection. *Analytical Sciences* 23, 1189–1193.
- Chin, Y.-P., Aiken, G.R., Danielsen, K.M., 1997. Binding of pyrene to aquatic and commercial humic substances: The role of molecular weight and aromaticity. *Environmental Science & Technology* 31, 1630–1635.
- Chiou, C.T., Malcolm, R.L., Brinton, T.I., Kile, D.E., 1986. Water solubility enhancement of some organic pollutants and pesticides by dissolved humic and fulvic acids. *Environmental Science & Technology* 20, 502–508.
- Coble, P.G., 1996. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. *Marine Chemistry* 51, 325–346.
- Cory, R.M., McKnight, D.M., 2005. Fluorescence spectroscopy reveals ubiquitous presence of oxidized and reduced quinones in dissolved organic matter. *Environmental Science & Technology* 39, 8142–8149.
- Cory, R.M., Miller, M.P., McKnight, D.M., Guerard, J.J., Miller, P.L., 2010. Effect of

- instrument-specific response on the analysis of fulvic acid fluorescence spectra. *Limnology and Oceanography: Methods* 8, 67–78.
- de la Rosa, J.M., González-Pérez, J.A., González-Vila, F.J., Knicker, H., Araújo, M.F., 2011. Molecular composition of sedimentary humic acids from South West Iberian Peninsula: A multi-proxy approach. *Organic Geochemistry* 42, 791–802.
- Del Vecchio, R., Blough, N. V., 2002. Photobleaching of chromophoric dissolved organic matter in natural waters: kinetics and modeling. *Marine Chemistry* 78, 231–253.
- Demas, G.P., Rabenhorst, M.C., 1999. Subaqueous Soils: Pedogenesis in a submersed environment. *Soil Science Society of America Journal* 63, 1250–1257.
- Demas, G.P., Rabenhorst, M.C., Stevenson, J.C., 1996. Subaqueous Soils: A pedological approach to the study of shallow-water habitats. *Estuaries* 19, 229–237.
- DeRose, P.C., Early, E.A., Kramer, G.W., 2007. Qualification of a fluorescence spectrometer for measuring true fluorescence spectra. *Review of Scientific Instruments* 78, 1–12.
- Deslouis, C., Falaras, P., Gil, O., Jeannin, M., Maillot, V., Tribollet, B., 2006. Influence of clay on calcareous deposit in natural and artificial sea water. *Electrochimica Acta* 51, 3173–3180.
- Dilling, J., Kaiser, K., 2002. Estimation of the hydrophobic fraction of dissolved organic matter in water samples using UV photometry. *Water Research* 36, 5037–5044.
- Dittmar, T., Hertkorn, N., Kattner, G., Lara, R.J., 2006. Mangroves, a major source of dissolved organic carbon to the oceans. *Global Biogeochemical Cycles* 20, 7p.
- Dittmar, T., Lara, R., Kattner, G., 2001. River or mangrove? Tracing major organic matter sources in tropical Brazilian coastal waters. *Marine Chemistry* 73, 253–271.
- Dittmar, T., Lara, R.J., 2001a. Driving forces behind nutrient and organic matter dynamics in a mangrove tidal creek in North Brazil. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 52, 249–259.

- Dittmar, T., Lara, R.J., 2001b. Molecular evidence for lignin degradation in sulfate-reducing mangrove sediments (Amazônia, Brazil). *Geochimica et Cosmochimica Acta* 65, 1417–1428.
- Dodla, S.K., Wang, J.J., Cook, R.L., 2012. Molecular composition of humic acids from coastal wetland soils along a salinity gradient. *Soil Science Society of America Journal* 76, 1592–1605.
- Donato, D.C., Kauffman, J.B., Murdiyarso, D., Kurnianto, S., Stidham, M., Kanninen, M., 2011. Mangroves among the most carbon-rich forests in the tropics. *Nature Geoscience* 4, 293–297.
- Eckert, J., Sholkovitz, E., 1976. The flocculation of iron, aluminium and humates from river water by electrolytes. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 40, 847–848.
- Elderfield, H., Upstill-Goddard, R., Sholkovitz, E.R., 1990. The rare earth elements in rivers, estuaries, and coastal seas and their significance to the composition of ocean waters. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 54, 971–991.
- Ephraim, J., Alegret, S., Mathuthu, A., Bicking, M., Malcolm, R.L., Marinsky, J.A., 1986. A unified physicochemical description of the protonation and metal ion complexation equilibria of natural organic acids (humic and fulvic acids). 2. Influence of polyelectrolyte properties and functional group heterogeneity on the protonation equilibria of fulvic acid. *Environmental Science & Technology* 20, 354–366.
- Ferreira, F.P., Vidal-Torrado, P., Otero, X.L., Buurman, P., Martin-Neto, L., Boluda, R., Macías, F., 2013. Chemical and spectroscopic characteristics of humic acids in marshes from the Iberian Peninsula. *Journal of Soils and Sediments* 13, 253–264.
- Ferreira, T.O., Vidal-Torrado, P., Otero, X.L., Macías, F., 2007. Are mangrove forest substrates sediments or soils? A case study in southeastern Brazil. *Catena* 70, 79–91.

- Filella, M., 2010. Quantifying “humics” in freshwaters: purpose and methods. *Chemistry and Ecology* 26, 177–186.
- Fox, L., 1983. The removal of dissolved humic acid during estuarine mixing. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 16, 431–440.
- Freeman, C., Ostle, N., Kang, H., 2001. An enzymic “latch” on a global carbon store. *Nature* 409, 149–149.
- Freeman, C., Ostle, N.J., Fenner, N., Kang, H., 2004. A regulatory role for phenol oxidase during decomposition in peatlands. *Soil Biology and Biochemistry* 36, 1663–1667.
- Friesen, S.D., Dunn, C., Freeman, C., 2017. Decomposition as a regulator of carbon accretion in mangroves: A review. *Ecological Engineering*. doi:10.1016/j.ecoleng.2017.06.069
- Fujii, M., Imaoka, A., Yoshimura, C., Waite, T.D., 2014. Effects of molecular composition of natural organic matter on ferric iron complexation at circumneutral pH. *Environmental Science & Technology* 48, 4414–4424.
- Fujitake, N., Kodama, H., Nagao, S., Tsuda, K., Yonebayashi, K., 2009. Chemical properties of aquatic fulvic acids isolated from Lake Biwa, a clear water system in Japan. *Humic Substances Research* 5, 45–53.
- Gauthier, T.D., Seitz, W.R., Grant, C.L., 1987. Effects of structural and compositional variations of dissolved humic materials on pyrene Koc values. *Environmental Science & Technology* 21, 243–248.
- Gledhill, M., Buck, K.N., 2012. The organic complexation of iron in the marine environment: a review. *Frontiers in Microbiology* 3, 1–17.
- Hamilton, S.E., Casey, D., 2016. Creation of a high spatio-temporal resolution global database of continuous mangrove forest cover for the 21st century (CGMFC-21). *Global Ecology and Biogeography* 25, 729–738.

- Hatcher, P.G., 1987. Chemical structural studies of natural lignin by dipolar dephasing solid-state ^{13}C nuclear magnetic resonance. *Organic Geochemistry* 11, 31–39.
- Hatcher, P.G., Rowan, R., Mattingly, M.A., 1980. ^1H and ^{13}C NMR of marine humic acids. *Organic Geochemistry* 2, 77–85.
- Hautala, K., Peuravuori, J., Pihlaja, K., 2000. Measurement of aquatic humus content by spectroscopic analyses. *Water Research* 34, 246–258.
- Ho, D.T., Ferrón, S., Engel, V.C., Anderson, W.T., Swart, P.K., Price, R.M., Barbero, L., 2017. Dissolved carbon biogeochemistry and export in mangrove-dominated rivers of the Florida Everglades. *Biogeosciences Discussions* 1–40.
- Holbrook, R.D., Derose, P.C., Leigh, S.D., Rukhin, A.L., Heckert, N.A., 2006. Excitation-emission matrix fluorescence spectroscopy for natural organic matter characterization: A quantitative evaluation of calibration and spectral correction procedures. *Applied Spectroscopy* 60, 791–799.
- Huguet, A., Vacher, L., Relexans, S., Saubusse, S., Froidefond, J.M., Parlanti, E., 2009. Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary. *Organic Geochemistry* 40, 706–719.
- Hunt, A.P., Parry, J.D., Hamilton-Taylor, J., 2000. Further evidence of elemental composition as an indicator of the bioavailability of humic substances to bacteria. *Limnology and Oceanography* 45, 237–241.
- Ikeya, K., Watanabe, A., 2003. Direct expression of an index for the degree of humification of humic acids using organic carbon concentration. *Soil Science and Plant Nutrition* 49, 47–53.
- Imai, A., Fukushima, T., Matsushige, K., Kim, Y.H., 2001. Fractionation and characterization of dissolved organic matter in a shallow eutrophic lake, its inflowing rivers, and other organic

- matter sources. *Water Research* 35, 4019–4028.
- Jennerjahn, T.C., Ittekkot, V., 2002. Relevance of mangroves for the production and deposition of organic matter along tropical continental margins. *Naturwissenschaften* 89, 23–30.
- Kelleway, J.J., Cavanaugh, K., Rogers, K., Feller, I.C., Ens, E., Doughty, C., Saintilan, N., 2017. Review of the ecosystem service implications of mangrove encroachment into salt marshes. *Global Change Biology* 23, 3967–3983.
- Kida, M., Fujitake, N., Suchewaboripont, V., Pongparn, S., Tomotsune, M., Kondo, M., Yoshitake, S., Iimura, Y., Kinjo, K., Maknual, C., Ohtsuka, T., 2018a. Contribution of humic substances to dissolved organic matter optical properties and iron mobilization. *Aquatic Sciences* (in revision).
- Kida, M., Kinjo, K., Ohtsuka, T., Fujitake, N., 2017a. Dynamics of dissolved organic matter in the mangrove area of the Fukido River, Ishigaki Island. *Japanese Journal of Ecology* 67, 85–93.
- Kida, M., Maki, K., Takata, A., Kato, T., Tsuda, K., Hayakawa, K., Sugiyama, Y., Fujitake, N., 2015. Quantitative monitoring of aquatic humic substances in Lake Biwa, Japan, using the DAX-8 batch method based on carbon concentrations. *Organic Geochemistry* 83–84, 153–157.
- Kida, M., Myangan, O., Oyuntsetseg, B., Khakhinov, V., Kawahigashi, M., Fujitake, N., 2018b. Dissolved organic matter distribution and its association with colloidal aluminum and iron in the Selenga River Basin from Ulaanbaatar to Lake Baikal. *Environmental Science and Pollution Research* (in revision).
- Kida, M., Ohtsuka, T., Kato, T., Suzuki, T., Fujitake, N., 2016. Evaluation of salinity effect on quantitative analysis of aquatic humic substances using nonionic DAX-8 resin. *Chemosphere* 146, 129–132.

引用文献

- Kida, M., Tomotsune, M., Iimura, Y., Kinjo, K., Ohtsuka, T., Fujitake, N., 2017b. High salinity leads to accumulation of soil organic carbon in mangrove soil. *Chemosphere* 177, 51–55.
- Kinjo, K., Tokashiki, Y., Sato, K., Kitou, M., Shimo, M., 2006. Characteristics of the clay-humus complexes in mangrove surface soils. *Clay Science* 13, 51–58.
- Knicker, H., Lüdemann, H.D., 1995. N-15 and C-13 CPMAS and solution NMR studies of N-15 enriched plant material during 600 days of microbial degradation. *Organic Geochemistry* 23, 329–341.
- Komiyama, A., Havanond, S., Srisawatt, W., Mochida, Y., Fujimoto, K., Ohnishi, T., Ishihara, S., Miyagi, T., 2000. Top/root biomass ratio of a secondary mangrove (*Ceriops tagal* (Perr.) C.B. Rob.) forest. *Forest Ecology and Management* 139, 127–134.
- Komiyama, A., Ong, J.E., Pongparn, S., 2008. Allometry, biomass, and productivity of mangrove forests: A review. *Aquatic Botany* 89, 128–137.
- Korak, J.A., Dotson, A.D., Summers, R.S., Rosario-Ortiz, F.L., 2014. Critical analysis of commonly used fluorescence metrics to characterize dissolved organic matter. *Water Research* 49, 327–338.
- Kothawala, D.N., Murphy, K.R., Stedmon, C.A., Weyhenmeyer, G.A., Tranvik, L.J., 2013. Inner filter correction of dissolved organic matter fluorescence. *Limnology and Oceanography: Methods* 11, 616–630.
- Kristensen, E., Alongi, D.M., 2006. Control by fiddler crabs (*Uca vocans*) and plant roots (*Avicennia marina*) on carbon, iron, and sulfur biogeochemistry in mangrove sediment. *Limnology and Oceanography* 51, 1557–1571.
- Kristensen, E., Andersen, F.Ø., Holmboe, N., Holmer, M., Thongtham, N., 2000. Carbon and nitrogen mineralization in sediments of the Bangrong mangrove area, Phuket, Thailand. *Aquatic Microbial Ecology* 22, 199–213.

- Kristensen, E., Bouillon, S., Dittmar, T., Marchand, C., 2008. Organic carbon dynamics in mangrove ecosystems: A review. *Aquatic Botany* 89, 201–219.
- Kristensen, E., Rabenhorst, M.C., 2015. Do marine rooted plants grow in sediment or soil? A critical appraisal on definitions, methodology and communication. *Earth-Science Reviews* 145, 1–8.
- Kruger, B.R., Dalzell, B.J., Minor, E.C., 2011. Effect of organic matter source and salinity on dissolved organic matter isolation via ultrafiltration and solid phase extraction. *Aquatic Sciences* 73, 405–417.
- Kumada, K., Sato, O., Ohsumi, Y., Ohta, S., 1967. Humus composition of mountain soils in Central Japan with special reference to the distribution of P type humic acid. *Soil Science and Plant Nutrition* 13, 151–158.
- Kuzyakov, Y., Biriukova, O., Turyabahika, F., Stahr, K., 2001. Electrostatic method to separate roots from soil. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 164, 541–545.
- Laglera, L.M., Battaglia, G., van den Berg, C.M.G., 2007. Determination of humic substances in natural waters by cathodic stripping voltammetry of their complexes with iron. *Analytica Chimica Acta* 599, 58–66.
- Lawaetz, A.J., Stedmon, C.A., 2009. Fluorescence intensity calibration using the Raman scatter peak of water. *Applied Spectroscopy* 63, 936–940.
- Li, L., Huang, W., Sheng, G., Fu, J., 2003. Chemical and molecular heterogeneity of humic acids repetitively extracted from a peat. *Soil Science Society of America Journal* 746, 740–746.
- Lützw, M. V., Kögel-Knabner, I., Ekschmitt, K., Matzner, E., Guggenberger, G., Marschner, B., Flessa, H., 2006. Stabilization of organic matter in temperate soils: Mechanisms and their relevance under different soil conditions - A review. *European Journal of Soil Science*.
- Maher, D.T., Santos, I.R., Golsby-Smith, L., Gleeson, J., Eyre, B.D., 2013. Groundwater-derived

- dissolved inorganic and organic carbon exports from a mangrove tidal creek: The missing mangrove carbon sink? *Limnology and Oceanography* 58, 475–488.
- Maie, N., Pisani, O., Jaffé, R., 2008. Mangrove tannins in aquatic ecosystems: Their fate and possible influence on dissolved organic carbon and nitrogen cycling. *Limnology and Oceanography* 53, 160–171.
- Maie, N., Sekiguchi, S., Watanabe, A., Tsutsuki, K., Yamashita, Y., Melling, L., Cawley, K.M., Shima, E., Jaffé, R., 2014. Dissolved organic matter dynamics in the oligo/meso-haline zone of wetland-influenced coastal rivers. *Journal of Sea Research* 91, 58–69.
- Maie, N., Yamashita, Y., Cory, R.M., Boyer, J.N., Jaffé, R., 2012. Application of excitation emission matrix fluorescence monitoring in the assessment of spatial and seasonal drivers of dissolved organic matter composition: Sources and physical disturbance controls. *Applied Geochemistry* 27, 917–929.
- Marchand, C., Allenbach, M., Lallier-Vergès, E., 2011. Relationships between heavy metals distribution and organic matter cycling in mangrove sediments (Conception Bay, New Caledonia). *Geoderma* 160, 444–456.
- McKnight, D.M., Boyer, E.W., Westerhoff, P.K., Doran, P.T., Kulbe, T., Andersen, D.T., 2001. Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity. *Limnology and Oceanography* 46, 38–48.
- Miller, M.P., Simone, B.E., McKnight, D.M., Cory, R.M., Williams, M.W., Boyer, E.W., 2010. New light on a dark subject: Comment. *Aquatic Sciences* 72, 269–275.
- Murdiyarso, D., Purbopuspito, J., Kauffman, J.B., Warren, M.W., Sasmito, S.D., Donato, D.C., Manuri, S., Krisnawati, H., Taberima, S., Kurnianto, S., 2015. The potential of Indonesian mangrove forests for global climate change mitigation. *Nature Climate Change* 5, 1089–1092.

- Murphy, K.R., 2011. A note on determining the extent of the water Raman peak in fluorescence spectroscopy. *Applied Spectroscopy* 65, 233–236.
- Murphy, K.R., Butler, K.D., Spencer, R.G.M., Stedmon, C.A., Boehme, J.R., Aiken, G.R., 2010. Measurement of Dissolved Organic Matter Fluorescence in Aquatic Environments: An Interlaboratory Comparison. *Environmental Science & Technology* 44, 9405–9412.
- Odum, W.E., 1968. A research challenge: evaluating the productivity of coastal and estuarine water. *Proceedings of the Second Sea Grant Conference* 63–64.
- Odum, W.E., Fisher, J.S., Pickral, J.C., 1979. Factors controlling the flux of particulate organic carbon from estuarine wetlands, in: Livingston, R.J. (Ed.), *Ecological Processes in Coastal and Marine Systems*. Plenum Press, New York, pp. 69–70.
- Odum, W.E., Heald, E.J., 1972. Trophic Analyses of an Estuarine Mangrove Community. *Bulletin of Marine Science* 22, 671–738.
- Ohno, T., 2002. Fluorescence inner-filtering correction for determining the humification index of dissolved organic matter. *Environmental Science & Technology* 36, 742–746.
- Ong, J.E., Gong, W.K., Wong, C.H., 2004. Allometry and partitioning of the mangrove, *Rhizophora apiculata*. *Forest Ecology and Management* 188, 395–408.
- Ono, K., Hiradate, S., Morita, S., Hiraide, M., Hirata, Y., Fujimoto, K., Tabuchi, R., Lihpai, S., 2015. Assessing the carbon compositions and sources of mangrove peat in a tropical mangrove forest on Pohnpei Island, Federated States of Micronesia. *Geoderma* 245–246, 11–20.
- Palomeque, M.E., Ortiz, P.I., 2013. Water-soluble humic acid quantification using a flow-injection system with and without sample pretreatment. *Industrial and Engineering Chemistry Research* 52, 12717–12722.
- Parlanti, E., Wörz, K., Geoffroy, L., Lamotte, M., 2000. Dissolved organic matter fluorescence

- spectroscopy as a tool to estimate biological activity in a coastal zone submitted to anthropogenic inputs. *Organic Geochemistry* 31, 1765–1781.
- Pérez, A., Gutiérrez, D., Saldarriaga, M.S., Sanders, C.J., 2017. Hydrological controls on the biogeochemical dynamics in a Peruvian mangrove forest. *Hydrobiologia* 803, 69–86.
- Pernet-coudrier, B., Waeles, M., Quentel, F., Riso, R.D., 2013. Simple and simultaneous determination of glutathione, thioacetamide and refractory organic matter in natural waters by DP-CSV. *Science of the Total Environment* 463–464, 997–1005.
- Pettersson, C., Rahm, L., 1996. Changes in molecular weight of humic substances in the Gulf of Bothnia. *Environment International* 22, 551–558.
- Poulin, B.A., Ryan, J.N., Aiken, G.R., 2014. Effects of iron on optical properties of dissolved organic matter. *Environmental Science & Technology* 48, 10098–10106.
- Poungparn, S., Charoenphonphakdi, T., Sangtiewan, T., Patanaponpaiboon, P., 2016. Fine root production in three zones of secondary mangrove forest in eastern Thailand. *Trees* 30, 467–474.
- Ranjan, R.K., Routh, J., Ramanathan, A.L., 2010. Bulk organic matter characteristics in the Pichavaram mangrove - estuarine complex, south-eastern India. *Applied Geochemistry* 25, 1176–1186.
- Ranjan, R.K., Routh, J., Ramanathan, A.L., Val Klump, J., 2012. Polycyclic aromatic hydrocarbon fingerprints in the Pichavaram mangrove–estuarine sediments, southeastern India. *Organic Geochemistry* 53, 88–94.
- Ray, R., Rixen, T., Baum, A., Malik, A., Gleixner, G., Jana, T.K., 2015. Distribution, sources and biogeochemistry of organic matter in a mangrove dominated estuarine system (Indian Sundarbans) during the pre-monsoon. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 167, 404–413.
- Reemtsma, T., These, A., Linscheid, M., Leenheer, J., Spitzy, A., 2008. Molecular and structural

- characterization of dissolved organic matter from the deep ocean by FTICR-MS, including hydrophilic nitrogenous organic molecules. *Environmental Science & Technology* 42, 1430–1437.
- Rodríguez-Murillo, J.C., Almendros, G., Knicker, H., 2017. Humic acid composition and humification processes in wetland soils of a Mediterranean semiarid wetland. *Journal of Soils and Sediments* 1–12.
- Ryder, A.G., Stedmon, C.A., Harrit, N., Bro, R., 2017. Calibration, standardization, and quantitative analysis of multidimensional fluorescence (MDF) measurements on complex mixtures (IUPAC Technical Report), *Pure and Applied Chemistry*. doi:10.1515/pac-2017-0610
- Santín, C., González-Pérez, M., Otero, X.L., Vidal-Torrado, P., Macías, F., Álvarez, M.Á., 2008. Characterization of humic substances in salt marsh soils under sea rush (*Juncus maritimus*). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 79, 541–548.
- Santín, C., Yamashita, Y., Otero, X.L., Álvarez, M.Á., Jaffé, R., 2009. Characterizing humic substances from estuarine soils and sediments by excitation-emission matrix spectroscopy and parallel factor analysis. *Biogeochemistry* 96, 131–147.
- Saraswati, S., Dunn, C., Mitsch, W.J., Freeman, C., 2016. Is peat accumulation in mangrove swamps influenced by the “enzymic latch” mechanism? *Wetlands Ecology and Management* 24, 641–650.
- Sholkovitz, E., 1976. Flocculation of dissolved organic and inorganic matter during the mixing of river water and seawater. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 40, 831–845.
- Sholkovitz, E., Boyle, E., Price, N., 1978. The removal of dissolved humic acids and iron during estuarine mixing. *Earth and Planetary Science Letters* 40, 130–136.
- Sholkovitz, E.R., 1978. The flocculation of dissolved Fe, Mn, Al, Cu, Ni, Co and Cd during

- estuarine mixing. *Earth and Planetary Science Letters* 41, 77–86.
- Sholkovitz, E.R., Copland, D., 1981. The coagulation, solubility and adsorption properties of Fe, Mn, Cu, Ni, Cd, Co and humic acids in a river water. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 45, 181–189.
- Signa, G., Mazzola, A., Kairo, J., Vizzini, S., 2017. Small-scale variability in geomorphological settings influences mangrove-derived organic matter export in a tropical bay. *Biogeosciences* 14, 617–629.
- Soil Survey Staff, 1999. *Soil taxonomy: A basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys*. 2nd edition. Natural Resources Conservation Service. U.S. Department of Agriculture Handbook 436. doi:10.1017/S0016756800045489
- Spencer, R.G., Butler, K.D., Aiken, G.R., 2012. Dissolved organic carbon and chromophoric dissolved organic matter properties of rivers in the USA. *Journal of Geophysical Research* 117, 14P.
- Stuermer, D.H., Harvey, G.R., 1977. The isolation of humic substances and alcohol-soluble organic matter from seawater. *Deep Sea Research* 24, 303–309.
- Sun, L., Perdue, E.M., Meyer, J.L., Weis, J., 1997. Use of elemental composition to predict bioavailability of dissolved organic matter in a Georgia river. *Limnology and Oceanography* 42, 714–721.
- Sutula, M., Perez, B., Reyes, E., Childers, D.L., Davis, S., John W. Day, J., Rudnick, D., Sklar, F., 2003. Factors affecting spatial and temporal variability in material exchange between the Southern Everglades wetlands and Florida Bay (USA). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 57, 757–781.
- Swift, R.S., 1989. Molecular weight, size, shape, and charge characteristics of humic substances: some basic considerations, in: Hayes, M.H.B., MacCarthy, P., Malcolm, R.L., Swift, R.S.

- (Eds.), *Humic Substances II: In Search of Structure*. Wiley, New York, pp. 449–465.
- Swift, R.S., 1996. Organic matter characterization, in: Sparks, D.L., Page, A.L., Helmke, P.A., Loeppert, R.H., Soltanpour, P.N., Tabatabai, M.A., Johnston, C.T., Sumner, M.E. (Eds.), *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*. Soil Science Society of America Book Series: 5. Soil Science Society of America, Madison, WI, pp. 1018–1020.
- Thurman, E.M., 1985. Aquatic Humic Substances, in: Thurman, E.M. (Ed.), *Organic Geochemistry of Natural Waters*. Springer, Dordrecht, pp. 273–361.
- Thurman, E.M., Malcolm, R.L., 1981. Preparative isolation of aquatic humic substances. *Environmental Science & Technology* 15, 463–466.
- Tipping, E., Ohnstad, M., 1984. Aggregation of aquatic humic substances. *Chemical Geology* 44, 349–357.
- Tranvik, L.J., 1992. Allochthonous dissolved organic matter as an energy source for pelagic bacteria and the concept of the microbial loop. *Hydrobiologia* 229, 107–114.
- Tremblay, L., Gagné, J.-P., 2007. Distribution and biogeochemistry of sedimentary humic substances in the St. Lawrence Estuary and the Saguenay Fjord, Québec. *Organic Geochemistry* 38, 682–699.
- Tsuda, K., Kida, M., Aso, S., Kato, T., Fujitake, N., Maruo, M., Hayakawa, K., Hirota, M., 2016. Determination of aquatic humic substances in Japanese lakes and wetlands by the carbon concentration-based resin isolation technique. *Limnology* 17, 1–6.
- Tsuda, K., Takata, A., Shirai, H., Kozaki, K., Fujitake, N., 2012. A method for quantitative analysis of aquatic humic substances in clear water based on carbon concentration. *Analytical Sciences* 28, 1017–1020.
- Wafar, S., Untawale, A.G., Wafar, M., 1997. Litter fall and energy flux in a mangrove ecosystem. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 44, 111–124.

引用文献

- Wang, X., Li, B.Q., Zhai, H.L., Xiong, M.Y., Liu, Y., 2016. An efficient approach to the quantitative analysis of humic acid in water. *Food Chemistry* 190, 1033–1039.
- Watanabe, A., Moroi, K., Sato, H., Tsutsuki, K., Maie, N., Melling, L., Jaffé, R., 2012. Contributions of humic substances to the dissolved organic carbon pool in wetlands from different climates. *Chemosphere* 88, 1265–1268.
- Weishaar, J.L., Aiken, G.R., Bergamaschi, B.A., Fram, M.S., Fujii, R., Mopper, K., 2003. Evaluation of specific ultraviolet absorbance as an indicator of the chemical composition and reactivity of dissolved organic carbon. *Environmental Science & Technology* 37, 4702–4708.
- Wershaw, R., 1986. A new model for humic materials and their interactions with hydrophobic organic chemicals in soil-water or sediment-water systems. *Journal of Contaminant Hydrology* 1, 29–45.
- Whitby, H., van den Berg, C.M.G., 2015. Evidence for copper-binding humic substances in seawater. *Marine Chemistry* 173, 282–290.
- Wu, F.C., Evans, R.D., Dillon, P.J., Cai, Y.R., 2007. Rapid quantification of humic and fulvic acids by HPLC in natural waters. *Applied Geochemistry* 22, 1598–1605.
- Yu, Y., Lee, S., Hong, S., 2010. Effect of solution chemistry on organic fouling of reverse osmosis membranes in seawater desalination. *Journal of Membrane Science* 351, 205–213.
- Zhang, Y., Du, J., Zhang, F., Yu, Y., Zhang, J., 2011. Chemical characterization of humic substances isolated from mangrove swamp sediments: The Qinglan area of Hainan Island, China. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 93, 220–227.
- 藤嶽暢英, 2006. 〔腐植物質研究の基礎講座〕 その1. 腐植物質試料を得るために～IHSS法. *Humic Substances Research* 3, 1–9.
- 藤嶽暢英, 木田森丸, 2018. 3-2. 天然水, in: 渡辺彰, 藤嶽暢英, 長尾誠也 (Eds.), 腐植物質分析

引用文献

ハンドブック—標準試料を例にして—. 三恵社, pp. 23-30.