



青海・チベット高原祁連山脈の高山草地土壌における土壌有機物特性に関する研究

韓, 貝貝

(Degree)

博士 (農学)

(Date of Degree)

2019-03-25

(Date of Publication)

2020-03-01

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第7529号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1007529>

※ 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

青海・チベット高原祁連山脈の高山草地土壌における土壌

有機物特性に関する研究

平成 31 年 1 月

神戸大学大学院 農学研究科

韓 貝貝

目 次

第 1 章 緒論

1-1 土壤有機物特性の研究意義と腐植物質の位置付け.....	1
1-2 青海・チベット高原の概要と研究の重要性.....	3
1-3 本研究の目的と方策.....	5

第 2 章 調査地の概要と一般理化学性から見た土壤特性

2-1 はじめに.....	8
2-2 試料および方法.....	9
2-2-1 調査地の概要.....	9
2-2-2 土壤試料採取.....	9
2-2-3 土壤試料の調製.....	10
2-2-4 分析項目.....	10
2-3 結果.....	14
2-3-1 土壤断面形態.....	14
2-3-2 土壤の一般物理化学分析.....	15
2-4 考察.....	17
2-5 まとめ.....	20

第 3 章 青海・チベット高原祁連山脈の高山草地土壤における腐植形態分析

3-1 はじめに.....	33
---------------	----

3-2 試料および方法.....	35
3-2-1 供試土壌.....	35
3-2-2 腐植形態分析法.....	35
3-3 結果.....	38
3-3-1 腐植組成.....	38
3-3-2 腐植酸型.....	40
3-4 考察.....	41
3-4-1 腐植組成.....	41
3-4-2 腐植酸の結合形態.....	44
3-4-3 腐植酸の光学的性質.....	46
3-5 まとめ.....	49

第4章 青海・チベット高原祁連山脈の高山草地土壌における腐植酸の化学構造特性解析

4-1 はじめに.....	64
4-2 試料および方法.....	65
4-2-1 土壌試料.....	65
4-2-2 腐植酸の抽出および精製.....	66
4-2-3 ¹³ C NMR スペクトル分析.....	68
4-3 結果.....	68
4-3-1 青海・チベット高原における腐植酸の ¹³ C NMR 分析.....	68
4-3-2 内モンゴル草地土壌における腐植酸の ¹³ C NMR 分析.....	70

4-4 考察.....	71
4-4-1 標高の異なる草地土壌の表層における腐植酸の化学構造特性の差異.....	72
4-4-2 青海・チベット高原の表層と下層における腐植酸の化学構造特性の差異..	73
4-4-3 内モンゴル自治区における腐植酸の特性に及ぼす微生物バイオマス量の影 響.....	74
4-5 まとめ.....	75
第5章 総合考察	
5-1 青海・チベット高原における土壌有機物の特徴と安定性.....	85
5-1-1 ヒューミンの特徴と安定性.....	85
5-1-2 腐植酸の特徴と安定性.....	87
5-2 土壌有機物の生成機構.....	90
5-2-1 ヒューミンの生成機構.....	90
5-2-2 A型腐植酸の生成機構.....	92
謝辞.....	105
引用文献.....	106

第1章 緒論

1-1 土壌有機物特性の研究意義と腐植物質の位置付け

土壌有機物 (SOM) は土壌構造 (Bronick and Lal, 2005), 水分保持 (Rawls *et al.*, 2003) や微生物活性 (Degens *et al.*, 2000) などの土壌特性に多大な影響を及ぼす土壌構成成分のひとつであり, 土壌肥沃度はもとより生態環境において重要な役割を果たしている。中でも, 「気候変動に関する政府間パネルの第3次報告書」をはじめとする土壌の炭素貯留量の推定値の提示によって (Eswaran *et al.*, 1993; IPCC, 2001), SOM が気候変動や地球温暖化を支配する全球的な炭素循環を支配する要であることが認識されるようになったため, 近年の SOM に対する研究意義は深まるばかりである。現在では, 土壌の深度 0~1m の中に約 1500 Pg C (Jobbágy and Jackson 2000), 0~3 m の中には 2344 Pg C (Stockmann *et al.*, 2013) もの SOM が土壌有機炭素 (SOC) として貯留蓄積し, 前者の炭素量でさえ大気中の二酸化炭素としての炭素貯留量の約 2 倍, 植生バイオマス炭素の約 3 倍に及ぶことが概ね認知されている。SOC の貯留とその排出が大気中の二酸化炭素濃度に, ひいては温室効果ガスの影響による気候変動や地球温暖化に対していかに重要な影響をもたらすかはこの数字からだけでも理解できる。このような背景の中で, SOM に多くの注目が寄せられ, SOM 特性と土壌特性 (例えば, 異なる植生や土壌型など) との関係は, 土壌学はもとより, 生態学や地球科学の研究者によって幅広く研究されている (Spain, 1990; Feng *et al.*, 2001)。

上述のように炭素の量的収支を議論する場合には SOM を分別して考える必要性は少ないように思えるが, SOM は有機化合物の不均質混合物の集合体の総称であるため, 炭素循環プロセスの理解やそのプロセスに及ぼす様々な要因について踏み込んだ研究

を行うためには「質 (SOM 特性)」の理解が必要であり、その「質」に対応したいくつかの画分に分けて研究する必要がある。例えば SOM の安定性 (分解性および回転速度) を考える上では、SOM を安定性の異なる画分、すなわち生物・化学的に安定な SOM 画分と不安定な SOM 画分に大別する必要がある (Huang *et al.*, 2008)。想定されるふたつの異なる画分は土壌肥沃度や環境特性に対してそれぞれ異なる効果を発揮するため (Yang *et al.*, 2009)、これらの画分を分けてその中身を知ることは気候変動に対応するための重要な情報源となる (Cao *et al.*, 2016)。実際、SOM のふたつの主要な画分はいずれも気候変動の潜在指標となることが報告されている (Steinberg, 2003; Cao *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2016; Hu *et al.*, 2017)。しかし、ここに挙げたふたつの主要画分とは概念上の区分でしかなく、操作上これらの画分を分別する手法は今のところ存在しない。上述のような潜在指標として実際に扱われているのはそれぞれの画分を代表する成分であり、例えば安定な SOM 画分と不安定な SOM 画分とはそれぞれ腐植物質と水溶性有機物を指している (Huang *et al.*, 2008)。腐植物質は安定な SOM 画分の代表者である上に、量的にも SOM 全体量のほとんどを占めるため、土壌炭素の貯留を考える上で特に重要な成分であるとされている (Swift, 2001)。すなわち、腐植物質の量や質を理解することが SOM の安定性 (貯留) を理解することへの近道となる。

一般に、腐植物質は SOC の約 60%~70% を構成しており、生物遺体や代謝産物が化学的・生化学的作用を通じて生成した有機高分子混合物であると考えられている (Grinhut *et al.*, 2011)。混合物である以上、ピュアケミストリーに支えられている現代化学の常識では、その特性を把握するための分離・精製操作が必要となる。歴史的には腐植物質は酸性溶液とアルカリ性溶液への溶解度に応じて分画され、アルカリ可溶酸不溶画分である腐植酸、アルカリ可溶酸可溶画分であるフルボ酸、アルカリ不溶酸不溶画

分であるヒューミンの3つの画分に分別・命名されて研究されてきた(藤嶽ら, 2012).
したがって, 炭素貯留の観点から SOM 特性(特にその安定性)を把握するためには,
1) 腐植物質の3画分の組成比を明らかにすること, 2) 腐植物質の特性を最もよく反
映するとされ, もっとも多くの知見が積み上げられてきた腐植酸の特性をまず知ること
が肝要であると言える. 1)へのアプローチは腐植形態分析法と呼ばれる光学的手法を
用いることで対応できる. また, 2)へは官能基組成をはじめとする化学構造情報を得
る上で最も有用な手段とされる ^{13}C NMR 分析によってアプローチできる.

1-2 青海・チベット高原の概要と研究の重要性

青海・チベット高原はユーラシア大陸で最大の高原である. ヒマラヤ山脈などの高
い山々に囲まれ, 平均標高は4000m以上に達するため, 「世界の屋根」や「世界の第三
極」とも呼ばれている. 全球の見地からも, 高高度のために寒冷で酸素濃度が低く, 日
射が強く, 日較温度差が大きいという独特の生態系を形成している. 地理的には中国の
南西部に位置し, 青海およびチベットのふたつの行政地域の他に, 四川省の北部, 甘肅
省の南部, 雲南省および新疆ウイグル自治区の一部に及び, 総面積は約250万 km^2 と
中国全面積の4分の1をも占めている. そのうち, 約60%の面積は当地において特に
重要な生態系とされる高山生態系で覆われており (Tang *et al.*, 2015), さらにこの生態
系は高山湿草地(Alpine meadow), 高山ステップ(Alpine steppe)および高山砂漠(Alpine
desert)の3つに大きく分けられる (Sun, 1996). 3000m から5400m に及ぶ高山湿草
地は高原の主要な草地タイプであり (Fu *et al.*, 2012), 降水量が400~700mmの範囲
と比較的多い地域で, 植生がもっとも豊富で生産力も高いことから青海・チベット高原

における放牧可能草地の約 50%を占めている。高山ステップは降水量が 100~400mm の範囲で、高山湿草地より植生の少ない草地であり、放牧可能草地の約 6%を占めている (Long, 2003)。近年、こうした生態系が気候変動に対して非常に敏感であり、かつ、脆弱であることが多くの研究によって示されてきた (Liu and Chen, 2000; Zhang *et al.*, 2014)。

一般に、草地とは世界で最も広範囲に分布する植生タイプのひとつであり、熱帯地域に 1500 万 km²、温帯地域に 900 万 km² と全陸地面積の 5 分の 1 を占める (Lieth, 1978)。草地における炭素貯留量は 200~300 Pg C に及び、この数字は全球炭素貯留量の 30%にも相当することから、草地は重要な炭素貯留庫のひとつと位置付けられている (Batjes and Sombroek, 1997; Scurlock and Hall, 1998)。そうした中で、青海・チベット高山草地の土壌にも注目が寄せられ、0~75 cm の深さには約 33.5 Pg C もの炭素が貯留し、これは全球炭素貯留量の 2.5%にも相当すること (Wang *et al.*, 2002)、有機炭素については 1 m までの深さの貯留蓄積量が 7.36 Pg C にも及ぶことが概算された (Yang *et al.* 2008)。こうした背景から、気候変動や地球温暖化問題を考える上で、青海・チベット高山草地における SOM の研究が重要かつ喫緊の研究課題であることが認知されるようになった。また、当地ではヤクや羊の放牧が盛んに行われ、放牧の影響によって炭素貯留量が大きく変化すること (Gao *et al.*, 2007)、過放牧が更なる温暖化の進行につながるということが報告されている (Du *et al.*, 2004)。加えて、標高に応じて気候条件、植生や土壌鉱物など、中でも温度が大きく変化することは容易に考えられ、それらの諸条件が高山草地に様々な影響を及ぼすことは疑うべくもない。したがって、標高の違いによる炭素貯留への影響を評価する必要性が求められ、青海・チベット高原の標高に伴う SOC の濃度 (Yuan *et al.*, 2014) や貯留蓄積量 (Ohtsuka *et al.*, 2008) の変化に関す

る研究報告がある。しかし、これらの研究は土壤炭素の量的変化、またはそれを支配する要因の探索を主眼としており、SOC 特性、すなわち SOC の質に関しては十分な情報は得られていない。全球規模での炭素循環に大きな影響を及ぼし、かつ、気候変動の影響に対して脆弱なこの地域の SOM 特性を知り、SOM の貯留メカニズムを解明することは急務の課題であると言える。

1-3 本研究の目的と方策

1-2 で述べたように、青海・チベット高原には土壤に予想以上の有機物が貯留していることが知られているにも関わらず、炭素貯留メカニズムに関する知見は見当たらない。炭素貯留メカニズム解明の鍵となる安定な SOM の代表者、「腐植物質」は複雑な高分子混合物からなる上に、生成起源（植生）や反応生成場の環境（土壤）が変わればその化学構造特性が大きく変化する（Swift, 1996）。そのため、腐植物質の質（特性）を理解することは容易でない。土壤における腐植物質の動態、すなわち、生物遺体がどのように変化し、土壤中でどのような形態で存在し、変質・分解の道を辿るのか、さらにはそれらの全体像を把握するために、古くから紫外・可視分光分析法による腐植形態分析法が用いられてきた。この手法は比較的簡便な操作と汎用の機器によって腐植生成過程に関する多くの基礎的情報が得られるため、SOM 特性を研究する上での第一歩として最適な分析手法とされている（Ikeya and Watanabe, 2003）。もちろん、腐植物質の詳細な特徴付けには、元素分析や NMR 分析、フーリエ変換型サイクロトン質量分析法（FTICR-MS）なども数多く行われているが（Kramer *et al.*, 2004）、腐植試料の精製を必要とせず、数多くの試料を比較する場合に有利な手法であるため、古くから多くの

研究が行われてきた。その一方で、腐植物質の官能基や骨格などの化学構造特性についてさらに具体的で詳細な情報が求められるようになり、 ^{13}C NMR スペクトル分析法が汎用されている（藤嶽ら, 2012）。この手法は腐植物質試料の精製という多大な労力を必要とするが、スペクトルを定量的にいくつかの領域に分け、各官能基炭素の割合を算出することができることから、腐植物質の構造特性を評価する上で優れた手法とされている。そこで、本研究では、腐植形態分析と ^{13}C NMR スペクトル分析法を用いて、青海・チベット高原の高山草地土壌における腐植物質特性、ひいては、SOM の特性を明らかにすることを試みた。

研究を進めるにあたり、腐植物質の抽出・分画・精製法、特に抽出法は土壌試料の特性や研究目的に応じて深慮する必要がある。青海・チベット高原の土壌は風成塵（レス）が母材となっている可能性が高く、カルシウム（Ca）に富むことが予想される（Li *et al.*, 2010）。また、標高の違いによる環境条件の変化によって成立する土壌が異なり、ひいては SOM の質が異なる可能性がある。そこで、これらの土壌の特性を理解するために第 2 章では土壌の一般理化学性分析を行い、本地域の土壌の基本的特性を明らかにし、世界土壌資源照合基準（WRB）（IUSS Working Group WRB, 2014）による土壌の分類・命名を行った結果について述べた。

続く第 3 章では腐植組成と腐植酸の光学的特性、腐植化度に関する知見を得るために、腐植形態分析法を実施した。ただし、第 2 章の結果を踏まえて、国際腐植物質学会（IHSS）法（Swift, 1996）を参考にした塩酸（HCl）前処理を行い、腐植物質と Ca などの多価イオンとの結合を切断し、その後に水酸化ナトリウム（NaOH）抽出する手法を採用した（Cl-OH 法）。しかしながら、この Cl-OH 法では遊離型腐植と無機成分との結合型腐植の分別ができないために、腐植物質の安定性と無機成分との複合体形成

に関する情報が得られない。そこで別途、水酸化ナトリウム (NaOH) 抽出に続いてピロリン酸ナトリウム ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$) 抽出を行う、逐次抽出 (Nagoya 法; Kumada *et al.*, 1967) 法を実施し、遊離型腐植と結合型腐植を分別した (OH-PP 法)。更に、OH-PP 法で得られた水酸化ナトリウム抽出腐植 (遊離型腐植) を Cl-OH 法で得られた腐植 (遊離型 + 結合型腐植) から定量的に差し引くことで、Cl-OH 法における結合型腐植の量を把握することを考案し、実施した結果について述べた。

第4章では、第3章の結果を化学構造特性の面から考察するために OH-PP 法に基づく分離・分画法を用いて遊離型および結合型腐植酸の粉末試料を精製し、 ^{13}C NMR スペクトル分析による化学構造特性の解明を行った結果について述べた。

第5章では、第2~4章の結果を総合することで、本地域の SOM の質的特性と炭素貯留メカニズムについて総合的に考察した。加えて、腐植形態分析と ^{13}C NMR スペクトル分析で得られた結果の両者の関係性についても言及した。

第2章 青海・チベット高原祁連山脈の高山草地土壌における一般理化学性から見た土壌特性

2-1 はじめに

陸上生態系において青海・チベット高原は重要な炭素プールの一つとして重要な役割を担っているが、同時に、気候変動の影響を受けやすく脆弱な地域であることも知られている。環境の変化は土壌の生成に大きな影響を与える。たとえ母材や植生が同じであるとしても、地形や気候といった他の土壌生成因子が異なれば、土壌の性質や有機物特性は変わる。そこで本研究では、標高に伴う土壌生成環境の変化を考慮した上で、青海・チベット高原の北東部に位置する祁連山脈の一つの尾根筋に沿い、標高 4200m, 4000m, 3800m および 3400m の 4 地点を調査対象地として選定した。それぞれの土壌の一般物理化学性は異なるであろうから、SOM の質的特性を研究する上でそうした土壌の性質の違いが有機物の質的特性の違いを反映することを期待した。なお、当地では標高に伴う気候条件の変化のみならず、放牧の影響も大きな環境要因となる。本研究で対象としているのは基礎的な情報であり、人為圧の影響についてはできるだけ排除したい。そこで、放牧の影響を排除するために、2006 年に家畜防御柵を設けた柵内を調査・試料採取の対象地とした。本章では、はじめに調査地の概要を説明し、土壌の一般物理化学性分析の結果から土壌の母材や特徴と土壌型を明らかにした。

2-2 試料および方法

2-2-1 調査地の概要

本研究の調査地域および調査地点の概略図を図 2-1 および図 2-2 に示した。調査は中華人民共和国青海省海北チベット自治区門源回族自治州（以下門源と称す）に位置する祁連山脈で行った。祁連山脈は青海・チベット高原の北東部を占め、西はアルチン山脈に接し、東は蘭州の興隆山に至り、南はチャイダム盆地と青海湖に繋がる。山脈は西北から東南に走り、数条の山脈で構成され、長さは約 2000 km、平均標高は 4000m に及ぶ。調査には中国科学院海北高寒草地生態系研究所（以下海北ステーションと称する）の施設を利用した。海北ステーションは門源に位置し、祁連山脈の麓に広がる盆地状の草原（標高 3200m）にある。年間平均気温は -1.7°C 、年間平均降水量は 561mm（1981~2000 年）である。門源は、祁連山脈において、南西の達坂山山脈と北東の冷龍嶺山脈に挟まれている。本研究では、北東の冷龍嶺山脈のひとつの尾根筋に沿って調査地点を選定した。植生は、日当たりの良い山麓斜面（南西側）では主にイネ科の *Kobresia humilis*, *Elymus nutans* および *Festuca ovina* が優占している。日当たりの悪い山麓斜面（北東側）と放牧圧の高い場所では上述のイネ科草本以外に、バラ科の金露梅（*Potentilla fruticose*）が優占種となっている。

2-2-2 土壌試料採取

祁連山脈内の冷龍嶺山脈における南西側斜面に沿い、4200 m, 4000 m, 3800 m および 3400 m の 4 地点を調査地とした。この高山斜面は、6 月から 9 月までの間にヤクや羊などの家畜放牧地として利用されている。放牧の影響を排除するために 2006 年 7

月に各標高地点にスチール製の網で柵（1.5m×4m×20m）を設置した。図 2-3 に柵内外の写真を示した。

土壌調査と試料の採取は 2015 年 9 月に行なった（表 2-1）。それぞれの調査地において柵の内側に土壌断面を作成し、層位毎に土壌試料を採取した。図 2-4 に土壌断面写真を示した。採取した試料はポリビニル製の土壌袋に入れ、酸化を防ぐために空気をできるだけ抜いてきつく縛った。

2-2-3 土壌試料の調製

各土壌試料は送風型乾燥機（DX600, ヤマト科学（株）製）を用いて 24°C, 1 週間乾燥した。その後、ピンセットで目視できる植物根をできるだけ取り除き、2 mm のふるいに通じて風乾細土を調製した。また、風乾細土の一部は粉碎器（平工製作所製）を用いて粉碎し（2 分間）、0.5 mm のふるいに通じて風乾細微土を調製した。

2-2-4 分析項目

2-2-4-1 粒径分布（Committee of soil Environmental Analysis, 1997）

風乾細土 5 g を 300 mL 容トルビーカーに精秤し、少量の水を加えて攪拌し、過酸化水素水を加え、ホットプレート（EH-F30A, 日立製）を用いて加熱することで有機物を分解した。超音波処理後、懸濁液に 1M 水酸化ナトリウム溶液を加えて pH 8~9 に調整して分散させ、ふるい分け法と沈定法を組み合わせた方法により粘土、シルト、細砂および粗砂の重量%を求めた。

2-2-4-2 全炭素量および全窒素量（Committee of soil Environmental Analysis, 1997）

風乾細微土 20~40 mg を精秤し、CHNS/O アナライザー (PE2400 シリーズ II 型, PerkinElmer) を用いて炭素および窒素含量を乾式燃焼法 (燃焼温度 1800°C 以上) で測定した。標準試料にはアセトアニリド (元素分析用, 和光純薬) を用いた。なお、風乾細微土の水分含量は 105°C, 12 時間の乾熱操作により求め、乾土重当りの炭素量および窒素量を算出した。

2-2-4-3 無機炭素量および有機炭素量 (Blakemore *et al.*, 1981)

無機炭素量および有機炭素量は重量損失法で測定した。すなわち、100 ml のビーカーをふたつ用意し、一方のビーカーに 1:1 塩酸 20ml を入れ、もう一方のビーカーに風乾微細土を 2g 加えた。このふたつを電子天秤に同時に乗せて精秤した。その後、1:1 塩酸を試料の入ったビーカーに移し、1 分ごとに攪拌した。塩酸と試料中の炭酸カルシウムが反応して CO₂ が発生するため、その分重量が減少する。10 分後の減少重量から炭酸カルシウムの量を算出した。また、ブランクとして試料の入っていないビーカーを用意し、同様の操作を行った。天秤は 1 mg の位まで測定できるものを使用した。以上操作を 2 連で行った。有機炭素量は全炭素量から無機炭素量を引いて算出した。

2-2-4-4 pH (H₂O) および pH (KCl) (Committee of soil Environmental Analysis, 1997)

風乾細微土 4g に 10 mL の脱イオン水あるいは 1M 塩化カリウム (pH7) を加えて 30 分振とうし、1 時間半静置した。測定前に再度攪拌して懸濁液とし、pH メーター (F52, 堀場製作所製) を用い、懸濁液の pH 値をガラス電極法により測定した。

2-2-4-5 電気電導率 (EC) (Committee of soil Environmental Analysis, 1997)

電気伝導率は、土：水 = 1:5 により電気伝導率計で測定した。すなわち、風乾細土 4 g を 50 mL 容コニカルチューブに精秤し、乾土に対する水の比が 1:5 になるように水 20 mL を加えた。1 時間振とうした後、懸濁液に電極を浸して表示値を読み取り、EC を測定した。

2-2-4-6 交換性陽イオン・陽イオン交換容量 (CEC)

振とう浸出法 (村本ら, 1992) にて試料溶液を抽出した。すなわち、風乾細土 2 g を 50 mL 容ポリ遠沈管に精秤し、1 M 酢酸アンモニウム溶液 30 mL を加えた。15 分間振とうした後、3000 rpm で 3 分間遠心分離し、上澄みをポラスフィルター付ロートに通じてメスフラスコに移した。この操作を 3 回繰り返した後、1 M 酢酸アンモニウム溶液を加えて定容し、ICP-AES 装置を用いて Na, K, Mg, Ca を定量した。

さらに、残渣土壤に 10% 塩化ナトリウム溶液 30 mL を加え、15 分間振とうした後、3000 rpm で 3 分間遠心分離し、上澄みをポラスフィルター付ロートに通じてメスフラスコに移した。この操作を 3 回繰り返した。10% 塩化ナトリウム溶液で定容後、アンモニア電極法によるアンモニウムイオンの定量に供した。アンモニアイオンの定量にはアンモニア電極 (AE-235, 東亜ディーケーケー株式会社) を用いた。標準溶液には 2% 塩化カリウムを共存させた 1 ppm および 100 ppm のアンモニア態窒素溶液を使用した。

2-2-4-7 選択溶解性による形態別 Fe・Al・Si 量の測定法 (Committee of soil Environmental Analysis, 1997)

1) ジチオナイト-クエン酸塩溶解法

風乾細微土 1 g を 100 mL 容ポリ容器に取り，クエン酸ナトリウム溶液 50 mL および
びハイドロサルファイトナトリウム 1 g を加え，室温で 16 時間振とうした．抽出後 50
mL の脱塩水を加え，1 分間振り混ぜた．この溶液の約 25 mL を 45 mL 容コニカルチ
ューブにはかり取り， 4 g L^{-1} の高分子凝集剤溶液（アコフロック N-100，MT アクアポリ
リマー社）を 1 滴加えて振り混ぜ，5000 rpm で 10 分間遠心分離をした．上澄みを試料
溶液として，水で 50 倍希釈し，2 日間放置後に， $0.45 \mu\text{m}$ シリンジフィルター
（MILLIPORE）でろ過した．

2) 酸性シュウ酸塩溶解法

風乾細土 1 g を 100 mL 容プラスチック容器にはかり取り，0.2 M 酸性シュウ酸
溶液（pH 3）100 mL を加えた．4 時間振とうした後，懸濁溶液 25 mL を 45 mL コニ
カルチューブに取り， 4 g L^{-1} 高分子凝集剤溶液（アコフロック N-100，MT アクアポリ
マー社）を 1 滴加えて振り混ぜ，5000 rpm で 10 分間遠心分離をした．上澄みを試料溶
液とし，水で 20 倍希釈し， $0.45 \mu\text{m}$ シリンジフィルター（MILLIPORE）でろ過した．

3) ピロリン酸塩溶解法

風乾細土 1 g を 100 mL 容ポリ容器に取り，0.1 M ピロリン酸ナトリウム溶液（pH
10）100 mL を加え，16 時間振とうした．懸濁溶液約 12 mL を 15 mL 容コニカルチ
ューブに取り， 4 g L^{-1} 高分子凝集剤溶液（アコフロック N-100，MT アクアポリマー社）
を 1 滴加えて振り混ぜ，10000 rpm で 40 分間遠心分離をした．上澄みを試料溶液とし
て，水で 5 倍希釈し， $0.45 \mu\text{m}$ シリンジフィルター（MILLIPORE）でろ過した．

それぞれのろ過希釈した試料溶液を誘導結合プラズマ発光分析装置（ICP-AES）

(SPS3100 シリーズ, エスアイアイナノテクノロジー(株)) を用い, Fe, Al および Si の濃度を測定した. なお, ジチオナイト-クエン酸塩溶解法, 酸性シュウ酸塩溶解法およびピロリン酸塩溶解法によって抽出された Fe, Al および Si をそれぞれ Fe_d , Al_d , Si_d , Fe_o , Al_o , Si_o および Fe_p , Al_p , Si_p とした.

2-2-4-8 土壌分類法

世界土壌資源照合基準 (WRB) (IUSS Working Group WRB, 2014) にもとづいて土壌分類命名を行った.

2-3 結果

2-3-1 土壌断面形態

図 2-4 に土壌断面写真, 表 2-2 に土壌断面記載を示した. いずれの土壌断面においても, 土色全体は表層から下層まで 2.5Y の赤褐色を呈し, 色相の変化は見られなかった. 4200m では浅い位置から礫土層が現れる発達の弱い未熟土壌であり, BC 層が巨礫を多く含んでいた. 4000m では, 巨礫により赤灰色を呈する 0~38cm のサンプリング部分と礫土層の 38~60cm の部分に大きく分かれた. さらに, 0~38cm のサンプリング部分は, 植物根が比較的によく, 弱度の垂角塊状構造が見られた. 3800 m でも 3400 m の断面のように巨礫によりサブリング層の 0~36cm 部分と 36cm 以下に大きく分かれた. 両者の層界は不規則な波状・明瞭であり, 色相の変化はほとんど見られなかった. 36cm 以下では連続して巨礫の多い礫土層が認められた. また, 3400m では, 色相が他

の断面よりやや濃くて暗赤褐色であり、土壌構造は壁状で極弱～弱と判明された。3800m までと異なり、礫土層は 1m 深度でも見られず、硬度は 12～18 と表層から下層にかけて緻密度は大きく変化しなかったことから、柔らかい土壌が厚く堆積して土層を形成していると考えられた。なお、ここで述べた礫（礫土層）は Li *et al.* (2010) によって沖積堆積物に由来することが示されている。

2-3-2 土壌の一般物理化学分析

各土壌断面の一般物理化学分析の結果を表 2-3 に示した。

2-3-2-1 粒径分析

4200m については、粒径組成における砂含量は 21.8～26.0%、シルト含量は 46.5～52.0%、粘土含量は 26.2～27.8%を示した。全層位を通じてシルト含量が最も高かった。4000m では、粒径組成における砂含量は 14.2～21.3%の範囲であり、深度の増加に伴って含量が高くなる傾向があった。粘土含量は全層で砂含量より高く、24.8～32.5%の範囲にあったが、下層となるにつれて減少した。シルト含量は 52.8～54.7%を示し、最も高かったが、層間に大きな違いは認められなかった。3800m については、砂含量は 14.7～18.6%、シルト含量は 50.4～52.7%、粘土含量は 31.0～32.8%を示した。また、3400m については、粒径組成における砂含量、シルト含量および粘土含量はそれぞれ 16.6～23.3%、52.2～60.8%および 22.6～26.2%の範囲であった。いずれの断面もシルト含量が最も高い特徴が認められた。

2-3-2-2 全炭素量および全窒素量

4200m の全炭素量および全窒素量は、A1 層でそれぞれ 84.9 g kg^{-1} と 6.1 g kg^{-1} を示

し、深度の増加とともに漸減した。4000mの全炭素量および全窒素量はA1層でそれぞれ55.2 g kg⁻¹および4.4 g kg⁻¹と少なめで、深度の増加とともに漸減していた。3800mおよび4200mの全炭素量はA1層でそれぞれ96.4 g kg⁻¹および116.8 g kg⁻¹を示し、次表層ではそれぞれ67.4 g kg⁻¹および58.2 g kg⁻¹に急減し、深度の増加とともに漸減していた。全窒素量も同様の傾向を示し、C/N比は下層に行くにつれて小さくなる傾向が示された。

2-3-2-3 pH

pH (H₂O) は、4200m, 4000m および 3400m でそれぞれ 6.6~7.7, 6.5~7.4 および 6.5~7.3 の微酸性ないし中性、3800m で 6.0~6.9 の微酸性を示した。

2-3-2-4 EC

EC は、4200m, 4000m, 3800m および 3400m でそれぞれ 3.8~8.7 mS m⁻¹, 2.4~8.8 mS m⁻¹, 4.4~25.1 mS m⁻¹ および 4.9~18.3 mS m⁻¹ の範囲であり、いずれの断面においても表層から下層にかけて減少した。4200m および 4000m に比べて 3800m および 3400m の方が概して高い値が示された。

2-3-2-5 交換性陽イオン, CEC および塩基飽和度

交換性 Ca 含量は 18.2~53.8 cmol_c kg⁻¹, 交換性 Mg 含量は 1.9~3.9 cmol_c kg⁻¹, 交換性 K 含量は 0.2~1.2 cmol_c kg⁻¹, 交換性 Na 含量は 0.1~0.3 cmol_c kg⁻¹ の範囲をそれぞれ示し、各標高の断面間では大きな違いが認められなかった。いずれの土壌においても交換性陽イオン全体における交換性 Ca 含量が最も高かった。CEC は、4200m お

よび 4000m で深さとともに増加する傾向が示され、下層でそれぞれ $37.4 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ および $35.4 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ と最も高かったが、3800m および 3400m の A1 層ではそれぞれ $44.2 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ および $44.3 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ の値を示し、深さとともに減少する傾向が認められた。塩基飽和度は 3800m の全層位および 3400m の A2, Bw2, Bw3 層を除いて、100%を超えており、全体的に高い値を示した。いずれの断面においても下層になるほど値が小さくなる傾向が認められた。

2-3-2-6 可溶性鉄およびアルミニウムの形態

Fe_d 含量は $13.8 \sim 18.7 \text{ g kg}^{-1}$ 、 Fe_o 含量は $2.2 \sim 6.5 \text{ g kg}^{-1}$ および Fe_p 含量は $0.8 \sim 2.4 \text{ g kg}^{-1}$ の範囲を示し、断面内の層位間で一定の傾向は認められなかった。 Fe_d はいずれの土壤においても最も高い値であり、表層で低く下層に向かうほど増大する傾向があった。 Al_d 含量は $1.8 \sim 2.7 \text{ g kg}^{-1}$ 、 Al_o 含量は $1.6 \sim 2.8 \text{ g kg}^{-1}$ および Al_p 含量は $0.6 \sim 1.9 \text{ g kg}^{-1}$ の範囲を示した。 Al_d および Al_o は Al_p に比べて明らかに高く、 Al_p および Fe_p は大きな相違は認められなかった。

2-4 考 察

いずれの土壤においても粒径組成におけるシルト含量が最も高く、土性はシルト質壤土 (SiCL)、シルト質埴土 (SiC) のいずれかに区分された。シルト質土壤は風成塵 (レス) 母材由来の可能性が高いことが報告されている (Sun and Liu, 2000; Wang *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2008)。Vriend and Prins (2005)は、本研究の調査地を含むチベット高

原の北東部において、レス・古土壌の調査記録を報告している。調査地のある祁連山脈の北東部は黄土高原の西端に位置しており (Sun and Liu, 2000), 同時にタクラマカン砂漠やゴビ砂漠の東にも位置している。したがって、これらの砂漠から風成塵が黄土高原へ輸送される過程で、古来より大量のレスが当地に降下して土壌母材の一部になったことが考えられた。

土壌 pH は弱酸性～中性であり、交換性 Ca 含量 ($18.2\sim 53.8\text{ cmolc kg}^{-1}$) は、同じ地域で Li *et al.* (2010) が報告した石灰質土壌における交換性 Ca 含量 ($14.0\sim 47.4\text{ cmolc kg}^{-1}$) よりも高いことから、この地域はカルシウムリッチ土壌であることが示唆された。また、塩基飽和度の大部分が 100% を大きく超えており、遊離炭酸カルシウムが多量に存在していることが考えられた。

全炭素量から無機炭素量を差し引くと土壌有機炭素量 (SOC) となり、A 層では $34\sim 117\text{ g kg}^{-1}$, その他の層でも $14\sim 36\text{ g kg}^{-1}$ を示した。同じ地域における以前の研究において、Li *et al.* (2010) が指摘した「多量の有機物が蓄積されていた土壌」は A 層およびその他の層でそれぞれ $34\sim 192\text{ g kg}^{-1}$ および $8\sim 39\text{ g kg}^{-1}$ の範囲の値であり、本研究の結果とほぼ同様であった。また、SOC に対する標高の影響を評価するため、標高に伴う SOC の違いを調べた。Li *et al.* (2017) によると、本研究より高標高帯 (4400～5200m) のチベット高原草地土壌の 0～20cm における SOC は、標高が上がると共に増大する傾向があり (図 2-5, a), 標高の低いほど過放牧による地上バイオマスの減少が認められることが報告されている。彼らの 0～20cm における SOC 量は容積あたりであったため、本研究のデータ (重量あたり) を以下の式で概算して比較した。

$$(\text{有機炭素量}_1 \times \text{その深さ}_1 + \text{有機炭素量}_2 \times \text{その深さ}_2 + \dots) \div \text{深度}$$

図 2-5 (b) に示したように、3400m (83.5 g kg^{-1}) から 4200m (58.8 g kg^{-1}) にか

けて標高の上がるとともに SOC 量は減少する傾向が認められた。この傾向の違いは柵の設置による放牧の影響を排除したことに帰因すると考えられる。加えて、一般的には標高の増加に伴い、温度の低下や降水量の減少が考えられることから、標高が高いほど植生は減少し、植生遺体の分解も抑制されることから、地上バイオマスは減少すると考えられる。したがって、Li *et al.* (2017)の結果は放牧圧による支配が強く反映された結果であり、我々の結果とは大きく異なると考えた。

次いで Fe と Al 成分について考察した。3400 m ではその他の断面と比べて、 Fe_d は $13.8\sim 18.7\text{ g kg}^{-1}$ と高い値、 Fe_o は $2.2\sim 6.5\text{ g kg}^{-1}$ と低い値を示した。 Fe_d は遊離の非晶質および結晶質 Fe の全ての鉄酸化物を、 Fe_o は非結晶質鉄酸化物を表す(Parfitt and Childs, 1988)。 $Fe_d - Fe_o$ によって結晶性鉄酸化物の含量が概算され、その値は $8.7\sim 16.1\text{ g kg}^{-1}$ の範囲と 3400m が非常に高くその他の断面に比べて、結晶質酸化鉄が卓越していた。また、 Al_d は主として腐植複合体 Al とアロフェンの Al の含量を、 Al_o は非晶質および結晶質 Al と腐植複合体 Al の含量を、 Al_p は腐植複合体 Al を意味している(Parfitt and Childs, 1988)。いずれの土壌の層位においても Al_d 、 Al_o および Al_p に大きな違いは認められなかったことから、Al は腐植複合体の形態で卓越していると考えた。

以上の結果を踏まえて各土壌を分類すると (表 2-4)、4200m は、深さ 30cm 以内に沖積堆積物に由来する礫土 (粒径 2mm 以上の礫が 50%以上) 層が出現し、Cambic 層を持たないことから、Regosol に分類された。4000m は、Cambic 層 (構造が弱く、赤黄色の土色をもち、初期段階の土層) を持ち、沖積堆積物に由来する礫が下層から出現することから、Calcaric-Skeletal Cambisol (石灰質、シルト質、下層礫質) に分類された。3800m および 3400m は主にレス母材を主体とした土壌であり、Mollic 表層 (構造が発達して柔らかい黒色土層) を持ち、Calcic 層 (炭酸カルシウムの集積層) を持た

ないことから、ファエオゼム (Phaeozem) に分類され、かつ、Pachic (厚層腐植質) の特性を併せ持つことから、Pachic-Calcaric Phaeozem (厚層腐植質, 石灰質, シルト質) に分類された。

2-5 まとめ

青海・チベット高原における高山草地の土壌特性を把握することは、炭素貯留メカニズムや有機物特性を評価する上で重要な基本情報である。本章ではこうした考えに基づいて4地点の標高別土壌を用いて、土壌断面形態の判定および一般物理化学性分析を行い、さらに、WRB基準に基づいた土壌分類を行った。その結果、

- 1) 青海・チベット高原祁連山脈における高山草地土壌の母材を粒径組成と調査地の位置付けから考察した。粒径組成における高いシルト含量と、調査地が西に位置する砂漠から東にある黄土高原への風成塵の輸送路途中にあることから、レスの降下堆積物が土壌母材になったことを推測した。また、礫の母材は沖積堆積物であり、その風化物も土壌母材の一部となっている。
- 2) 土壌 pH (H₂O) が弱酸性から中性であり、塩基飽和度の大部分は 100%を超えていたこと、また交換性 Ca 含量が著しく高いことから、この地域はカルシウムリッチ土壌であることが示唆された。この結果は同時に青海・チベット高原における高山草地土壌の母材が石灰質レスに由来することを改めて支持するものであった。
- 3) 当地の土壌には多量の SOM が蓄積されていることを示した。標高の上昇と共に 0 ~20cm における土壌有機炭素量が減少する傾向が認められた。標高の上昇に伴う

気温の変化によって、SOMの量的な変化が引き起こされたと考えられた。

- 4) 土壌断面形態および一般物理化学性分析の結果に基づいて土壌分類を行った結果、青海・チベット高原の土壌型は気候とよく対応し、標高が高く比較的乾燥した4200m および 4000m では断面内に沖積堆積物に由来する礫が多く、Cambisol や Regosol といった未熟な土壌が分布していた。また、標高が低く比較的降水量の多い3800m および 3400m 地点では、黒色の Mollic 層を特徴とし、レスを主母材とする Phaeozem が分布していた。

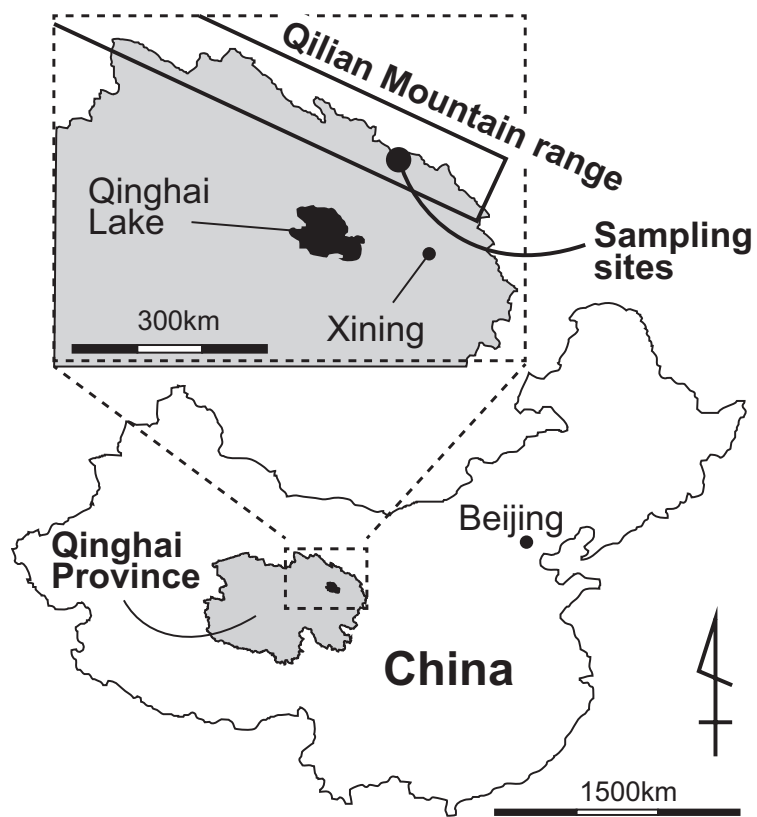


図 2-1 調査地域の青海・チベット高原祁連山脈の位置

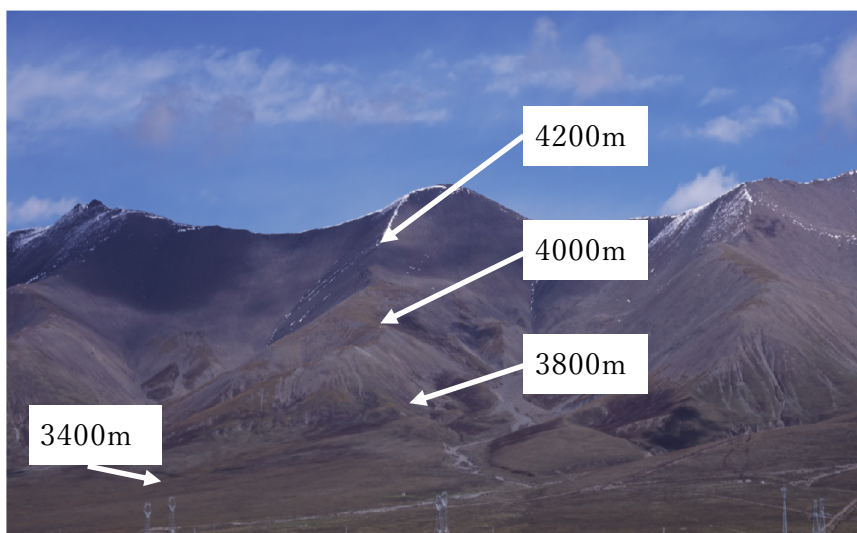


図 2-2 青海・チベット高原祁連山脈の高山草地土壌における
土壌試料の採取地点



3400m



3800m

図 2-3 採取地点における柵内外の様子



4000m



4200m

図 2-3 採取地点における柵内外の様子（続き）

表2-1 青海・チベット高原における調査地概況

	4200 m 地点	4000 m 地点	3800 m 地点	3400 m 地点
調査年月日	2015年9月20日	2015年9月21日	2015年9月23日	2015年9月19日
緯度	37°42'42"N	37°42'27"N	-	37°39'54"N
経度	101°22'33"E	101°22'19"E	-	101°19'51"E
標高	4138 m	3958 m	-	3340 m



4200m



4000m



3800m



3400m

図2-4 青海・チベット高原における各調査地の土壌断面写真

表 2-2 青海・チベット高原高山草地土壌の土壌断面記載

地点	層位	深度 (cm)	層界			土色	硬度	大きさ(1cm)	石礫		含量	形状	構造 サイズ	発達度	備考
			形状	明瞭度	明瞭度				形状	形状					
4200m	A1	0-7/10	不規則	明瞭	2.5Y 3/3	-	10	角礫	含む	-	-	-	-	巨礫多い、礫土	
	AB	7/10-14	平坦	明瞭	2.5Y 4/3	-	10	角礫	含む	-	-	-	-		
	BC	14-30			2.5Y 4/6	-	30	角礫	含む	-	-	-	-		
4000m	A1	0-3	平坦	明瞭	2.5Y 3/3	-	1	円礫	あり	-	-	-	-	根多い 柔らか、茶と灰のまだら	
	AB	3-10	平坦	明瞭	2.5Y 4/3	-	1	円礫	あり	-	-	-	-		
	Bw1	10-20	平坦	明瞭	2.5Y 4/6	-	1	円礫	あり	-	-	-	-		
	Bw2	20-30	平坦	明瞭	2.5Y 4/6	-	5	角礫	あり	-	-	-	-		
	Bw3	30-38	平坦	明瞭	2.5Y 4/4	-	10	角礫	含む	-	-	-	-		
					明瞭	2.5Y 3/2	-	-	-	なし	-	-	-		空洞有り
3800m	A1	0-2.5	平坦	明瞭	2.5Y 3/2	-	-	-	なし	-	-	-	-	柔らかい 黒め 灰色、礫多い 黄褐色、礫多い	
	A2	2.5-9	平坦	漸変	2.5Y 3/3	-	-	-	なし	-	-	-	-		
	A3	9-20	平坦	漸変	2.5Y 3/3	-	-	-	なし	-	-	-	-		
	A4	20-25	平坦	明瞭	2.5Y 4/3	-	10	亜角礫	あり	-	-	-	-		
	B1	25-36	波状	明瞭	2.5Y 4/4	-	15	亜角礫	含む	-	-	-	-		
3400m	A1	0-9	平坦	明瞭	2.5Y 3/1	12	1	円礫	あり	団粒状	2 - 5mm	弱	-	弱 弱 弱 弱 弱 弱 極弱	
	A2	9-18	平坦	明瞭	2.5Y 3/2	15	1	円礫	あり	壁状	5mm	弱	-		
	AB	18-27	平坦	明瞭	2.5Y 3/2	14	1	円礫	あり	壁状	2cm	弱	-		
	Bw1	27-45/56	平坦	明瞭	2.5Y 3/3	16	1	円礫	あり	-	2cm	弱	-		
	Bw2	45/56-79	波状	明瞭	2.5Y 3/3	10	1	円礫	あり	-	1cm	弱	-		
	Bw3	79-100	平坦	明瞭	2.5Y 3/2	18	1	円礫	あり	-	2cm	極弱	-		

表 2-3 青海・チベット高原高山草地土壌の一般理化学性

Site	Soil horizon	Depth	pH		TC	IC (g/kg soil)	TN	C/N	Particle size distribution (%)			Soil texture	EC (mS/m)
			H ₂ O	KCl					Sand	Silt	Clay		
4200 m	A1	0-7/10	6.6	5.8	84.9	N.D.	6.1	13.9	25.0	47.2	27.8	SiC	8.7
	AB	7/10-14	7.3	6.4	49.7	0.1	3.8	13.0	26.0	46.5	27.4	SiC	6.7
	BC	14-30	7.7	6.4	21.3	N.D.	1.6	13.5	21.8	52.0	26.2	SiC	3.8
4000 m	A1	0-3	6.5	5.7	55.2	1.0	4.4	12.7	14.2	53.2	32.5	SiC	8.8
	AB	3-10	6.7	5.5	33.7	N.D.	2.8	12.0	15.1	52.8	32.1	SiC	4.6
	Bw1	10-20	6.8	5.6	31.1	N.D.	2.5	12.3	15.0	53.1	31.9	SiC	3.9
	Bw2	20-30	7.3	5.7	18.3	N.D.	1.2	14.7	19.5	54.7	25.8	SiC	2.4
	Bw3	30-38	7.4	5.8	14.1	N.D.	0.9	15.2	21.3	54.0	24.8	SiCL	2.5
3800 m	A1	0-2.5	6.0	5.4	96.4	0.6	7.8	12.4	14.7	52.5	32.8	SiC	25.1
	A2	2.5-9	6.1	5.4	67.4	0.6	5.5	12.3	16.1	52.7	31.1	SiC	13.7
	A3	9-20	6.5	5.6	56.5	N.D.	4.4	12.7	18.6	50.4	31.0	SiC	7.7
	A4	20-25	6.7	5.7	49.1	N.D.	3.7	13.2	16.3	52.7	31.0	SiC	4.4
	B1	25-36	6.9	5.7	22.5	0.2	1.5	14.8	15.6	52.5	31.9	SiC	4.7
3400 m	A1	0-9	6.5	5.9	116.8	0.2	8.4	13.9	17.3	58.4	24.3	SiCL	18.3
	A2	9-18	6.7	5.8	58.2	0.5	4.6	12.6	17.0	58.3	24.8	SiCL	8.0
	AB	18-27	6.9	6.0	50.5	N.D.	4.2	12.1	16.6	60.8	22.6	SiCL	7.8
	Bw1	27-45/56	6.9	6.2	35.6	N.D.	2.6	13.5	18.0	56.7	25.3	SiC	4.9
	Bw2	45/56-79	7.3	6.3	27.2	0.3	1.8	14.8	23.3	52.2	24.5	SiCL	6.2
	Bw3	79-100	7.3	6.4	28.4	N.D.	2.0	14.3	17.3	56.5	26.2	SiC	5.5

N.D.: 不検出 ; TC: 全炭素 ; IC: 無機炭素

表 2-3 青海・チベット高原高山草地土壌の一般理化学性 (続き)

Site	Soil horizon	Exchangeable bases ($\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$)					CEC (%)	Citrate			Oxalate			Pyrophosphate	
		Ca^{2+}	Mg^{2+}	K^+	Na^+	Na^+		Fe_d	Al_d	$\text{Fe}_d - \text{Fe}_o$	Fe_o	Al_o	Fe_p	Al_p	
4200 m	A1	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
	AB	53.8	3.5	0.4	0.2	36.4	159	14.3	1.9	10.7	3.6	1.6	0.8	0.8	
	BC	39.1	3.0	0.6	0.3	37.4	115	16.9	2.1	12.2	4.8	2.1	1.0	1.0	
4000 m	A1	45.3	3.7	0.9	0.3	31.4	160	15.4	2.3	10.8	4.5	2.2	1.0	1.1	
	AB	41.1	3.0	0.5	0.2	32.4	138	16.2	2.4	11.3	4.9	2.3	1.1	1.1	
	Bw1	41.2	2.8	0.5	0.2	33.4	134	16.5	2.4	11.3	5.2	2.5	1.2	1.2	
	Bw2	41.3	2.8	0.5	0.2	34.4	130	17.3	2.7	11.7	5.6	2.8	1.7	1.6	
	Bw3	36.9	2.5	0.4	0.2	35.4	113	16.8	2.4	11.6	5.1	2.6	1.4	1.2	
3800 m	A1	30.5	3.9	0.7	0.1	44.2	80	13.8	2.1	8.7	5.1	2.1	1.9	1.3	
	A2	26.3	3.3	0.5	0.1	39.8	76	14.4	2.2	8.7	5.7	2.3	2.1	1.5	
	A3	26.6	3.1	0.4	0.1	37.3	81	15.1	2.4	8.8	6.2	2.5	2.3	1.6	
	A4	26.5	3.0	0.3	0.1	36.2	83	15.3	2.5	8.8	6.5	2.6	2.4	1.7	
	B1	18.2	2.4	0.3	0.1	30.4	69	16.4	2.6	11.4	5.0	2.8	1.7	1.6	
3400 m	A1	41.9	3.3	1.2	0.2	44.3	105	13.9	1.8	11.7	2.2	1.6	0.9	0.6	
	A2	32.2	2.0	0.4	0.1	35.3	98	16.3	2.0	13.1	3.2	2.0	1.6	1.9	
	AB	31.0	1.9	0.3	0.1	30.2	110	16.6	2.0	13.6	3.0	1.8	1.5	1.6	
	Bw1	24.7	3.1	0.3	0.2	28.4	100	18.6	1.9	16.1	2.5	1.9	1.3	1.7	
	Bw2	23.4	3.1	0.3	0.1	28.4	95	18.7	2.0	15.8	2.9	1.7	1.3	0.7	
	Bw3	23.6	3.1	0.2	0.1	28.8	94	17.5	2.0	14.6	3.0	1.7	1.4	0.8	

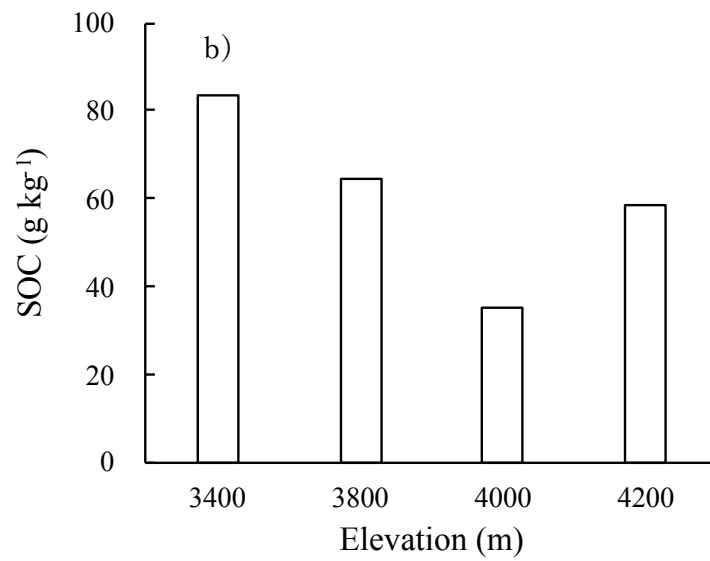
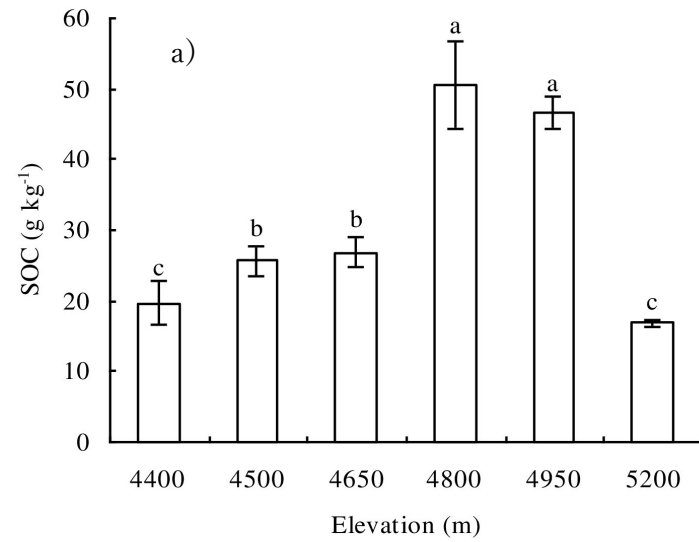


図 2-5 青海・チベット高原高山草地の標高に伴うSOC量
a)は出典 Li *et al.*, 2017; b)は本研究

表2-4 青海・チベット高原高山草地土壌の土壌分類

Site (altitude)	Soil classification (WRB 2014)
4200 m	Regosol
4000 m	Calcaric-Skeletal Cambisol
3800 m	Pachic-Calcaric Phaeozem
3400 m	Pachic-Calcaric Phaeozem

第3章 青海・チベット高原祁連山脈の高山草地土壌における腐植形態分析

3-1 はじめに

青海・チベット高原における SOM (SOC) に関する研究は数多く行われてきたが (Tan *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2002), それらはもっぱら量的な分布や変化に終始したものであり, 質的な評価に目を向けた研究はほとんどない. 前章では, 本地域の各標高における高山草地土壌の断面形態および一般物理化学性について検討し, 母材や分類などの土壌特性を明らかにした. 本章では, 腐植形態分析を用いて腐植組成と腐植酸の光学的性質, 並びに腐植酸型を調べることにより, 当地の SOM がどのような特性を持っているのかを評価した.

腐植物質をその溶解度特性に基づいて腐植酸, フルボ酸およびヒューミンの3画分に分け, それらの組成比を表す腐植組成は, 腐植物質はもとより SOM の本質的な特性を捉えるために利用され, 土壌環境の違いをよく反映すると考えられている (Kumada, 1987; Watanabe and Kuwatsuka, 1991). 腐植形態分析はこの組成に加えて SOM の性質を最もよく表すとされる腐植酸の光学的特性をも評価することができる手法である (Kuwatsuka *et al.*, 1978; Tsutsuki and Kuwatsuka, 1978a, b, 1979; Yonebayashi and Hattori, 1988; Tate *et al.*, 1990). また, この手法は, 腐植酸試料の分離精製の手間や高価な機器を必要としないことから, 特に多くの試料を比較する場合や, 試料量や使用可能な機器が限られている場合に便利である (Ikeya and Watanabe, 2003). そこで, 青海・チベット高原の SOM 特性に関する情報を得るための第一歩として, この地域の炭素貯

留が予想以上に高いとされる原因を解明するために同分析法を実施した。

ところで、日本では古くからいわゆる Kobo-Oba 法 (Oba, 1964) や Nagoya 法 (Kumada *et al.*, 1967) を通じて土壌腐植酸の分類を含めた腐植形態分析が広く用いられてきた (例えば, Kumada, 1987; Watanabe *et al.*, 2001; Tani *et al.*, 2012)。前者の Kobo-Oba 法では水酸化ナトリウム (NaOH) 溶液による抽出で、後者の Nagoya 法では NaOH 溶液に加えてピロリン酸ナトリウム ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$) 溶液を用いた逐次抽出で腐植形態分析が行われる。特に後者の方法では、NaOH 溶液で抽出される腐植物質を遊離型腐植、 $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 溶液で抽出される腐植物質を結合型腐植と位置付けて腐植の存在形態を評価できる。一般に、多価陽イオンと結合した状態の SOM (結合型腐植) は土壌中で安定に存在することが知られており (Oades, 1988; Kögel-Knabner *et al.*, 2008)、腐植物質を遊離型腐植と結合型腐植に分別定量できる Nagoya 法は SOM の安定性を考える上では極めて有効な手段と言える。その一方で、日本のような酸性土壌で鉄 (Fe) やアルミニウム (Al) の遊離酸化物の多い土壌では $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 溶液による結合型腐植の抽出が効果的であるものの (Maie *et al.*, 2002)、本研究の対象地域である青海・チベット高原の土壌にそれを適用するだけでは充分とは言えない。第 2 章で述べたように、当地域の土壌はレス母材の影響が強い中性付近の土壌であり、交換性 Ca 含量も著しく高いため、SOM が Ca 結合型として土壌中で安定に存在している可能性が高いからである。 $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 溶液は結合型の中でもカルシウム (Ca) 結合型よりも、Fe や Al 結合型腐植を優先的に抽出することが知られている (Nakamura *et al.*, 2007)。つまり、Nagoya 法による NaOH- $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 逐次抽出法では Ca 結合型の評価が難しい。そこでこの手法に加え、塩酸前処理を施した NaOH 抽出法を同時に行えば、Ca 結合型と Fe・Al 結合型の情報が同時に得られるとの考えに至った。

そこで本章では、通常の腐植形態分析で得られる腐植組成比と腐植酸の光学的特性に加えて、腐植結合形態をも明らかにするために、NaOH 溶液と $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 溶液による逐次抽出法 (OH-PP 法) と HCl 前処理後に NaOH 溶液で抽出する Cl-OH 法のふたつの手法を同時に行い、腐植の形態分析および腐植酸の光学的分析を行った結果を述べる。

3-2 試料および方法

3-2-1 供試土壌

供試土壌には第 2 章 (2-2-3) で調製した風乾細微土を用いた。

3-2-2 腐植形態分析法

3-2-2-1 腐植抽出

腐植形態分析法としてふたつの抽出法を実施した。

1) Cl-OH 法：炭素含量 100 mg 相当の風乾細微土を 200 mL 容遠沈管に精秤した。0.1M 塩酸 (HCl) 溶液 30 mL をホールピペットで加え、室温で 30 分間振動した。その後、10000 rpm で 20 分間遠心分離し、上澄みを乾燥ろ紙 (No.2) でろ過した。このろ液を 50 mL 容メスフラスコに取り、水で定容してフルボ酸試料溶液 (Pre-FA_{Cl}) とした。遠心分離後の土壌残渣は、0.5% 水酸化ナトリウム溶液 (NaOH) 30 mL をホールピペットで加え、沸騰水浴中で 30 分間加熱抽出をした。その後、氷水で室温まで冷却し、45 mL 容コニカルチューブに移して 10000 rpm で 20 分間遠心分離した。この上澄み液 20 mL をホールピペットで 45 mL 容コニカルチューブに取り、これを腐植物質抽

出 (HE_{Cl}) 液とした。本研究では、この抽出方法を Cl-OH 法と命名した。HE_{Cl} 液に濃硫酸 0.2 mL を加えて振り混ぜて一晩静置した。その後、10000 rpm で 20 分間遠心分離し、上澄みを乾燥ろ紙 (No.2) を用いて濾過した。このろ液から 10 mL を 20 mL 容メスフラスコに取り、水で定容してフルボ酸 (FA_{Cl}) 液とした。沈殿には、5M NaOH 溶液 0.2 mL をピペットマンで加えて完全に溶解した後、0.1M NaOH 溶液を用いて 50 mL に定容して腐植酸 (HA_{Cl}) 液とした。

2) OH-PP 法：炭素含量 100 mg 相当の風乾細微土を 200 mL 容三角フラスコに精秤した。0.5% NaOH 30 mL をホールピペットで加え、沸騰水浴中で 30 分間加熱抽出をした。その後、氷水で室温まで冷却してから 45 mL 容コニカルチューブに移し、10000 rpm で 20 分間遠心分離した。上澄み液の 20 mL をホールピペットで 45 mL 容コニカルチューブに取り、これを 1 回目抽出 (HE_{OH}) 液とした。この残渣には、0.1M ピロリン酸ナトリウム溶液 (Na₄P₂O₇ · 10H₂O) 30 mL をホールピペットで加え、室温で 30 分間振動した。その後、10000 rpm で 20 分間遠心分離し、上澄み液の 20 mL をホールピペットで 45 mL 容コニカルチューブに取り、これを 2 回目抽出 (HE_{PP}) 液とした。本研究では、この逐次抽出法を OH-PP 法と命名した。HE_{OH} および HE_{PP} 液にそれぞれ濃硫酸 0.2 mL を加えて振り混ぜ、一晩静置した。その後、それぞれ 10000 rpm で 20 分間遠心分離し、上澄みを乾燥ろ紙 (No.2) を用いて濾過した。これらのろ液から 10 mL をそれぞれ 20 mL 容メスフラスコに取り、水で定容してフルボ酸(それぞれ FA_{OH}, FA_{PP}) 液を得た。それぞれの沈殿物には、5M NaOH 溶液 0.2 mL をピペットマンで加えて完全に溶解した後、0.1M NaOH 溶液を用いてそれぞれ 50 mL, 25 mL に定容して腐植酸 (それぞれ HA_{OH}, HA_{PP}) 液とした。

3-2-2-2 分析試料の全有機炭素量 (TOC)

抽出したフルボ酸液および腐植酸液の全有機炭素量は、全有機炭素計（TOC-V CPH, SHIMADZU 社製）を用いて測定した。標準液は、フタル酸水素カリウム（Nacal tesque 社製）を用いて 1000 mgC L^{-1} フタル酸水素カリウム水溶液を調整し、 50 mgC L^{-1} に希釈して標準液を作成した。また、装置の設定条件は以下の通りであった。

燃焼温度： 680°C

N₂ ページ時間：1.5 min

注入量：150 μL

注入回数：3~5 回

SD $\leq 0.1\%$

CV $\leq 2\%$

フルボ酸試料溶液は超純水で適宜希釈して一般法で測定した。腐植酸試料溶液は Ikeya and Watanabe (2003) にしたがって測定をした。すなわち、0.1 M NaOH 溶液で溶解した腐植酸試料溶液を一定量はかり取り、超純水で作成した 1/15 M KH_2PO_4 溶液で 5 倍希釈し、中性付近であることを確認した。この後、一般法と同じの条件で測定した。なお、ヒューミン画分の含量は、土壌の全炭素量から腐植酸炭素量およびフルボ酸炭素量を差し引いて算出した。

3-2-2-3 腐植酸の光学的分析法

定容後の腐植酸試料溶液（0.1 M NaOH 溶液）の一部を取り、0.1 M NaOH 溶液で適宜希釈して紫外可視分光光度計（V-630, 日本分光）を用いて 400 nm および 600 nm における吸光度を測定した。試料測定に際しては、600 nm における吸光度が 0.1~0.2 の範囲に収まるように希釈した。その後、固定波長（400 nm および 600 nm）の吸光度

測定に供した試料溶液を 0.1M NaOH 溶液でさらに 10 倍希釈し、230~700 nm の範囲における紫外可視吸光度スペクトルを測定した。なお、測定は 5 nm 間隔で行った。固定波長の測定の結果から、色調係数 ($\Delta \log K$) および相対色度 (A_{600}/C) を以下の式にしたがって算出した。ここで、腐植酸の炭素濃度 (C) は、3-2-2-2 に述べたように測定した。

$$\text{色調係数 } (\Delta \log K) = \log A_{400} - \log A_{600}$$

相対色度 (A_{600}/C): 炭素あたりの色 (600 nm) の濃さ

3-3 結果

3-3-1 腐植組成

腐植酸およびフルボ酸画分のそれぞれの含量を炭素量当たりで算出した結果を表 3-1 に示した。Cl-OH 法における HA_{Cl} 含量は 4200m, 4000m, 3800m および 3400m の土壌断面でそれぞれ 5.7~21.1 C g kg⁻¹, 4.3~12.0 C g kg⁻¹, 9.6~26.7 C g kg⁻¹ および 12.0~33.1 C g kg⁻¹ の範囲であり、いずれの断面においても表層から下層にかけて減少した。また、概して標高の減少に伴い、炭素量の増加する傾向が見られた。Pre- FA_{Cl} と FA_{Cl} の含量は 4200m, 4000m, 3800m および 3400m でそれぞれ 0.4~2.0 と 4.6~15.5 C g kg⁻¹, 0.2~1.6 と 2.9~13.4 C g kg⁻¹, 0.6~4.1 と 4.5~22.7 C g kg⁻¹ および 0.4~3.3 と 3.2~21.1 C g kg⁻¹ の範囲であり、 HA_{Cl} と同様の傾向を示して表層から下層にかけて減少した。また、4200m および 4000m に比べて 3800m および 3400m の方が全体的に高い値を示した。OH-PP 法における HA_{OH} と FA_{OH} の含量は 4200m, 4000m, 3800m

および 3400m でそれぞれ 3.8~17.9 と 5.0~20.4 C g kg⁻¹, 2.1~9.9 と 3.4~16.5 C g kg⁻¹, 4.9~22.5 と 5.2~29.0 C g kg⁻¹ および 4.2~23.0 と 3.6~24.1 C g kg⁻¹ の範囲であり, Cl-OH 法による HA_{Cl} と FA_{Cl} の含量とほぼ同様の傾向が認められた. HA_{PP} と FA_{PP} の含量は 4200m, 4000m, 3800m および 3400m でそれぞれ 0.7~1.4 と 1.3~2.0 C g kg⁻¹, 0.6~1.7 と 0.6~2.0 C g kg⁻¹, 2.0~2.9 と 1.2~3.0 C g kg⁻¹ および 2.9~6.0 と 1.3~2.9 C g kg⁻¹ の範囲であり, HA_{OH} と FA_{OH} に比べて全体的に低い値を示した. HA_{OH}, FA_{OH} および FA_{PP} の含量は各土壌断面において深さとともに減少し, いずれも表層でも多かった. しかし, 3400m における HA_{PP} の含量は深さとともに大幅に増加し, 特に Bw2 + Bw3 の層では HA_{PP} の含量が HA_{OH} の含量よりも高かった (表 3-1, 図 3-4).

また, 全炭素量に占める腐植酸, フルボ酸およびヒューミン画分の組成比 (%) を表 3-1 および図 3-1 (a, b) に示した. Cl-OH 法では, 腐植酸画分 (HA_{Cl}) の割合は 4200m, 4000m, 3800m および 3400m でそれぞれ 25~27%, 22~35%, 28~43% および 23~44%, フルボ酸画分 (FA_{Cl}) の割合は同様にそれぞれ 21~24%, 22~28%, 23~29% および 13~21%, ヒューミン画分 (HN_{Cl}) の割合のそれはそれぞれ 49~55%, 42~50%, 34~44% および 40~64% の範囲であった. いずれの断面においても, 腐植酸画分の割合は概して表層から下層にかけて増加したが, フルボ酸画分の割合は減少するという傾向が認められた (図 3-1.a). ヒューミン画分では特に明瞭な傾向は認められなかった. OH-PP 法では, 腐植酸画分 (HA_{OH-PP}) の割合は 4200m, 4000m, 3800m および 3400m でそれぞれ 21~23%, 19~30%, 27~32% および 20~37%, フルボ酸画分 (FA_{OH-PP}) の割合のそれはそれぞれ 26~30%, 29~35%, 29~34% および 18~23%, ヒューミン画分 (HN_{OH-PP}) の割合のそれはそれぞれ 49~51%, 36~52%, 36~40% および 43~61% の範囲であり, Cl-OH 法で得られたのと同じ傾向が示された (図

3-1.b). また, HA_{Cl} と HA_{OH} , HA_{PP} の割合は標高が下がると共に増大する傾向を示した.

3-3-2 腐植酸型

各手法によって抽出された腐植酸画分の色調係数 ($\Delta \log K$) および相対色度 (A_{600}/C) を表 3-2 に示した. $\Delta \log K$ および A_{600}/C の値から, Ikeya and Watanabe. (2003) にしたがって各腐植酸を A, B, P, Rp の 4 種類の腐植酸型に分類し, 表 3-2 および図 3-2 (a, b) に示した. また, 図 3-3 (a, b, c) に示した紫外可視吸光スペクトルを元に, 熊田・佐藤 (1965) にしたがって各形態の腐植酸画分を細分化した. すなわち, 570 および 615nm 付近に弱い肩状吸収が認められるものを±, 同付近に肩状吸収が明瞭に認められるものを+, 更により明瞭に吸収が認められるものを++, +++とした.

Cl-OH 法では, $\Delta \log K_{Cl}$ の値は, 4200m で 0.645~0.751, 4000m で 0.535~0.748, 3800m で 0.519~0.721 および 3400m で 0.522~0.683 の範囲を示し, 標高が下がると共に低くなり, 同時に下層になるほど低くなる傾向が見られた. A_{600}/C_{Cl} は, 4200m で 3.0~3.7, 4000m で 3.3~7.0, 3800m で 3.7~8.2 および 3400m で 4.6~9.3 の範囲を示し, 標高が下がると共に高くなり, 同時に下層ほど高くなる傾向が認められた. $\Delta \log K$ の値が低いほど, また, A_{600}/C の値が高いほど腐植化度は高くなる (Ikeya and Watanabe, 2003). Cl-OH 法で得た腐植酸は概して上層では B 型, 下層ではより腐植化度の高いとされる A 型に分類された. OH-PP 法では, NaOH 抽出腐植酸の $\Delta \log K_{OH}$ と A_{600}/C_{OH} は 4200m, 4000m, 3800m および 3400m でそれぞれ 0.794~0.816 と 2.3~2.6, 0.659~0.825 と 1.9~4.1, 0.623~0.791 と 2.8~5.5 および 0.631~0.733 と 3.4~4.9 $C g kg^{-1}$ の範囲であり, $Na_4P_2O_7$ 抽出腐植酸の $\Delta \log K_{PP}$ と A_{600}/C_{PP} は 4200m,

4000m, 3800m および 3400m でそれぞれ 0.519~0.591 と 5.4~7.1, 0.483~0.589 と 4.0~10.4, 0.452~0.569 と 4.8~13.3 および 0.473~0.542 と 7.2~11.4 C g kg⁻¹ の範囲であった。Δlog K_{OH} は Δlog K_{PP} より全体的に高い値を示し、A₆₀₀/C_{OH} は A₆₀₀/C_{PP} より全体的に低い値を示したが、いずれも Δlog K_{Cl} および A₆₀₀/C_{Cl} とそれぞれ標高の違いや層位の深さの違いに対して同様の傾向が認められた。OH-PP 法による NaOH 抽出腐植酸は主に Rp 型と B 型に、Na₄P₂O₇ 抽出腐植酸はほぼ A 型に分類された。

3-4 考 察

3-4-1 腐植組成

全炭素量に占めるヒューミン画分 (HN_{Cl} および HN_{OH-PP}) の割合は、それぞれ 34~65% および 36~61% の範囲であり、全ての土壌断面において 3 つの腐植画分中で常に最も高い値を示した。したがってヒューミンの存在が、この地域で意外に多いとされる土壌炭素貯留量に深く関わっていることは間違いない。ただし、土壌の深さや標高差に伴う明確な変化傾向は見られなかった。一般に、ヒューミンは粗大有機物や粘土その他の無機鉱物に強固に結合した有機物から成ると考えられている (Rice, 2001)。粗大有機物は新鮮な植物根遺体に由来するが、下層でもヒューミン画分が 50% を超えるケースがいくつか見られた。このヒューミンの主体が粗大有機物であると考えた場合、供給源として考えられるのは現存植生の草本根とレスの降下によって埋没した草本そのものである。しかし、草本の根分布を念頭におくと下層になるに従ってヒューミン量の減少する傾向が見られてもおかしくない。また、過去の植生の埋没の可能性は否定できな

いものの、より温度の高い低標高地ほど草本量（地上バイオマス）は多くなり、あるいは、微生物活性の増大による分解が進行するというように、ある程度の標高差による傾向が認められてもおかしくない。加えて、目視によるレベルだが、少なくとも下層の土壌で有機物片（植物遺体片）はほとんど認められなかった。これらのことを考え合わせると粗大有機物がヒューミンの主体とは考えにくい。次に、粘土をはじめとする無機鉱物との強固な複合体形成が主体であると考えた場合、本地域の土壌がシルト質土壌で粘土含量が相対的に少ないこと、ならびに、他の土壌とくらべてFeやAl含量が著しく高い訳ではないという土壌特性の結果を考慮すれば、強固に結合した有機物がヒューミンの主体であることも考えにくい。

以上のことから、この地域のヒューミンの主体としては、これまでに唱えられてきたもの以外を想定する必要がある。Asano and Wagai, (2014)とWagai *et al.* (2015)は、SOMの安定化機構のひとつとしてマイクロ団粒の形成による隔離封鎖が重要であることを報告している。彼らはマイクロ団粒とヒューミンの関係には言及していないが、理論上こうした隔離封鎖された有機物はヒューミン画分に含まれると考えられる。あるいは、この地域のヒューミンの多くが微粒炭から成る可能性も考えられる。山野井(1996)は黒ボク土におけるヒューミンは、ほとんどの構成粒子が微粒化した炭化物（微粒炭）からなり、微粒炭がヒューミンの主体であることを指摘している。後述の3-4-3で詳しく述べるが、この地域の土壌が燃焼炭の影響を受けた可能性のあることを考慮すれば、この地域のヒューミンの主体が炭化物（微粒炭）に由来する可能性も大いに在り得る。

しかしながら、ヒューミンに関しては腐植物質の研究全体の中でも質的な知見はもとより量的な知見も極端に少ないのが実情である。これは今日の分析技術ではヒューミンの量はともかく、質を解析する手段がほとんどないためであり、本論文でもこれ以上

の研究は実施できなかった。したがって、この地域で予想以上に炭素が蓄積しているとされることとヒューミンとの関係についての議論は、実験結果にのみ基づいたものではなくなるため、第5章の総合考察に委ねる。ただし、ヒューミンの量と質を今後研究することの重要性は揺るぎない。

一方、熊田（1972）によれば、日本の高山草地の A₀ 層の腐植酸画分およびフルボ酸画分の割合は 23% および 62% であった。これに対して、本地域各断面の表層において OH-PP 法による腐植酸画分およびフルボ酸画分の割合は、4200m で 23% および 26%、4000m で 21% および 34%、3800m で 27% および 33%、3400m で 22% および 23% を示し、腐植酸画分の割合はほぼ彼と同様の値を示したが、フルボ酸画分の割合はかなり低かった。このことは、本地域の高山草地土壌と日本の高山草地土壌とでは植物遺体などの腐朽変質程度に大きな違いがないものの、本地域ではヒューミン画分（抽出されない腐植）が日本の高山草地土壌より著しく多いことを示した。また、全体的に見ると、FA_{Cl} は 13~29%、FA_{OH-PP} は 18~34% の範囲であり、いずれの方法で得られた FA でも深さに伴って組成割合は減少した。

いずれの土壌においてもふたつの抽出法による腐植酸画分の含量は表層から下層にかけて著しく減少した。全炭素量に占める腐植酸画分の割合は増加する傾向を示した。松本（2015, 修論）は日本の中部地方における褐色森林土の腐植組成について、また足立（1973）は日本国内各地の火山性土壌の腐植組成について調べ、表層から下層にかけて腐植酸含量が減少し、さらに全炭素量に占める腐植酸画分の割合も減少したことを報告した。本研究の結果は日本のそれらの場合と異なり、アマゾン川中流域における黒色土の腐植組成について報告した Nakamura et al.（2007）の結果と類似した傾向であった。青海・チベット高原は世界の中でも独特の気候条件を示すため、これらの報告の腐

植組成の結果と単純に比較することは難しい。腐植組成のデータは Kumada (1987) の成書にも膨大な量が収められている。しかし、その成書の中でさえも土壌型に応じた傾向が伺えるといった以上の詳細な考察はなされていない。つまり、系統だった試料による知見はまだ充分とは言えないのが実状であり、今後さらにデータが収集されることで、腐植組成の意味するところが解明されることが望まれる。腐植酸についての詳細は後述するが、 HA_{Cl} は 22~44%、 HA_{OH-PP} は 19~37% 程度であり、深さに伴って組成割合は増加した。これはより深い土壌での SOC の蓄積がフルボ酸よりも腐植酸とより深く関連することを示唆している。また、HA/FA 比はいずれの方法においても表層から下層にかけて増大し、下層では腐植酸画分が優勢となる傾向が示された (表 3-1)。土壤微生物活性が促進されることにより、フルボ酸画分の生成が促進されることが報告されていることから (Abril *et al.*, 2009)、本研究でも下層の微生物活性が上層よりのそれより低いために、HA/FA 比が高くなったと考えられた。

3-4-2 腐植酸の結合形態

Cl-OH 法で得られた HA_{Cl} は、遊離型と結合型腐植酸の混合物である。したがって、 HA_{Cl} から OH-PP 法で得られた遊離型腐植酸量 (HA_{OH}) を差し引くと Cl-OH 法によって得られる結合型腐植酸量に相当するものが概算できる。これを ΔHA_{Cl} と表した。 HA_{Cl} に対する ΔHA_{Cl} の割合 ($\Delta HA_{Cl} / HA_{Cl} \%$)、すなわち全抽出腐植酸量に対する結合型腐植酸の割合は 5~65% の範囲であり (図 3-5)、総じて塩酸処理で得られた結合型腐植酸は遊離型腐植酸よりも少ないことが明らかになった。しかし、各土壌断面内では土壌の深度とともに結合型の割合が増加し、また、標高の低下とともに同割合が増大する傾向が認められた。

OH-PP 法は NaOH と $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ による逐次抽出法であり、遊離型と結合型を直接区別できる。いずれの土壌においても遊離型の NaOH 抽出腐植酸 (HA_{OH}) とフルボ酸 (FA_{OH}) の量は、結合型の $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 抽出腐植酸 (HA_{PP}) とフルボ酸 (FA_{PP}) のそれよりも顕著に多く、遊離型腐植酸が結合型腐植酸よりも多かった。また、OH-PP 法による HA_{PP} の割合 ($\text{HA}_{\text{PP}} / (\text{HA}_{\text{OH}} + \text{HA}_{\text{PP}}) \%$)、すなわち全抽出腐植酸量に対する結合型腐植酸の割合は、いずれの土壌においても表層から下層にかけて増加し、同時に標高の低下につれて増加する傾向を示した (図 3-6)。これは $\Delta\text{HA}_{\text{Cl}}$ の傾向と一致し、結合型腐植酸はより低い標高の、より深い土壌において顕著となることを示している。一般に、結合型腐植酸は遊離型よりも安定している (Kumada, 1987)。このような観点から見ると、NaOH で抽出した腐植酸は相対的に分解しやすく、 $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ で抽出した結合型腐植酸は何らかの無機成分と結合しているために高い安定性を得て下層土に残存したことが考えられる。同時に、より高い標高での $\text{HA}_{\text{PP}} / (\text{HA}_{\text{OH}} + \text{HA}_{\text{PP}}) \%$ は比較的 low、結合型 HA が相対的に少ないことを表しているが、これは主に低温による微生物活性の抑制 (Tan *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2013) とそれに基づく有機物分解の減少 (Martin *et al.*, 1998) によって遊離型腐植酸が相対的に多く残存した結果によると考えられる。

以上のことをまとめると、この地域の腐植酸は表層土壌中では主に遊離型として蓄積するが、標高のより低い、また、より下層の土壌では結合型腐植酸の蓄積によって予想外に高い炭素の蓄積という現象に貢献していると考えられる。

結合型腐植酸について Cl-OH 法と OH-PP 法との間で比較すると、 $\Delta\text{HA}_{\text{Cl}}$ の量は HA_{PP} よりも多く、標高の低下に伴って増大した (図 3-7)。これは、Ca と結合した腐植酸の存在が Fe や Al と結合した腐植酸よりも多いことを示唆する。熊田 (1981) は逐次抽出 (OH-PP 法) による腐植形態分析において石灰 (Ca^{2+}) の添加による結合型腐

腐植割合の変化を調べた。その結果、腐植質火山灰土壌における腐植化度の高いような腐植酸では Ca^{2+} との結合によって結合型に移行しやすく、また褐色森林土における腐植化度の低いような腐植酸では Ca 結合型への移行はわずかであることを指摘した。これに従うとすれば、低標高およびより下層の土壌の腐植酸は腐植化度が高く、それらの土壌に含まれる結合型腐植酸は Fe·Al よりも Ca とより強く会合している可能性がある。また、Muneer and Oades (1989a, b, c) は、Ca リッチ土壌では Ca が SOM を安定化させる上で重要な効果を発揮することを示した。第 2 章第 4 節の理化学性で述べたように、おそらくレスの降下・沈着と高標高の地点からより低標高の地点へのレスの移行堆積過程において、Ca と出会った腐植酸が主に Ca 結合型腐植酸として安定な形態に変化し、土壌に蓄蔵されたことが示唆される。その一方で、Fe·Al 結合型腐植酸量はいずれの土壌においても表層から下層にかけて増加する傾向が示された。このことを考えると、下層では Ca 結合型が多いものの、沖積堆積物母材（礫）の風化に由来する Fe·Al イオンが腐植酸と結合し、下層で Fe·Al 結合型の割合が増大したと考えられる。

3-4-3 腐植酸の光学的性質

$\Delta \log K$ の値が小さいほど、また同時に A_{600}/C の値が大きいほど腐植化度は高くなることが知られている (Ikeya and Watanabe, 2003)。腐植化度が標高の低下と共に全体的に増加する傾向が認められたのは、主に温度に関係している可能性が高い (Hargitai, 1994)。2007 年夏の同じ地域の研究によると、大気温度および土壌温度は 4200m で 7.5°C および 5.6°C 、3600m で 12.0°C および 9.9°C であり、標高の減少に伴って両温度が共に増加することが示されている (Hirota *et al.*, 2009)。Martin *et al.* (1998) は温度のより高い低標高帯から抽出した腐植物質が温度のより低い高標高帯のそれよりも腐

植化が進んでいることを指摘した。また、 A_{600}/C_{Cl} の値は、標高が下がると共に、かつ、下層になるほど増加した。しかしながら、 A_{600}/C_{Cl} の変化に比べると、 A_{600}/C_{OH} の変化は小さかった。したがって、 HA_{Cl} の腐植化度の変化を主に担っているのはCa結合型腐植酸であると言える。

Cl-OH法では(表3-2, 図3-2.a), HA_{Cl} の腐植化度が HA_{OH} のそれより高く、下層では常にA型に分類された。表層で腐植化度の低い腐植酸が得られたのはより新鮮で未熟な腐植酸の混入が多くなった結果として腐植化度が相対的に低くなったのかもしれない(Nakamura *et al.*, 2007)。New Zealand Soil Bureau, (1968)によれば、非火山灰土壌中のA型腐植酸は常にCa含量の高い中性付近の土壌と関連していることが指摘されている。第2章第4節で説明したように、本研究のようなCaが豊富な土壌では、何らかのメカニズムによってA型腐植酸が生成され、またこのA型腐植酸はCaと結合することで微生物分解が抑制されて安定化するために(熊田, 1981), 残存しやすい形態となることが考えられた。OH-PP法における腐植酸型は、逐次抽出腐植酸型として表記される。全試料($n=17$)の内訳はRp・A型($HA_{OH} \cdot HA_{PP}$; $n=3$), Rp・B型($n=1$), B・A型($n=11$), B・B型($n=1$)およびA・A型であった($n=1$; 図3-2.b)。このように本地域の主要な腐植酸型はRp・A型およびRp/B・A型であり、それは常にカルシウムリッチな土壌から得られるものである(Kumada *et al.*, 1987)。 HA_{PP} の大部分はA型に分類され、これはKumada *et al.* (1987)が指摘する $Na_4P_2O_7$ 抽出した結合型腐植酸はA型に分類されることが多いという見解と一致する。

A型腐植酸は一般に日本の火山灰由来である黒ボク土に分布し、植生の燃焼がその生成に重要な条件であると考えられている(Tate *et al.*, 1990; Shindo *et al.*, 2004; Nishimura *et al.*, 2009)。また、日本の黒ボク土と同様に(Nishimura *et al.*, 2009), \exists

ヨーロッパのチェルノーゼム土壌の A 層で、炭素貯留や A 型腐植酸の生成に寄与するとされる炭化物が発見された (Schmidt *et al.*, 1999). 本地域の土壌型は黒ボク土やチェルノーゼムに分類されていないにもかかわらず、A 型腐植酸が生成していた。Cowie, (1968) によると、ニュージーランドの Foxton 土壌 (非火山灰性土壌) において、本研究と類似した結果が報告され、同時に炭化物が発見された。Tate *et al.* (1990) は、非火山灰土壌でも燃焼によって A 型腐植酸が生成することを指摘した。青海・チベット高原では火災の記録が少ないが (Madsen *et al.*, 2006; Rhode *et al.*, 2007), 土壌から分離した炭片の年代測定測定から少なくとも 4000 cal. BP 年前には、おそらく人為の影響によって林地から草原に転化された可能性のあることが指摘されている (Kaiser *et al.* 2006, 2009). Kaiser *et al.* (2007) は青海・チベット高原東北部の祁連山脈における古土壌を調査した。彼らの調査地は本研究の調査地に非常に近く、土壌分類や植生なども本研究のそれらと大きな違いがない。彼らは 5 つの土壌断面中 3 つの断面で発見したマツ科トウヒ属の常緑針葉樹 (*Picea*) 由来の炭化物を年代測定して、それぞれ 8267 ± 72 cal. BP (HAB3), 8894 ± 69 cal. BP (HAB4) および 8988 ± 66 cal. BP (HAB5) 年代であることを示し、かつての青海・チベット高原の大部分が森林であった可能性を報告した。また、約 8000 cal. BP 年における二酸化炭素の異常な増加が記録にあり、人間活動による火の利用によって環境に多大な変化をもたらした可能性が報告されている (Ruddiman, 2003). これらのことから、本地域における A 型腐植酸は植物 (森林) の燃焼によって生成されたことが考えられる。Sazawa *et al.* (2018) は燃焼によって植物由来の有機物が炭化物として安定化して、SOM の化学的および生物的分解が抑制されることで、土壌中に保持されやすくなることを指摘した。さらに、本地域はレスの堆積により、特に下層では低酸素条件が生じて A 型腐植酸の生成に寄与したことも考え

られる (Maie *et al.*, 2002). 青海・チベット高原では, A 型腐植酸の生成に関する詳しい情報が不足しているため, 将来の課題として更に検討する必要があると考えられる.

3-5 まとめ

青海・チベット高原における炭素貯留のメカニズムを解明するために, 腐植形態分析による SOM の質的特性の把握を試みた. 本章では異なるふたつの腐植抽出方法を同時に行うことで青海・チベット高原における腐植の組成変化および腐植酸の結合形態を分析し, 以下の結論を得た.

- 1) この地域の SOM の 50%以上はヒューミンであり, SOM の安定な貯蔵の鍵がヒューミンにあることを示している. ただし, その主体は従来から考えられてきたものではなく, ミクロ団粒によって隔離封鎖された有機物, あるいは, 燃焼炭に由来する炭化物 (微粒炭) である可能性が考察された.
- 2) Cl-OH 法と OH-PP 法による全抽出腐植酸量に対する HA_{OH} の割合はいずれも高いことから, この地域の腐植酸は遊離型腐植酸が主体であることが示された.
- 3) Cl-OH 法で得られた結合型腐植酸量は OH-PP 法で得られた結合型腐植酸量より多かったため, この地域の結合型腐植酸は概して Ca 型であることが示された. 本地域では, レスが表層に降下し, レス由来の Ca が土壌中で移行して腐植と結合したことが考えられた.
- 4) OH-PP 法による結合型腐植酸の割合は, 標高が下がると共に高くなり, 同時に下層ほど高くなる傾向を示した. これは, 標高のより低い地点の下層では沖積堆積物

母材（礫）の風化に由来する Fe・Al イオンが腐植酸と結合し、Fe・Al 結合型腐植酸が生成された結果であることが推察された。

- 5) Cl-OH 法で下層から抽出した腐植酸および OH-PP 法による $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 抽出腐植酸の大部分は腐植化度の最も高いとされる A 型に分類された。A 型腐植酸は黒ボク土やチェルノーゼム以外の土壌においても認められるが、稀である。同地域での植物炭化物の発見から、燃焼による A 型腐植酸の生成がこの地域で A 型腐植酸が認められた要因の一つであると考えられた。

青海・チベット高原では、遊離型腐植酸が結合型腐植酸より多いものの、有機無機複合体の形成が SOM の安定性に大きく寄与している可能性がある。本章では有機物特性を把握する第一歩として腐植組成、ならびに、腐植酸の結合形態と腐植化度による SOM の質的特性評価を実施した。さらに腐植酸の化学構造特性の面からこれらの結果を考察することが望まれる。

表3-1 青海チベット高原高山草地土壌の腐植組成

Location (Altitude)	Horizon	Cl-OH										OH-PP																			
		SOC (TC/C) (g kg ⁻¹)		Pre-FA _{Cl}		HA _{Cl}		FA _{Cl}		HA/FA		ΔHA _{Cl} (C g kg ⁻¹)		ΔHA _{Cl} /HA _{Cl} (%)		HA _{Cl}		FA _{Cl}		HN _{Cl}		HA _{OH}		FA _{OH}		HN _{OH}					
4200 m	A1	84.9	2.0	21.1	15.5	1.21	3.2	15	25	21	55	17.9	20.4	1.4	1.9	0.87	7	93	23	26	51	3.8	5.0	0.7	1.3	0.72	16	84	21	30	49
	AB	49.6	1.2	13.2	10.4	1.14	4.1	31	27	23	50	9.1	12.4	1.4	2.0	0.73	13	87	21	29	50	9.1	12.4	1.4	2.0	0.73	13	87	21	29	50
	BC	21.3	0.4	5.7	4.6	1.13	1.9	33	27	24	49	3.8	5.0	0.7	1.3	0.72	16	84	21	30	49	3.8	5.0	0.7	1.3	0.72	16	84	21	30	49
4000 m	A1	54.2	1.6	12.0	13.4	0.81	2.1	18	22	28	50	9.9	16.5	1.7	2.0	0.63	15	85	21	34	44	9.9	16.5	1.7	2.0	0.63	15	85	21	34	44
	AB	33.7	0.7	8.6	8.5	0.93	1.7	20	25	27	47	6.9	10.5	0.8	1.2	0.66	11	89	23	35	43	6.9	10.5	0.8	1.2	0.66	11	89	23	35	43
	Bw1	31.1	0.6	8.7	8.1	1.00	0.4	5	28	28	44	8.2	9.3	1.0	1.3	0.87	11	89	30	34	36	8.2	9.3	1.0	1.3	0.87	11	89	30	34	36
3800 m	Bw2	18.3	0.3	6.4	4.0	1.49	3.1	49	35	23	42	3.2	4.7	0.8	0.9	0.73	20	80	22	30	47	3.2	4.7	0.8	0.9	0.73	20	80	22	30	47
	Bw3	14.1	0.2	4.3	2.9	1.38	2.1	50	30	22	48	2.1	3.4	0.6	0.6	0.68	21	79	19	29	52	2.1	3.4	0.6	0.6	0.68	21	79	19	29	52
	A1	95.8	4.1	26.7	22.7	1.00	4.1	16	28	28	44	22.5	29.0	2.9	3.0	0.80	12	88	27	33	40	22.5	29.0	2.9	3.0	0.80	12	88	27	33	40
3400 m	A2	66.8	2.6	21.5	16.7	1.12	4.7	22	32	29	39	16.9	20.0	2.0	2.2	0.85	11	89	28	33	39	16.9	20.0	2.0	2.2	0.85	11	89	28	33	39
	A3	56.5	1.8	18.3	12.2	1.31	3.8	21	32	25	43	14.5	16.8	2.2	2.5	0.87	13	87	30	34	36	14.5	16.8	2.2	2.5	0.87	13	87	30	34	36
	A4	49.1	1.5	17.1	11.1	1.36	5.2	30	35	26	39	11.9	13.4	2.4	2.5	0.90	17	83	29	32	38	11.9	13.4	2.4	2.5	0.90	17	83	29	32	38
3400 m	Bw1	22.3	0.6	9.6	4.5	1.89	4.7	49	43	23	34	4.9	5.2	2.3	1.2	1.11	32	68	32	29	39	4.9	5.2	2.3	1.2	1.11	32	68	32	29	39
	A1	116.6	3.3	33.1	21.1	1.36	10.1	31	28	21	51	23.0	24.1	2.9	2.9	0.96	11	89	22	23	55	23.0	24.1	2.9	2.9	0.96	11	89	22	23	55
	A2+AB	54.0	0.8	12.4	6.2	1.77	4.7	38	23	13	64	7.7	8.5	3.3	1.6	1.09	30	70	20	19	61	7.7	8.5	3.3	1.6	1.09	30	70	20	19	61
3400 m	Bw1	35.6	0.6	15.6	5.1	2.74	8.2	52	44	16	40	7.4	6.2	4.9	1.6	1.58	40	60	35	22	43	7.4	6.2	4.9	1.6	1.58	40	60	35	22	43
	Bw2+Bw3	27.5	0.4	12.0	3.2	3.28	7.8	65	43	13	43	4.2	3.6	6.0	1.3	2.09	59	41	37	18	45	4.2	3.6	6.0	1.3	2.09	59	41	37	18	45

Pre-FA: HCl前処理による抽出したフルボ酸； HA_{Cl}とFA_{Cl}: Cl-OH法による抽出した腐植酸とフルボ酸；
 HA_{OH}とFA_{OH}: OH-PP法でNaOHによる抽出した腐植酸とフルボ酸； HA_{pp}とFA_{pp}: OH-PP法でNa₄P₂O₇に
 よる抽出した腐植酸とフルボ酸； ΔHA_{Cl}: Ca結合型腐植酸 (HA_{Cl}-HA_{OH})； HA_{OH}-PP, FA_{OH}-PP, HN_{OH}-
 PP: OH-PP法により、全炭素量における腐植酸、フルボ酸とヒューミン画分それぞれの割合

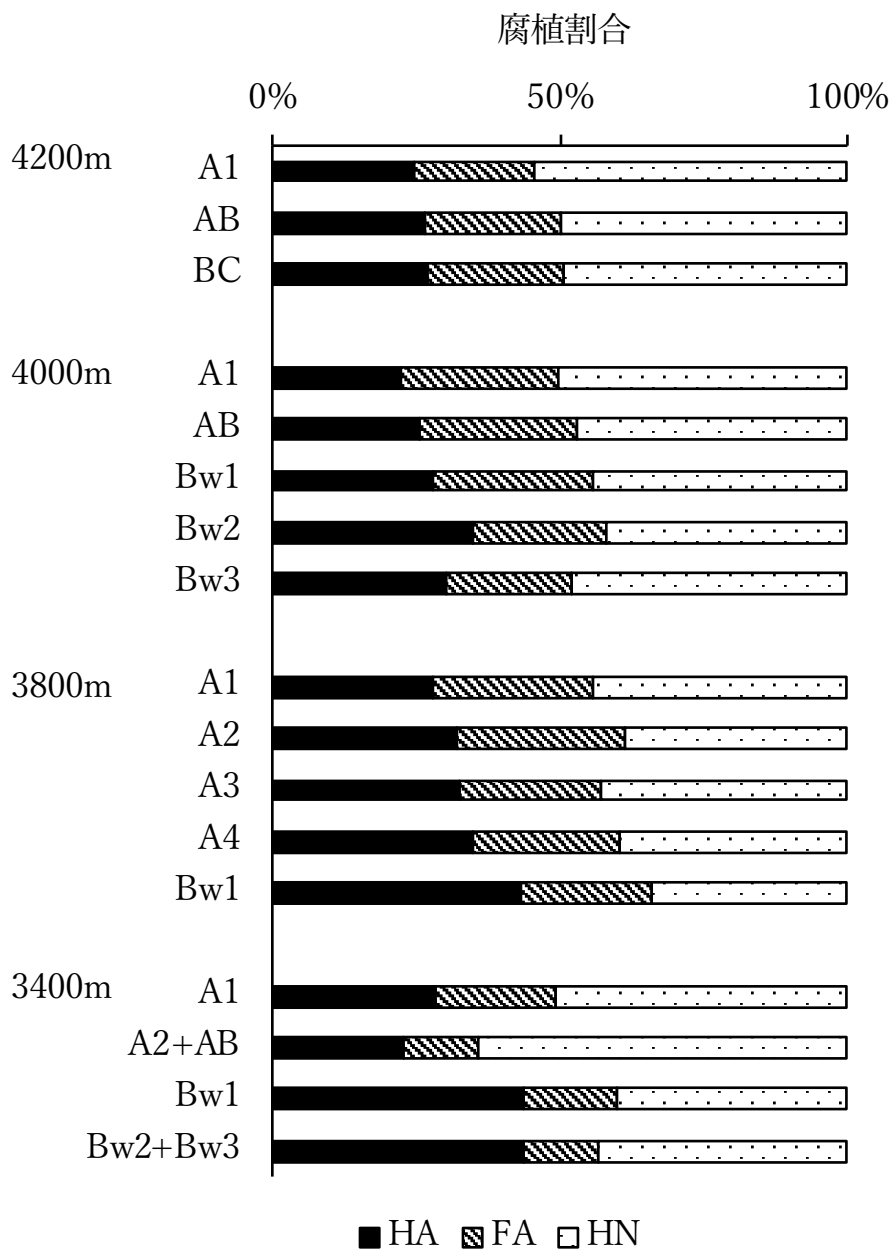


図3-1.a 青海・チベット高原高山草地土壌のCl-OH法による腐植組成

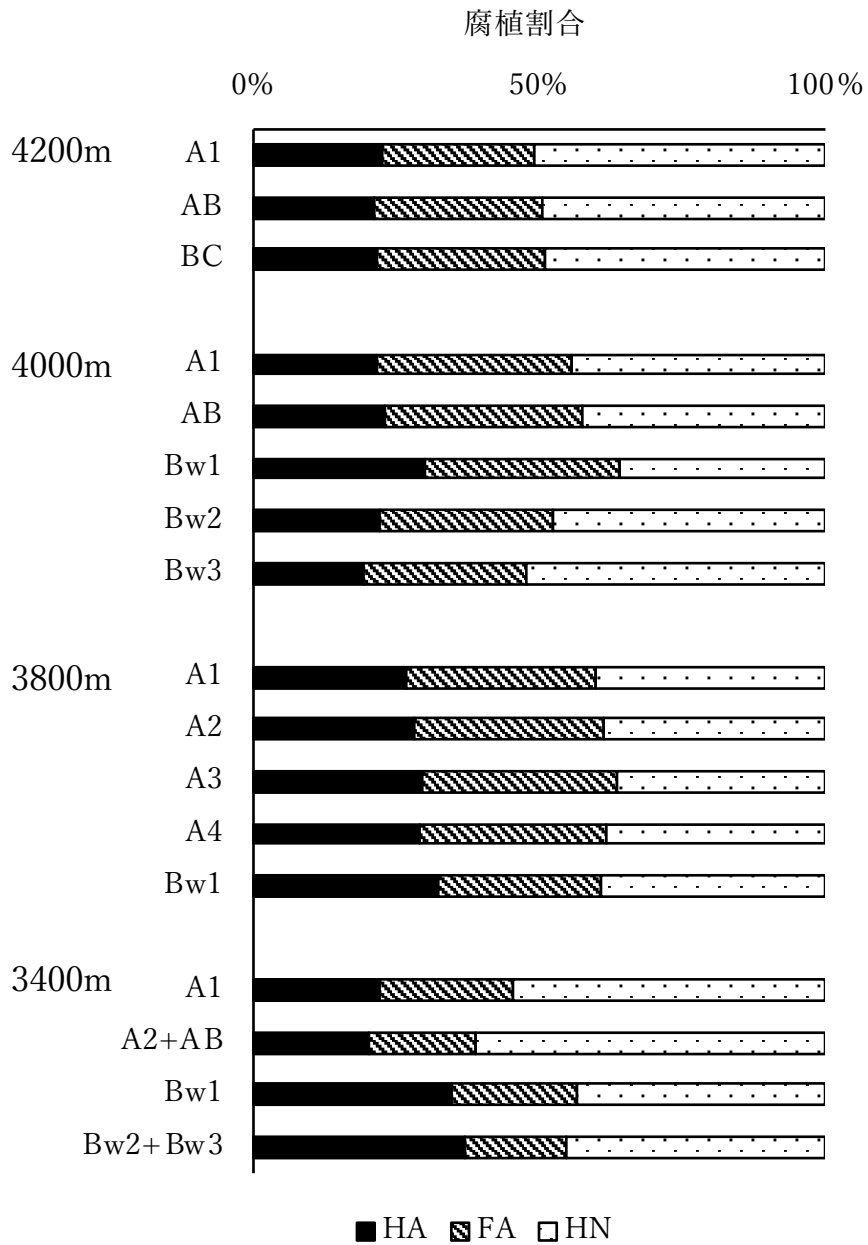


図3-1.b 青海・チベット高原高山草地土壌のOH-PP法による腐植組成

表3-2 青海・チベット高原高山草地土壌の腐植酸の光学的性質と腐植酸型

Location (Altitude)	Horizon	Cl-OH			OH-PP					
		$\Delta \log K_{Cl}$	A_{600}/C_{Cl}	Type _{Cl}	$\Delta \log K_{OH}$	A_{600}/C_{OH}	Type _{OH}	$\Delta \log K_{PP}$	A_{600}/C_{PP}	Type _{PP}
4200 m	A1	0.751	3.0	B	0.816	2.4	Rp	0.591	5.4	A
	AB	0.705	3.4	B	0.800	2.6	B	0.567	5.9	A
	BC	0.645	3.7	B	0.794	2.3	Rp	0.519	7.1	A
4000 m	A1	0.748	3.3	B	0.825	2.4	Rp	0.589	4.0	B
	AB	0.688	3.6	B	0.793	2.5	B	0.558	5.0	A
	B1	0.677	3.5	B	0.780	1.9	Rp	0.535	5.6	A
	B2	0.559	6.1	A	0.672	4.0	B	0.483	10.4	A
	B3	0.535	7.0	A	0.659	4.1	B	0.485	10.3	A
3800 m	A1	0.721	3.7	B	0.791	2.8	B	0.569	4.8	B
	A2	0.680	4.1	B	0.761	3.1	B	0.536	6.1	A
	A3	0.643	4.4	B	0.740	3.3	B	0.517	8.5	A
	A4	0.612	5.1	A	0.723	3.4	B	0.493	10.1	A
	B1	0.519	8.2	A	0.623	5.5	A	0.452	13.3	A
3400 m	A1	0.683	4.6	B	0.733	3.4	B	0.542	7.2	A
	A2+AB	0.565	7.0	A	0.670	3.9	B	0.492	9.7	A
	Bw1	0.537	8.0	A	0.631	4.9	B	0.473	11.4	A
	Bw2+Bw3	0.522	9.3	A	0.638	4.7	B	0.477	11.0	A

$\Delta \log K$: $\log A_{400} - \log A_{600}$, A400とA600は400 nmと600 nm における HA の吸光度；
 A_{600}/C : Cは腐植酸溶液の有機炭素量

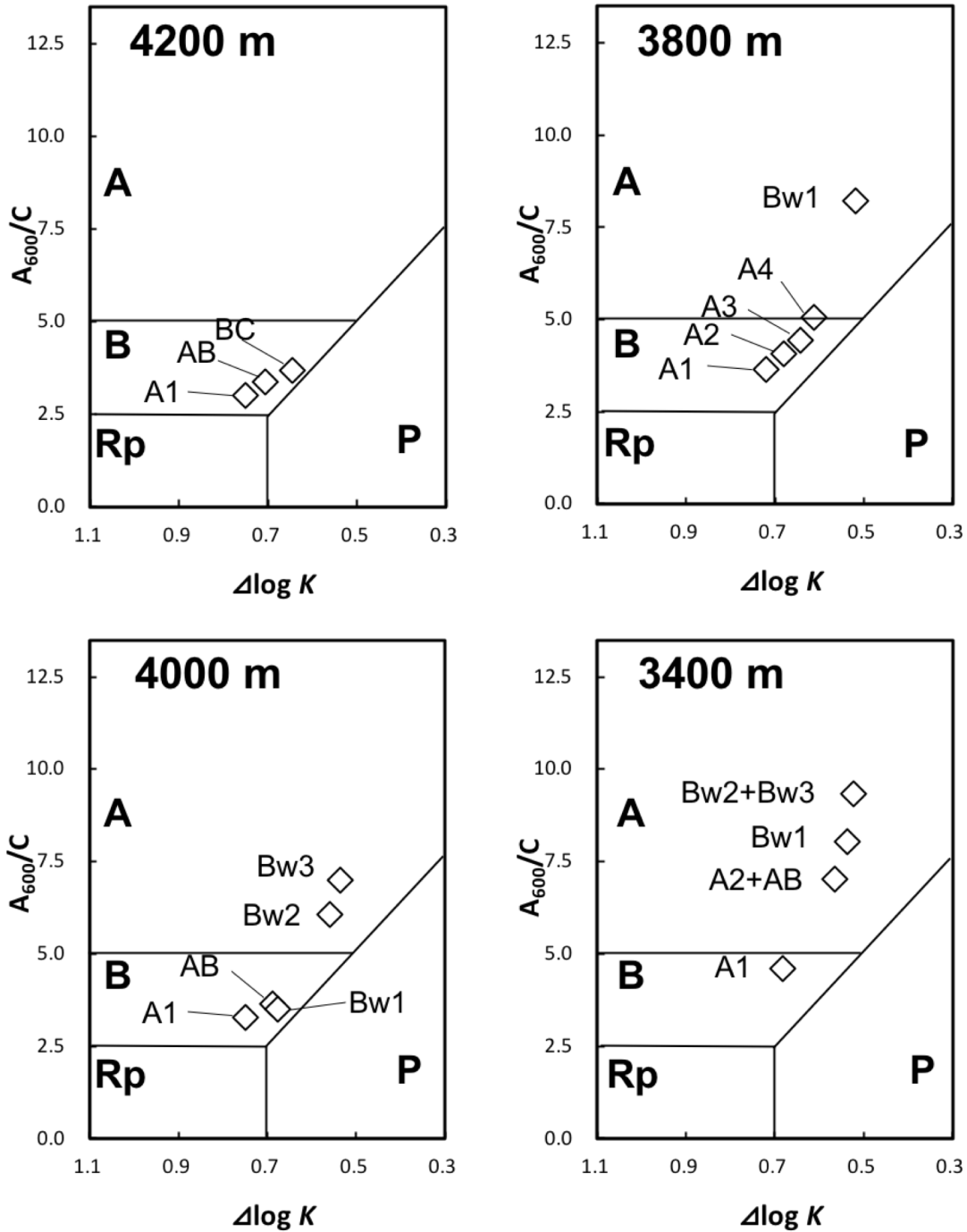


図3-2.a 青海・チベット高原高山草地土壌のCl-OH法による腐植酸型の変化

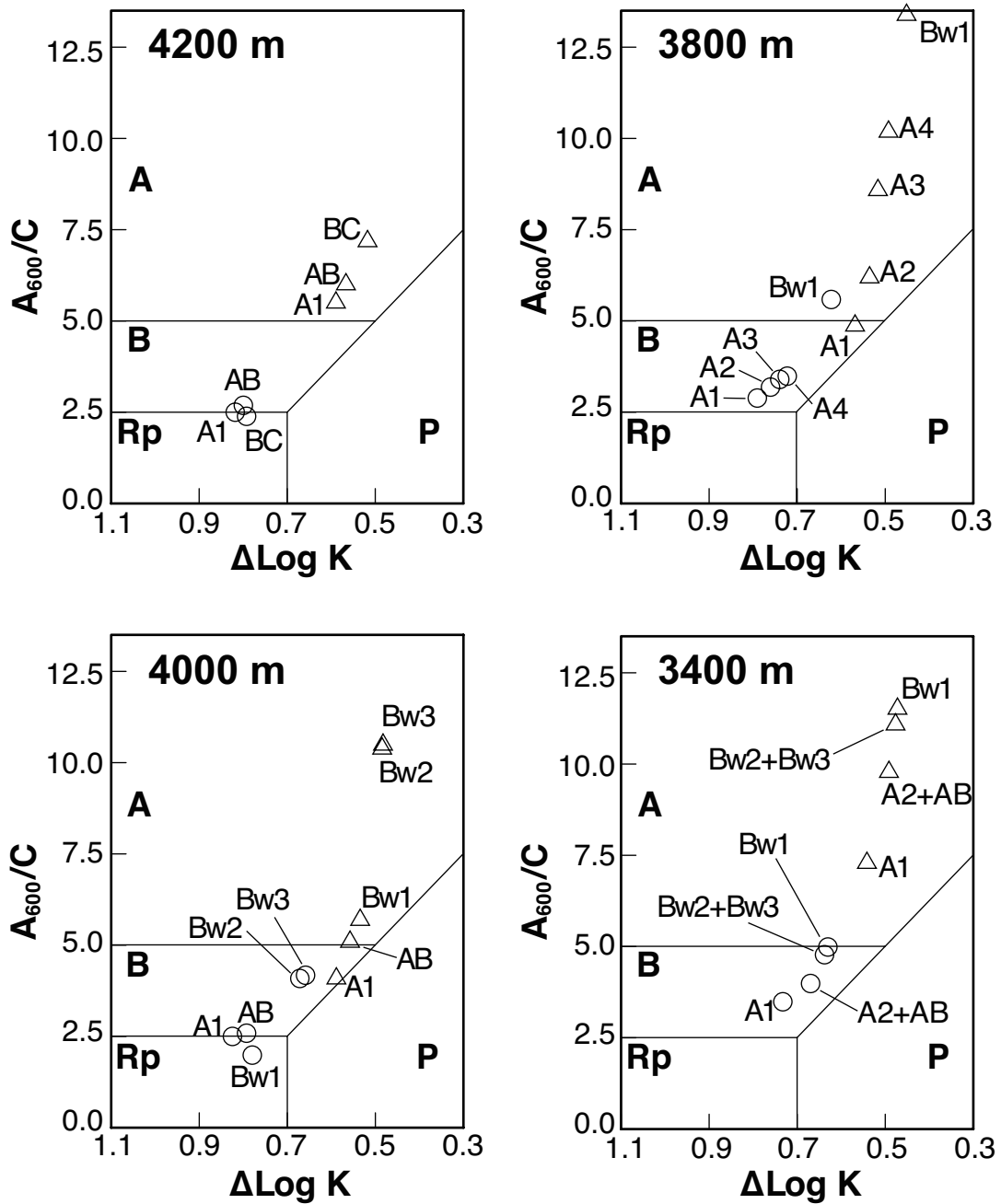


図3-2.b 青海・チベット高原高山草地土壤の
OH-PP法による腐植酸型の変化

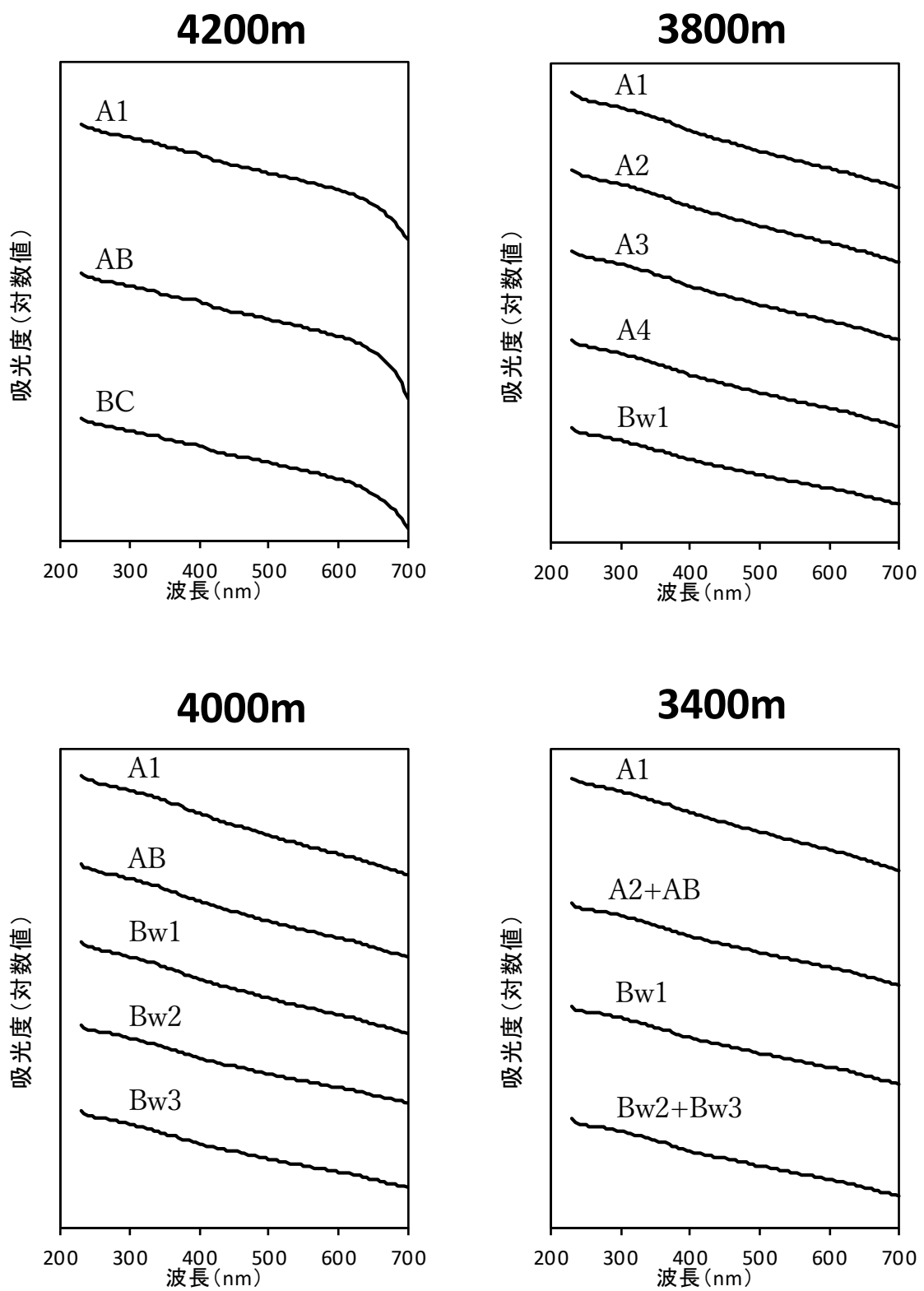


図3-3.a 青海・チベット高原高山草地土壌のCl-OH法による抽出腐植酸の吸光スペクトル

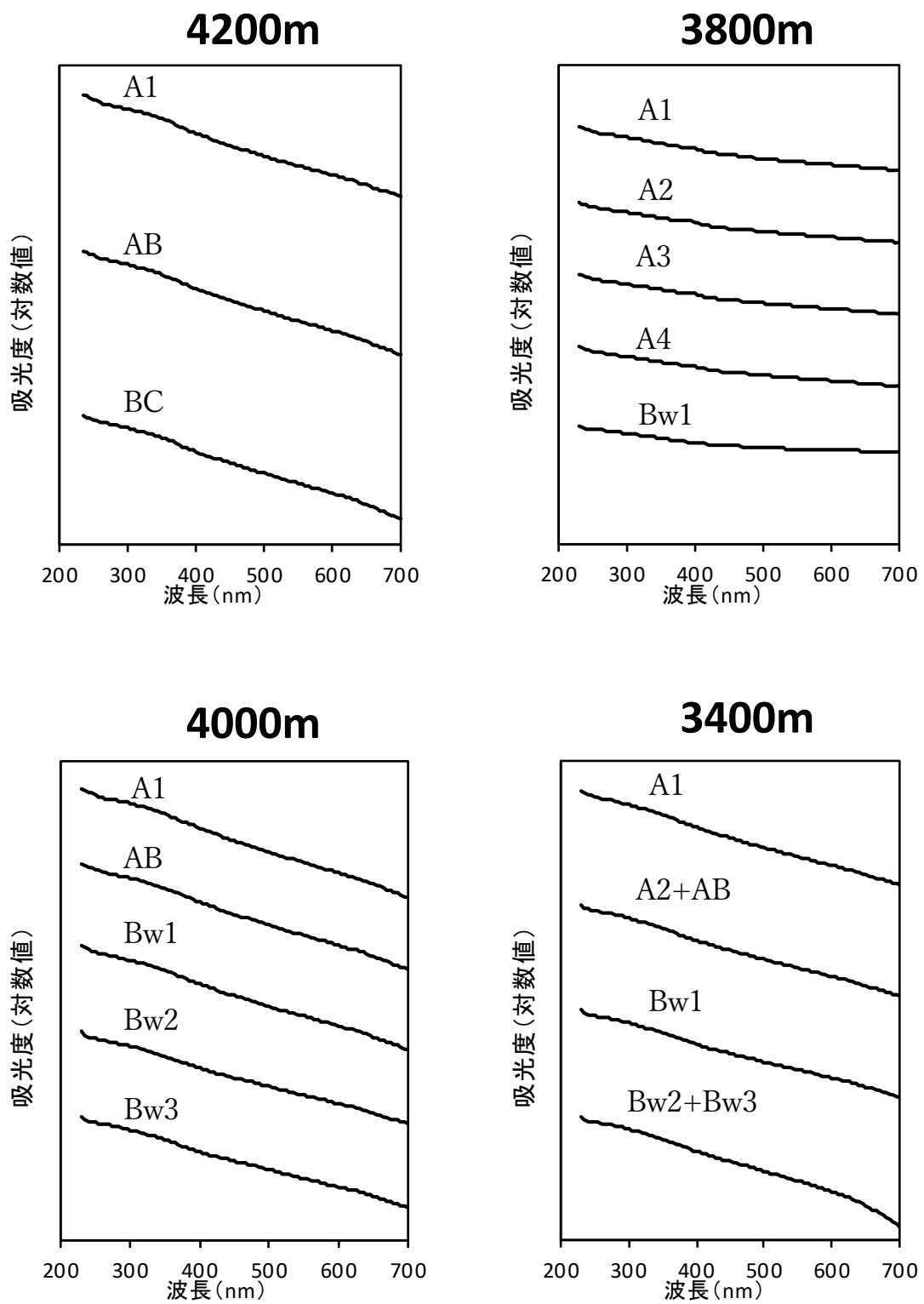


図3-3.b 青海・チベット高原高山草地土壤のOH-PP法によるNaOH抽出腐植酸の吸光スペクトル

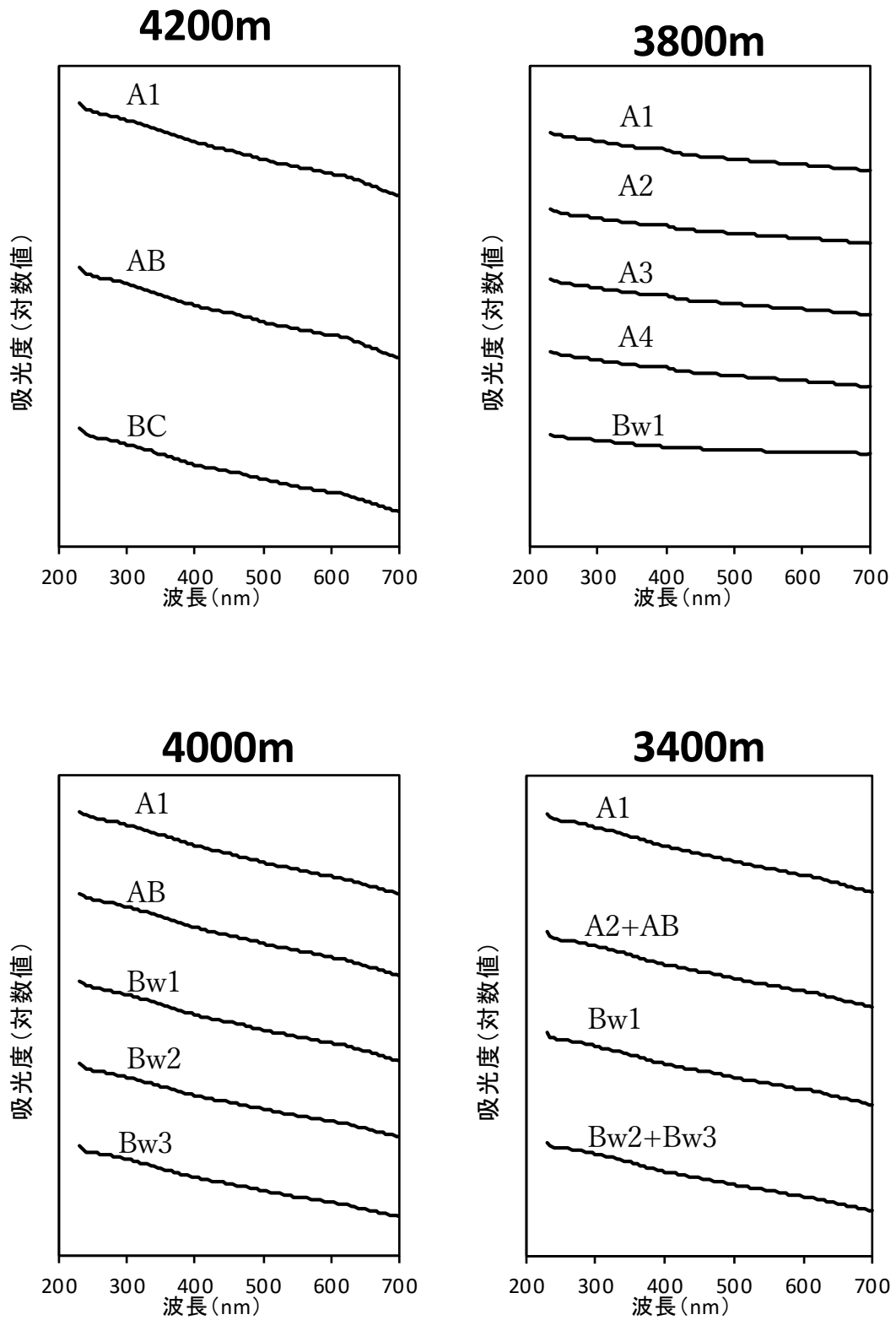


図3-3.c 青海・チベット高原高山草地土壌のOH-PP法による $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 抽出腐植酸の吸光スペクトル

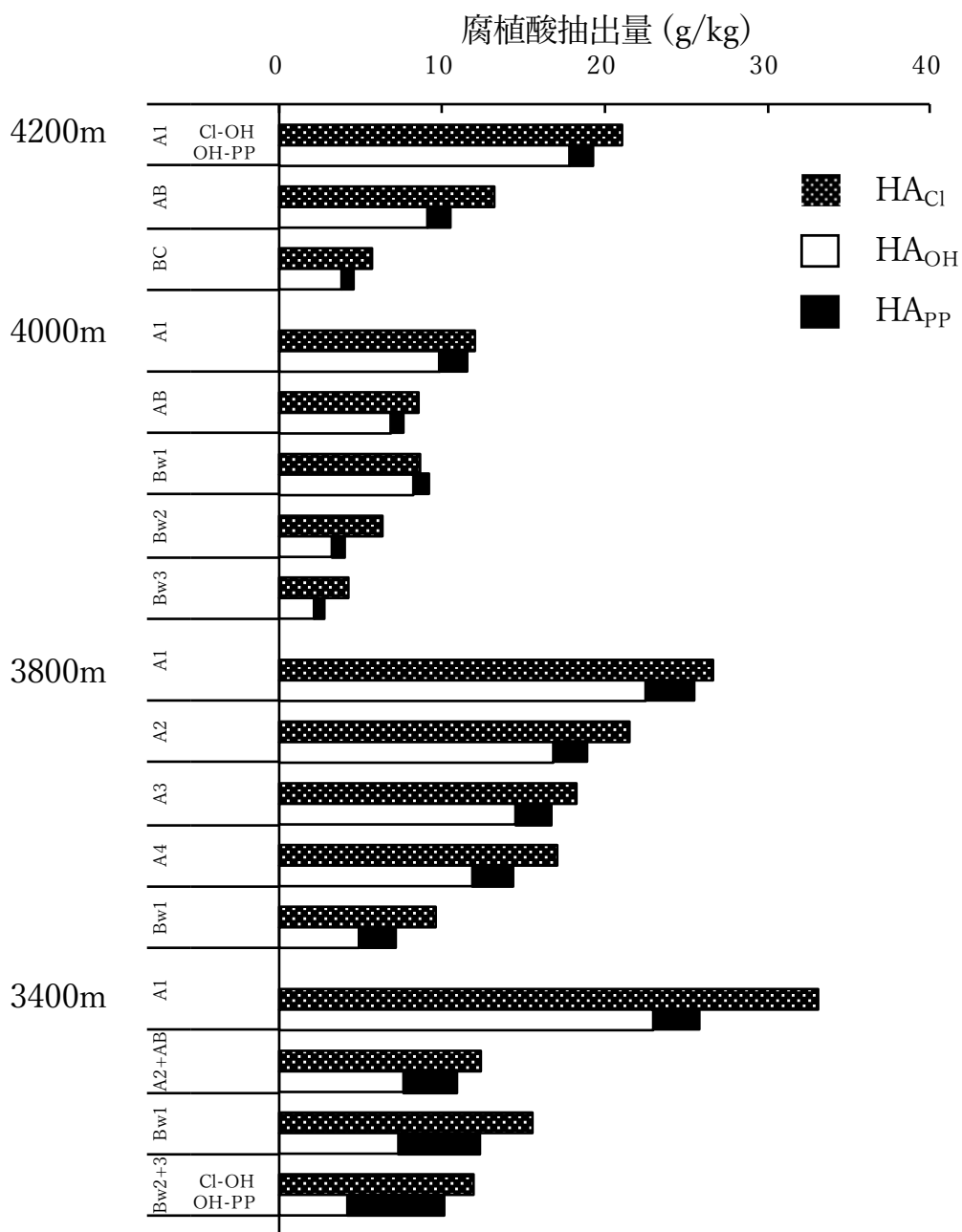


図3-4 青海・チベット高原高山草地土壤の各方法による腐植酸抽出量

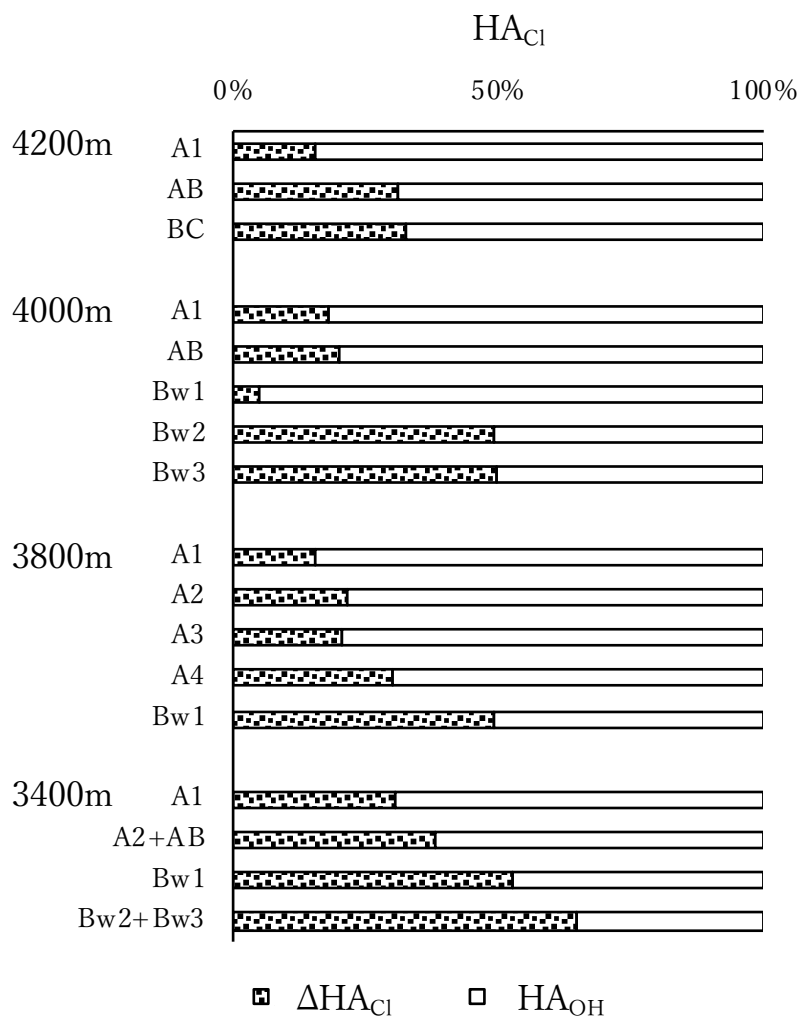


図3-5 Cl-OH法による HA_{Cl} に対する結合型HAの割合

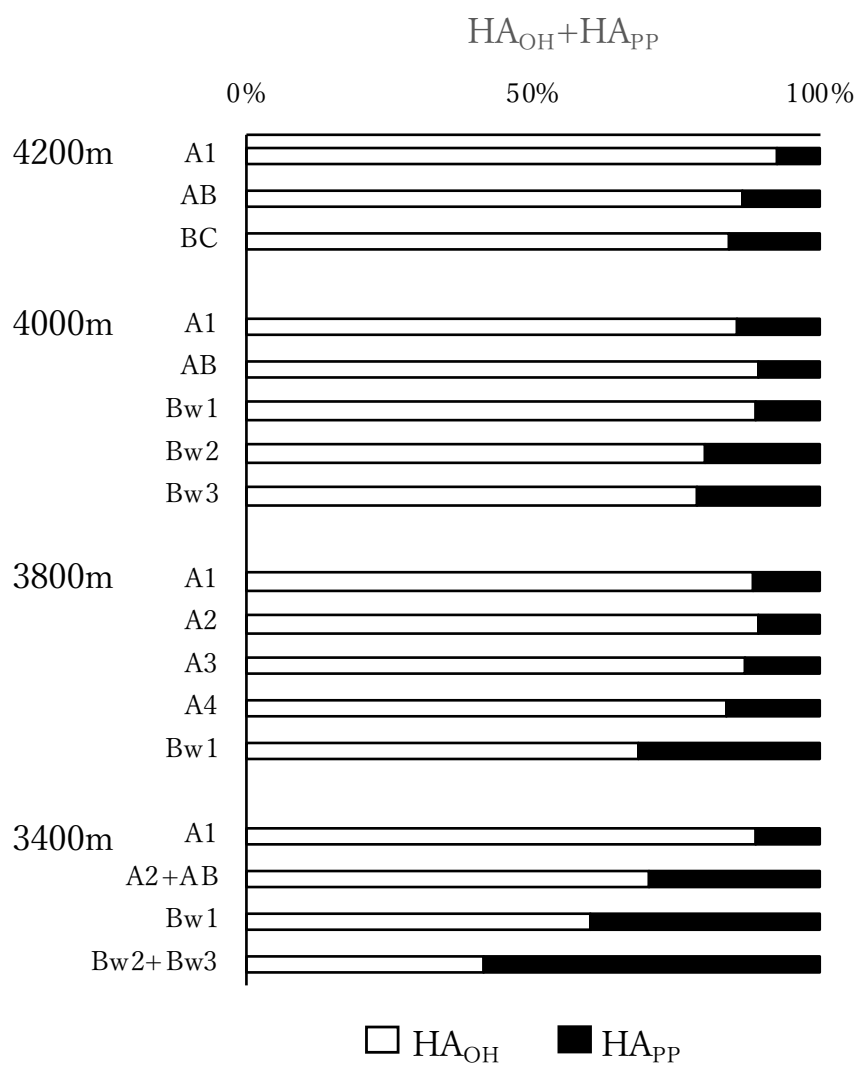


図3-6 OH-PP法による全抽出HAに対する結合型HAの割合

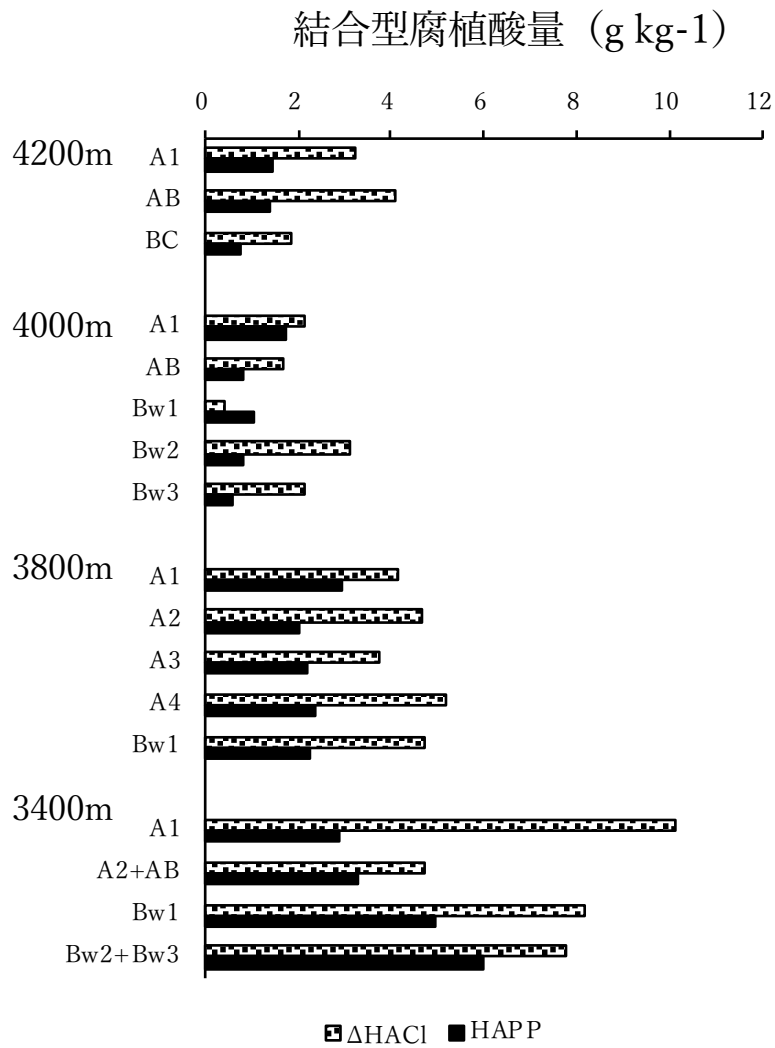


図3-7 青海・チベット高原高山草地土壌の結合形態別腐植酸量の比較

第4章 青海・チベット高原祁連山脈の高山草地土壌における腐植酸の化学構造特性解析

4-1 はじめに

腐植酸は土壌有機物 (SOM) の性質を最もよく反映する画分であることが知られている (Stevenson, 1994)。腐植酸の特性を知る手法は数多くあるが、第3章では腐植形態分析による光学的特性を検討した結果について述べた。しかし、光学的特性を知るだけでは十分な質的情報が得られたとは言えない。そこで、本章では ^{13}C NMR 分析法による化学構造特性解析の結果を加えることで、青海・チベット高原の SOM の特性についてさらなる詳細な情報を得ることを試みた。

^{13}C NMR 分光法は、腐植酸をはじめとする SOM の化学構造特性を評価するための最も有効なツールとして利用されてきた (Conte *et al.*, 1997; Kögel-Knabner, 1997)。得られた分析結果は、有機・無機物と腐植物質との相互作用の理解 (Ginwalla and Mikita, 1992; Hatcher *et al.*, 1993; Tatsumi *et al.*, 1994; Shin *et al.*, 1996) や土壌有機炭素の代謝回転の評価 (Zech and Guggenberger, 1996) に役立てられてきた。加えて、Tate *et al.* (1990) は CPMAS ^{13}C NMR を用いて様々な土壌腐植酸の各種官能基炭素組成を調べ、腐植形態分析における相対色度の増大に伴う Aryl-C 割合の増大と、Alkyl-C 割合の減少を報告している。更に、その後のいくつかの研究結果からも同様の傾向が示されている (Maie *et al.*, 2002; Ikeya *et al.*, 2004; Watanabe and Takada, 2006; Katsumi *et al.*, 2015)。したがって、 ^{13}C NMR 分析による化学構造特性の解析は光学的性質から得られた結果を裏付ける上で重要な情報源になると考え、本章の研究を実施した。

なお本章では、青海・チベット高原土壌の腐植酸の化学構造特性を比較解析するために、同じ中華人民共和国の草地土壌である内モンゴル自治区の栗色土の腐植酸試料を分離・精製し、分析した。また、考察に際しては神戸大学大学院農学研究科土壌学研究室保有の分析データも利用した。

4-2 試料および方法

4-2-1 土壌試料

青海・チベット高原の土壌試料には第2章(2-2-3)で調製した風乾細微土を用いた。

また、それらと比較するために、中国科学院植物研究所の協力を得て中華人民共和国・内モンゴル自治区の栗色土 A 層試料 9 点を用いた。この土壌採取地の概略を図 4-1 に示した。

内モンゴル自治区の草地土壌は、錫林浩特市付近の典型的な灌木化草原地 (43.93° N, 116.20° E; 1208m) において、2015 年 8 月に採取した。灌木の無い一般草地から対照区 (CK) として 1 点、灌木化した草地における草本直下の土壌 (G 区: 2G, 4G, 9G, 10G) と灌木直下の土壌 (S 区: 2S, 4S, 9S, 10S) からそれぞれ 4 点を選び、それぞれの地点から表層土 (0~10cm) を 9 試料採取した。なお、S 区において灌木の被植率はそれぞれ 3.13%, 8.54%, 20.82%, 23.14%であった。土壌型は栗色土で、WRB 命名分類法における Kastanozem (WRB, 2014) に相当する。この地域は温帯半乾燥の大陸性気候に属し、年平均気温は 1.76°C である。年降水量は 293.56 mm で主に 6~8 月に集中している。植生は *Stipa grandis*, *Aneurolepidium chinense*, *Artemisia*

ordosica を主とし、*Caragana microphylla* Lam が優先している。

4-2-2 腐植酸の抽出および精製

4-2-2-1 青海・チベット高原土壌の腐植酸

青海・チベット高原土壌の腐植酸の抽出および精製は、2章で述べた OH-PP 法 (NaOH と $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 溶液による逐次抽出法) を参考にしておこなった。すなわち、炭素含量 1 g 相当の風乾細微土に対して 0.5% 水酸化ナトリウム (NaOH) 溶液を 300 mL の割合で加え、 N_2 ガスで爆気した後、一晚振とうした。その後、10000 rpm で 20 分間遠心分離し、上澄みを乾燥ろ紙 (No.6) でろ過した。土壌残渣に同量の 0.5% NaOH 溶液を再び加えて同様の操作を行った。NaOH 抽出で得られた 2 回の抽出液を足し合わせた。残渣には、同量の 0.1M ピロリン酸ナトリウム ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) 溶液を再度加えて同様の操作を 2 回繰り返した。 $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 抽出で得られた 2 回の溶液を足し合わせた。NaOH および $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 抽出液にそれぞれ 6M HCl を加えて振り混ぜ、pH 1.0 以下になったことを確認後、一晚静置した。その後、それぞれ 10000 rpm で 20 分間遠心分離し、上澄み液 (フルボ酸画分) は廃棄し、沈殿部 (腐植酸画分) を得た。次いで粘土除去操作を行った。それぞれの沈殿に、蒸留水 50mL を加え、振とう機で 1 時間振とうして沈殿物 (腐植酸) を分散させた。その後、0.2M 水酸化カリウム (KOH) 溶液を、腐植酸溶液が pH 12 以上になるまでに加え、完全に溶解したことを目視で確認した。この溶解液に KCl 粉末を最終濃度が 0.3M になるように加え、窒素置換後に振とう機で 1 時間振とうした。その後、10000 rpm で 20 分間遠心分離し、上澄み液を窒素置換後に冷暗所で一晚静置した。この操作を 3 回繰り返し、沈殿部 (粘土などの不純物) は廃棄した。最終的に得られた上澄み液に 6M HCl 溶液を徐々に加え、pH 1.0 以下に酸性化

し、一晚静置した。10000 rpm で 20 分間遠心分離し、上澄み液は廃棄して沈殿部（腐植酸画分）を得た。続いて灰分除去操作を行った。沈殿物に 0.1M HCl : 0.3M HF (1 : 1) の混液を加えて室温で 10~12 時間振とうし、遠心分離して上澄み液を廃棄して沈殿物を得た。この操作を 3 回繰り返した。最後に、HF を除去するために 0.05M HCl を加えて懸濁し、10000 rpm で 20 分間遠心分離して沈殿物を集め、沈殿物に脱イオン水 50 mL を加えて懸濁し、懸濁液を透析チューブ（MWCO 3500Da, CE Membrane SPECTRUM Medical Industries 社製）に移し、脱イオン水で透析した。脱イオン水は毎日 2~3 回の頻度で交換し、外部液の電気伝導率（EC）が 0.1 mS m^{-1} 以下になるまで行った。透析が終わった後の試料をポリ容器に移し、凍結乾燥を行った。得られた腐植酸の乾燥物をメノウ乳鉢で擦り潰して腐植酸粉末試料を得た。

4-2-2-2 内モンゴル自治区草地土壤の腐植酸

各土壤の腐植酸の抽出および精製は、腐植物質学会（IHSS）法（Swift 1996）に準じた。すなわち、風乾細微土 50 g に 1M と 0.1M 塩酸（HCl）溶液をそれぞれ 50mL と 450mL（合計で土壤試料の 10 倍の割合）加え、1 時間振とうした。その後、10000 rpm で 20 分間遠心分離し、沈殿に塩酸添加時と同量の 1M と 0.1M NaOH 溶液を加え、 N_2 ガスで爆気した後、一晚振とうした。その後、10000 rpm で 20 分間遠心分離し、沈殿部（粘土などの不純物）は廃棄した。最終的に得られた上澄み液に 6M HCl 溶液を徐々に加え、pH 1.0 以下に酸性化し、一晚静置した。10000 rpm で 20 分間遠心分離し、上澄み液は廃棄して沈殿部（腐植酸画分）を得た。続いて 2-2-1 と同様の手順で灰分除去操作、透析、凍結乾燥を行い、得られた腐植酸の乾燥物をメノウ乳鉢で擦り潰して腐植酸粉末試料を得た。

4-2-3 ^{13}C NMR スペクトル分析

各腐植酸粉末試料約 40 mg を No. 4 マイティーバイアルに取り，重水（重水素化率 99.96%，Aldrich）150 μL を加えて試料を分散させた。その後，10M NaOD（重水化率 99.9%，CEA フランス原子力庁）溶液 10 μL を加えて試料を溶解させ，内部標準液として 2.5%重水素化トリメチル-3-プロピオン酸ナトリウム(TMS3PNa, 重水化率 98%，CEA フランス原子力庁) 重水溶液 10 μL を加え，一晩静置した。完全に溶解した後，少量の重水を用いながらこの試料溶液を 5 mm 径の NMR 底上げ試料管（BMS-005B, SHIGEMI）に移し，NMR 管内の全量が約 250 μL になるようにした。NMR 管の表面をアセトンで拭いた後，NMR 分光装置により（Bruker AVANCE K500, Bruker 社），逆ゲート付きデカップリング法で ^{13}C -NMR 分析を行った。測定条件は以下の通りである。

観測周波数：125.77 MHz

データ取得時間：0.839 秒

遅延時間：2.5 秒

パルス幅：45° パルス

積算回数：14000~20000 回

ライブロードニング：70 Hz

4-3 結果

4-3-1 青海・チベット高原における腐植酸の ^{13}C NMR 分析

4200m 土壌 1 点（A1 層），3800m 土壌 2 点（A1 と Bw1 層）および 3400m 土壌 4

点 (A1, A2+AB, Bw1 と Bw2+Bw3) の合計 7 点の土壌から OH-PP 法で得た 14 の腐植酸を ^{13}C NMR 分析に供した。図 4-2 および 4-3 に NaOH 抽出腐植酸 (HA_{OH}) および $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 抽出腐植酸 (HA_{PP}) の ^{13}C NMR スペクトルをそれぞれ示した。一般に、土壌腐植酸の顕著なシグナルとしては、飽和の脂肪族性炭素 (Alkyl-C ; 30 ppm 付近), メトキシ基や糖, アルコールなどの酸素に結合した炭素 (O-Alkyl-C ; 55 ppm, 75 ppm と 105 ppm 付近), 脂肪族鎖に結合した芳香族性炭素や縮合環の芳香族性炭素 (Aryl-C ; 130 ppm 付近), フェノールの水酸基に直結した芳香族性炭素 (O-Aryl-C ; 150 ppm), カルボキシ基炭素 (Carboxyl-C ; 180 ppm), カルボニル基炭素 (Carbonyl-C ; 200 ppm) にそれぞれ帰属されたシグナルが観察される (Preston and Blackwell, 1985; Steelink *et al.*, 1989; Fujitake and Kawahigashi, 1999)。図 4-2 および 4-3 のスペクトル形状を見ると、いずれの腐植酸試料のスペクトルでも上述のようなシグナルピークが観測されたが、それぞれのピーク強度比は試料によって異なった。図上では比較のため、Carboxyl-C のシグナルピークの高さを揃えてスペクトルを描いた。 HA_{OH} (図 4-2) と HA_{PP} (図 4-3) のいずれにおいても、標高が低く、また層位が深くなるにつれて Aryl-C のシグナルピークが大きくなり、Alkyl-C のシグナルピークが小さくなる傾向が認められた。また、 HA_{OH} に比べて HA_{PP} では Aryl-C のシグナルピークが相対的に大きく、Alkyl-C が小さかった。ただし、4200m および 4000m の A1 層の HA_{PP} については脂肪族性炭素のシグナルピークが HA_{OH} のそれよりかなり大きかった。加えて、Aryl-C の領域のシグナルピークが顕著になるほど、あるいは Aromaticity が高いほど、ピーク形状は波状でやや歪んだ台形型からブロードな矢尻の先のような形状へと変化することが観察された。

一方、スペクトル形状で見られた傾向を定量的に捉えるため、表 4-1 に示したように帰属領域ごとの積分値から各官能基炭素種の割合を算出した (Preston and Blackwell,

1985; Steelink *et al.*, 1989; Fujitake and Kawahigashi, 1999). すなわち, 5~48 ppm は Alkyl-C, 48~110 ppm は O-Alkyl-C, 110~145 ppm は Aryl-C, 145~165 ppm は O-Aryl-C, 165~190 ppm は Carboxyl-C, 190~220 ppm は Carbonyl-C として, 6つの領域にそれぞれ帰属して算出した. また, Alkyl-C+O-Alkyl-C+Aryl-C+ O-Aryl-C (5~165 ppm) 割合の総和に対する Aryl-C+ O-Aryl-C (110~165 ppm) 割合の比から, 芳香族度 (Aromaticity) を算出した (Hatcher *et al.*, 1981). HA_{OH} の Alkyl-C 割合は 22.4~25.3%, O-Alkyl-C 割合は 20.5~29.4%, Aryl-C 割合は 22.6~32.0%, O-Aryl-C 割合は 5.6~7.9%, Carboxyl-C 割合は 12.6~15.5%, および Carbonyl-C 割合は 1.4~3.0% の範囲を示し, Aryl-C 割合が最も高い割合を示した. また, Aromaticity は 0.37~0.46 の範囲であり, 概して標高が下がると共に, また, 表層から下層にかけて層位が深まると共に値が増大する傾向が認められた. HA_{PP} の Alkyl-C 割合は 20.4~28.5%, O-Alkyl-C 割合は 18.0~29.3%, Aryl-C 割合は 22.6~43.3%, O-Aryl-C 割合は 3.5~7.9%, Carboxyl-C 割合は 11.2~15.2%, および Carbonyl-C 割合は 0.7~4.4% の範囲を示し, Aryl-C 割合が HA_{OH} のそれよりも高かった. また, Aromaticity は 0.39~0.55 の範囲であり, HA_{OH} と同様の傾向が認められた.

4-3-2 内モンゴル草地土壌における腐植酸の ¹³C NMR 分析

草地土壌 1 点 (CK), 灌木草地土壌の G 区 4 点 (2G, 4G, 9G, 10G) および S 区 4 点 (2S, 4S, 9S, 10S) の合計 9 地点の土壌から IHSS 法で得られた腐植酸の ¹³C NMR スペクトルを図 4-4 に示した. いずれの腐植酸のスペクトルにおいても顕著な Alkyl-C のシグナルピークが観察された. また, これらの ¹³C NMR スペクトルから算出した各官能基炭素種の割合 (表 4-2) を見ると, CK 区 (草地) と G 区 (灌木草地の草本植生

直下) では, Alkyl-C 割合は 21.8~25.6%, O-Alkyl 割合は 23.50~30.6%, Aryl-C 割合は 23.0~26.8%, O-Aryl-C 割合は 6.3~7.1%, Carboxyl-C 割合は 14.9~15.7%, および Carbonyl-C 割合は 1.8~3.2%の範囲を示し, G 区ではいずれの腐植酸についても O-Alkyl-C 割合が最も高かった. また, Aromaticity は 0.37~0.40 の範囲であった. S 区(灌木直下) の Alkyl-C 割合は 23.6~28.1%, O-Alkyl 割合は 22.9~28.1%, Aryl-C 割合は 23.0~26.8%, O-Aryl-C 割合は 6.0~7.2%, Carboxyl-C 割合は 14.4~16.0%, および Carbonyl-C 割合は 1.9~3.0%の範囲を示し, Aromaticity は 0.35~0.39 の範囲であった. S 区では Alkyl-C 割合が最も高い傾向を示し, G 区と比べて Aromaticity の値がやや低い傾向にあった. また, S 区だけで比較すると, 灌木被植率の上昇に伴い, Aryl-C 割合が増加する傾向が認められた. しかしながら, 総じて見ると CK 区, S 区, G 区の間でスペクトル形状や官能基 C 組成割合が著しく異なることはなかった.

青海・チベット高原と同じ草地土壌の CK 区と草本植生直下の G 区の 5 点の平均値 (Mean) を表 4-3 に, 図 4-5 に両者のスペクトルを示した. 内モンゴル草地土壌のスペクトルでは, 青海・チベット高原の A1 層で観察されたリグニンに由来する Aryl-C の領域の 120 ppm 付近のピークがほとんど観察されなかった. また, 青海・チベット高原に比べて Aryl-C 割合が高く, O-Alkyl-C 割合が低い傾向が認められた.

4-4 考 察

当地域の土壌は下層に至るまで一定の炭素量を有しており, 予想以上に炭素貯留量が多いことが指摘されている (Li *et al.*, 2010). 第 2 章表 2-3 に示した結果からもその

ことが伺える。また、第3章の光学的特性分析の結果からは、SOCが豊富で腐植化度の高い黒色腐植層をもつ黒ボク土やチェルノーゼムで観察されるようなA型腐植酸が得られている。これらの謎を解明するために青海・チベット高原の草地土壌腐植酸の化学構造解析を実施し、より低標高地（1208m）である内モンゴル自治区の草地土壌腐植酸のそれらとも比較した。

4-4-1 標高の異なる草地土壌の表層における腐植酸の化学構造特性の差異

はじめに、表層腐植酸における標高の違いと化学構造特性の関係について検討した。低標高地の内モンゴル草地の腐植酸を加えて標高別に見ると（図4-5）、高標高地のHA_{OH}では120ppmと57ppm付近のシグナルピークが明瞭に観察されたが、低標高地（内モンゴル自治区）ではそのピークが小さくなる傾向が見られた。また、標高の低下とともに腐植酸のAryl-C（100～150ppm付近）のピーク形状が波状でやや歪んだ台形型からブロードな矢尻の先のような形状へと変化する傾向が観察され、面積比が増大する傾向が認められた。これは、リグニンの分解に伴うMethoxyl-C（50～60ppm）の減少と、非リグニン性芳香族の構造の増加を示唆し（Zech *et al.*, 1997; Maie *et al.*, 2002; Ikeya *et al.*, 2004）、同時に縮合多環芳香族構造の増加を象徴している（渡邊と池谷, 2013）。高標高地では低温のために微生物活性が低く、植物遺体がそれほど分解・変質されずにリグニンが残存するが、標高の低下に伴う温度上昇が微生物分解を促進し、リグニンの分解・変質を進行させた結果であると考えられる。また、低標高地では高標高地に比べてAlkyl-Cのピークが顕著であった。低標高の内モンゴル自治区の草地は、低温である高標高地の青海・チベット高原に比べて地上バイオマスが相対的に多くなり、新鮮有機物の土壌への供給量がより多くなるために微生物バイオマス量が増加する。微

生物バイオマス量のより高い土壌では、土壌有機物のうちの炭水化物 (O-Alkyl-C) が優先かつ選択的に利用・分解され (Almendros and Dorado, 1999; Baldock *et al.*, 1992; Kalbitz *et al.*, 2003; Yanagi *et al.*, 2003), それによって微生物バイオマス量がさらに増加する. 微生物バイオマス量が増加すればおのずと微生物遺体に含まれる成分は土壌に多く供給されるが, そのうちの脂肪族性高分子は難分解性であるために土壌に残存しやすい (Zeliber *et al.*, 1988 ; Tegelaar *et al.* 1989 ; Baldock *et al.*, 1990). こうした結果, 低標高地で Alkyl-C のピークがより顕著となったと考えられる.

4-4-2 青海・チベット高原の表層と下層における腐植酸の化学構造特性の差異

次に, 青海・チベット高原の表層と下層における腐植酸の違いを見ると, 下層の腐植酸ほど Aryl-C 含量が高く Alkyl-C 含量の低いことが, 遊離型 HA_{OH} (図 4-2) と結合型 HA_{PP} (図 4-3) とを比べると, 結合型 HA_{PP} でより Aryl-C 含量が高く Alkyl-C 含量の低いことが示された. さらに, そうした特徴を示すスペクトルほど Aryl-C 領域 (100 ~150 ppm 付近) のブロードな矢尻の先のような形状のピークがより顕著となり, ピークが収斂されることが観察された. 藤嶽ら (2012) は各種土壌腐植酸の ¹³C NMR 分析の結果から, 腐植化度の進んだ A 型腐植酸を有する黒ボク土腐植酸はブロードな矢尻の先のようなピーク形状を特徴とすることを報告しており, 本研究の結果と一致している. 第 3 章の結果を参照すると, 下層の腐植酸は全て A 型腐植酸に属し, 結合型 HA_{PP} の中では 3800m 表層を除くと全て A 型である. すなわち, Aryl-C 含量が高く Alkyl-C 含量の低い腐植酸とここで特徴付けられたものはすべて A 型腐植酸であった.

また, 第 3 章 (3-4-3) で述べたように, A 型腐植酸は主に植生の燃焼によって生成された炭化物を起源とする説がほぼ定説となりつつある (藤嶽ら, 2012). 渡邊と池谷

(2013) は A 型腐植酸の分析結果から、それらが縮合多環芳香族構造に富むという特徴をもつことを報告した。さらにその中で、そうした構造的特徴は炭化物に由来する可能性が高く、風化によって微小化した炭化物（微粒炭）が無機成分との相互作用によって長期間土壌に安定に残存することで A 型腐植酸が生成されるという考えを報告している。ヒューミン画分における考察（3-4-1）でも微粒炭が SOM の貯蔵に寄与している可能性を述べたが、このように A 型腐植酸でも炭化物の影響が大いに考えられた。その一方で、Golchin *et al.* (1997) および Katsumi *et al.* (2016) は土壌の燃焼または加熱により、Aryl-C 含量が高く、Alkyl-C 含量の低い腐植酸が生成することを報告しており、微粒炭の変質でなくても土壌腐植酸が熱変性を受けることで A 型腐植酸ができる可能性はある。植生の燃焼は表層でおこり、燃焼による熱の伝導は表層下数センチレベルの範囲にしか影響を及ぼさないことを考えると、下層における A 型腐植酸の存在は数千年単位の過去の火災燃焼とレスの降下による封じ込みによることが考えられる。

4-4-3 内モンゴル自治区における腐植酸の特性に及ぼす微生物バイオマス量の影響

なお、本研究の本旨とは異なるが、内モンゴル自治区の試験区に関してのみ相互比較した（図 4-4）。この試験区の本来の目的は、草地から灌木草地への生態系移行によって変化する微生物バイオマス量と腐植酸の化学構造特性の変化を調べることで、土壌有機物の特性が微生物バイオマス量によってどのような影響を受けるかを検討することにある。木本植物下の土壌では微生物バイオマス量が高く（Liao *et al.*, 2008; Mazzarino *et al.*, 1991）、炭水化物やタンパク質はリグニンやポリフェノール、脂肪族性高分子より相対的に微生物分解されやすいことが知られている（Kögel-Knabner, 1993; Zech *et al.*, 1997）。この知見に基づけば、S 区における灌木の被植率の増加は微生物バイオマス

量の増加を意味し、それに伴う O-Alkyl-C の減少と、Alkyl-C の増大はそれらの報告と矛盾しない。すなわち、S 区における腐植酸の化学構造特性の違いは微生物バイオマス量による影響を顕著に受けた結果であると言える。

草本直下の G 区では 2G を除いて、いずれの O-Alkyl-C も S 区のそれより高く、いずれの Alkyl-C も S 区のそれより低いことが示された。前述のように微生物バイオマス量は木本植生のほうが草本植生よりも高いとされることから、G 区は S 区よりも微生物バイオマス量が低いと考えられる。したがって、G 区では炭水化物 (O-Alkyl-C) が S 区ほど分解されず、微生物由来の安定な脂肪族性高分子 (Alkyl-C) の生産量も S 区より少ない結果となったことを表している。これらの結果は、高標高帯から低標高帯にかけての微生物分解の増大により、O-Alkyl 含量は低くなり、Alkyl-C 含量は高くなる結果と矛盾しない。

4-5 まとめ

本章では、この地域の腐植酸の化学構造特性を把握するために新たに土壤から腐植酸試料を分離精製し、 ^{13}C NMR 分析に供した。また、比較のためにより低標高で同じ草地土壤である内モンゴル自治区の土壤腐植酸も同様に分離精製・分析し、以下の結果を得た。

- 1) 標高の異なる草地土壤の表層腐植酸の ^{13}C NMR スペクトルを比較し、高標高帯 (青海・チベット高原) の表層で見られる未熟な腐植酸は植物リグニン成分の残存を示し、低標高帯 (内モンゴル自治区) の未熟な腐植酸は微生物由来の脂肪族性高分子

成分の卓越の可能性を示した。これらの化学構造特性の違いは、標高差による温度の違いとそれによる地上バイオマス量、微生物バイオマス量、微生物活性の違いが影響を及ぼしたと考えられる。

- 2) 表層以外の青海・チベット高原の腐植酸は高い Aryl-C と低い Alkyl-C 含量、Aryl-C 領域（100～150 ppm 付近）のブロードな矢尻の先のような形状のピークの存在で特徴付けられ、同時にこれらは A 型腐植酸の特徴でもあることがわかった。
- 3) 内モンゴル自治区の S 区の腐植酸は微生物バイオマス量による影響を顕著に受けた結果、O-Alkyl 含量が低く、Alkyl-C 含量が高いことが分かった。

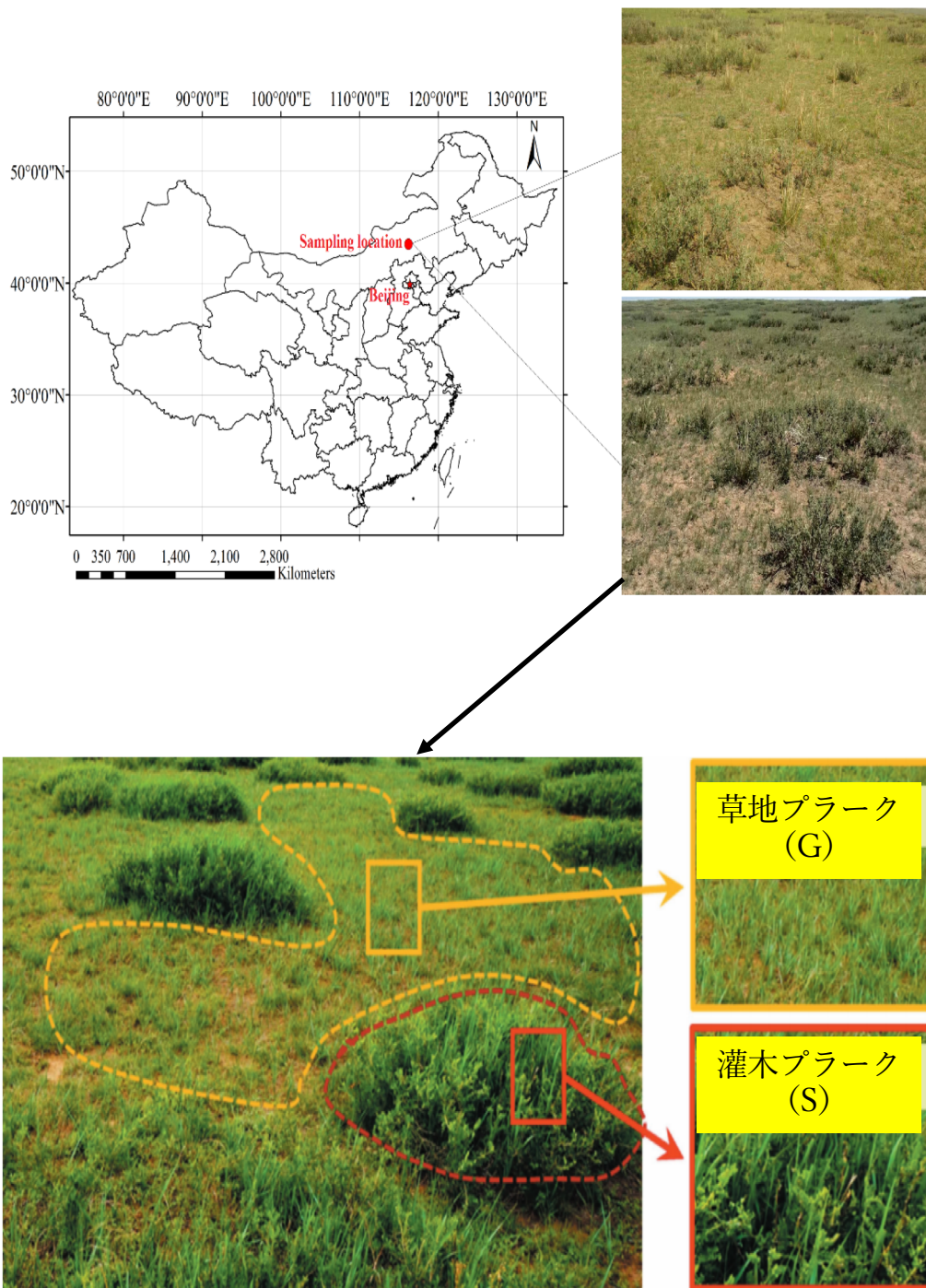


図4-1 内モンゴル自治区の調査地位置および土壌試料の採取地点
(出典：Chen *et al.*, 2015)

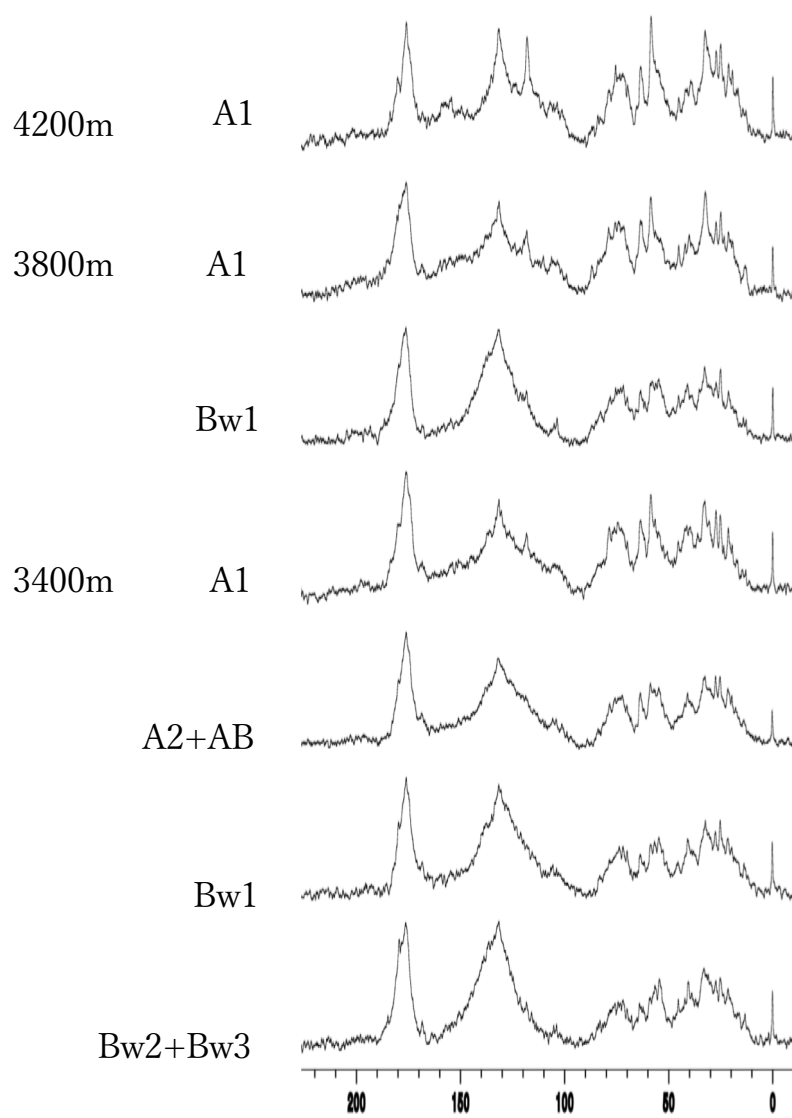


図4-2 青海・チベット高原高山草地土壌の
 HA_{OH} の ^{13}C NMR スペクトル

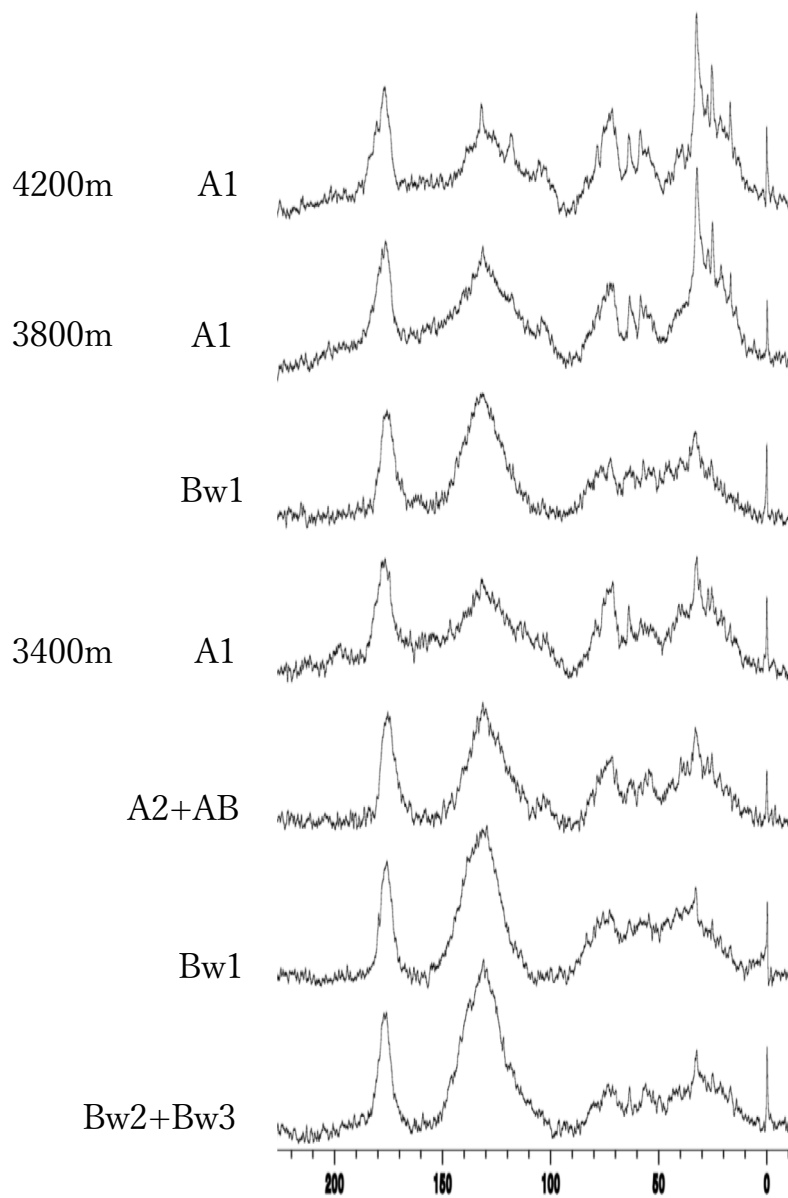


図4-3 青海・チベット高原高山草地土壌の
HA_{pp}の¹³C NMR スペクトル

表4-1 青海, チベット高原高山草地土壌の¹³C NMRスペクトルから算出した各腐植酸の炭素組成 (%)

OH-PP method	Location (Altitude)	Sample (HA- ¹³ C)	Carbonyl 220-190ppm	Carboxyl 190-165ppm	O-Aryl 165-145ppm	Aryl 145-110ppm	O-Alkyl 110-48ppm	Alkyl 48-5ppm	Aromaticity
HA_{OH}	4200m	A1	2.2	12.6	7.5	24.6	27.8	25.3	0.38
	3800m	A1	2.8	15.1	7.9	22.6	29.3	22.4	0.37
		Bw1	3.0	14.3	5.6	29.9	24.5	22.6	0.43
	3400m	A1	1.7	14.6	6.6	23.4	29.4	24.3	0.36
	A2+AB		2.1	15.4	6.4	28.1	24.0	24.0	0.42
		Bw1	1.4	14.7	5.9	32.0	22.3	23.6	0.45
	Bw2+Bw3		1.7	15.5	6.1	32.0	20.5	24.2	0.46
HA_{AP}	4200m	A1	2.8	15.1	7.9	22.6	29.3	22.4	0.37
	3800m	A1	3.3	13.7	7.5	24.9	22.1	28.5	0.39
		Bw1	1.7	13.8	5.2	33.7	23.6	22.1	0.46
	3400m	A1	4.4	15.2	7.8	24.3	24.4	23.9	0.40
	A2+AB		2.4	13.8	3.5	31.5	23.8	25.0	0.42
		Bw1	1.0	11.2	3.6	36.1	25.2	23.0	0.45
	Bw2+Bw3		0.7	13.0	4.5	43.3	18.0	20.4	0.55

Aromaticity : (110~165領域の割合の和) / (5~165領域の割合の和)

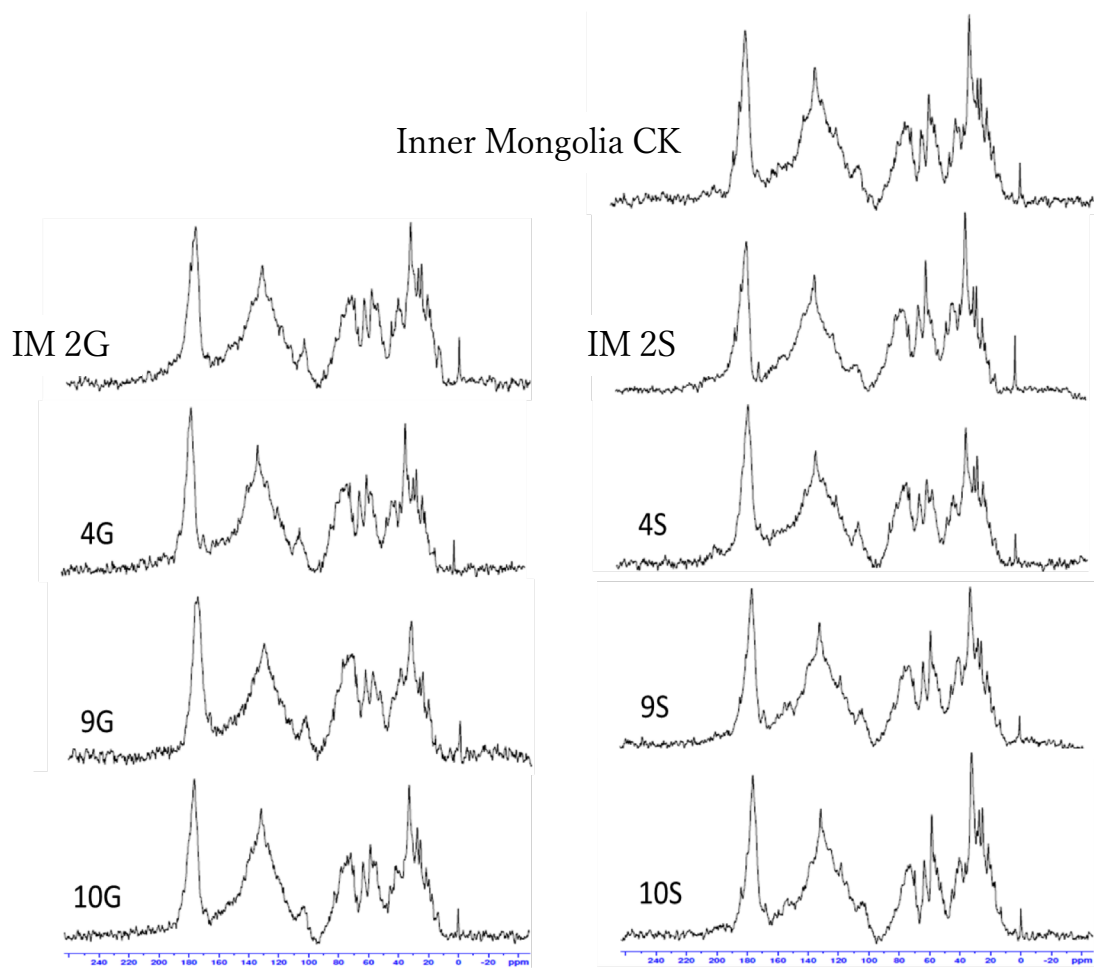


図4-4 内モンゴル自治区栗色土の腐植酸の¹³C NMR スペクトル

表4-2 内モンゴル自治区栗色土の¹³C NMRスペクトルから算出した各腐植酸の炭素組成 (%)

Sample (HA- ¹³ C)	Carbonyl 220-190ppm	Carboxyl 190-165ppm	O-Aryl 165-145ppm	Aryl 145-110ppm	O-Alkyl 110-48ppm	Alkyl 48-5ppm	Aromaticity
2S	2.9	14.5	6.3	23.0	28.1	25.2	0.35
4S	3.0	16.0	7.2	24.6	25.6	23.6	0.39
9S	2.2	14.4	6.7	24.9	26.4	25.4	0.38
10S	1.9	14.8	6.0	26.2	22.9	28.1	0.39
CK	1.9	14.9	6.3	26.8	23.5	26.6	0.40
2G	3.1	15.5	6.6	23.3	25.9	25.6	0.37
4G	3.2	14.9	6.6	25.4	27.3	22.6	0.39
9G	1.8	15.7	7.1	23.0	30.6	21.8	0.37
10G	2.3	15.4	6.6	26.4	25.0	24.4	0.40
Mean	2.5	15.3	6.6	24.9	26.5	24.2	0.39

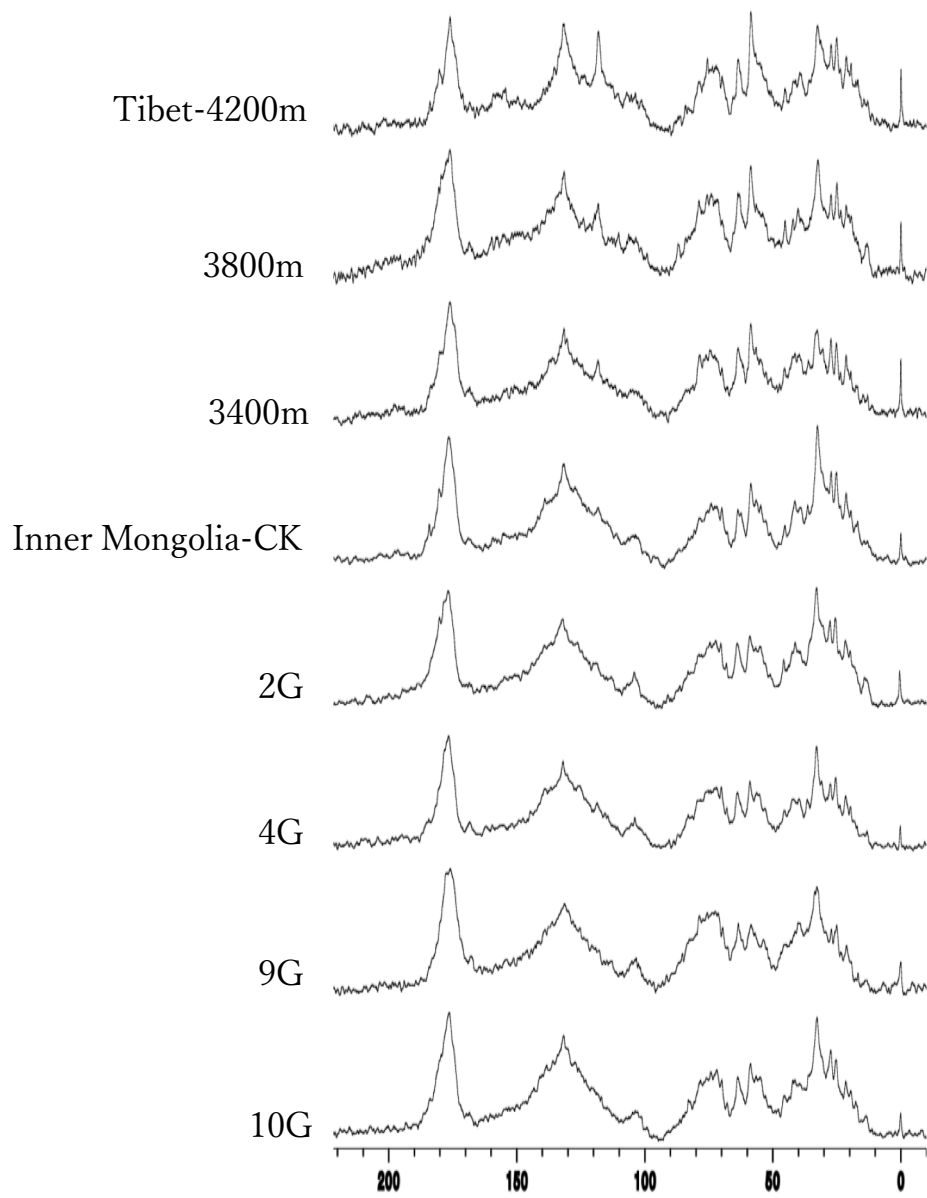


図4-5 標高の異なる草地土壌のA1層の ^{13}C NMR スペクトル

表4-3 標高の異なる草地土壌のA1層の¹³C NMRスペクトルから算出した各腐植酸の炭素組成の比較 (%)

Location (Altitude)	Sample (HA- ¹³ C)	Carbonyl 220-190ppm	Carboxyl 190-165ppm	O-Aryl 165-145ppm	Aryl 145-110ppm	O-Alkyl 110-48ppm	Alkyl 48-5ppm	Aromaticity
4200m	A1-HA _{off}	2.2	12.6	7.5	24.6	27.8	25.3	0.38
3800m	A1-HA _{off}	2.8	15.1	7.9	22.6	29.3	22.4	0.37
3400m	A1-HA _{off}	1.7	14.6	6.6	23.4	29.4	24.3	0.36
IM (低標高帯)	Mean	2.5	15.3	6.6	24.9	26.5	24.2	0.39

第5章 総合考察

本研究では、土壤有機物特性を知ることは青海・チベット高原における炭素貯留メカニズムを理解する上で重要であるという考えに立脚し、青海・チベット高原の主要な草地タイプである高山湿草地土壤の SOM の質的特性に着目して研究を行った。本章では腐植形態分析（第3章）と ^{13}C NMR 分析（第4章）の両面から得られた結果から、前半で本地域の SOM の特徴と安定性について考察し、後半では、燃焼生成物に由来する可能性の高い炭化物に目を向けて、本地域の SOM の生成機構について考察した。

5-1 青海・チベット高原における土壤有機物の特徴と安定性

本地域の全炭素量に占めるヒューミンの割合は概して 50%程度と3つの腐植画分の中で最も高かった。また、腐植酸は SOM 特性をよく反映する（筒木, 1991）。したがって、両者について考察することが本地域の SOM の特徴を知る上で最優先されるべきであると考えた。なお、フルボ酸の化学的性質については土壤間の相違性がわずかであるため（Iimura *et al.*, 2012）、ここでの議論を割愛した。

5-1-1 ヒューミンの特徴と安定性

本地域では、ヒューミンが3つの腐植画分中で最も多く、土壤炭素貯留量に深く関与することが明らかとなった。一般に、ヒューミンは粗大有機物や強固な有機・無機複合体で構成されていると考えられている（Rice, 2001）。しかし、この一般説では3章（3-4-1）で議論したように、本地域のヒューミンの主体は説明できない。つまり、こ

れまでの通説以外のヒューミンの主体を想定する必要がある。そこで、本地域のヒューミンの主体がマイクロ団粒の形成によって隔離封鎖された有機物、あるいは、不溶性の炭化物に由来するという2つの仮説を立案した。

はじめに、マイクロ団粒の形成によって隔離封鎖された有機物について考える。Asano and Wagai, (2014) と Wagai *et al.* (2015) は、土壌にはそれを高エネルギーの超音波処理に処して団粒を分解しなければ得られない有機物が土壌有機物として安定な形で存在することを指摘している。それらの報文では、マイクロ団粒とヒューミンの関係に言及していない。しかし、強固に隔離封鎖された有機物は抽出剤の浸透をも拒み、結果として酸にもアルカリにも不溶のヒューミン画分に配分される可能性は十分ある。これを検証するためには抽出残渣のヒューミン画分を超音波処理し、溶媒抽出するといった研究が必要である。今回はそれを実施するには至らなかったが、強固に隔離封鎖された有機物がヒューミンの主体のひとつであることは十分に可能性がある。

次に、不溶性の炭化物に由来する仮説について述べる。山野井 (1996) は、黒ボク土におけるヒューミンの主体は微粒化した炭化物 (微粒炭) であることを報告した。本研究の土壌は黒ボク土とは全く異なる土壌であるため、単純にこの報告にしたがって微粒炭をヒューミンの主体とすることはできない。しかしその一方で、第3章ならびに第4章の腐植酸の研究において、黒ボク土で典型的に見られるA型腐植酸の存在や縮合多環芳香族の特徴が見だされている。これらの存在はこの地域の土壌に炭化物の付加があった可能性を強く支持するものである。今少し補足説明すると、本地域での植物燃焼の記録は少ないが、4000 cal. BP 年前の木質炭化物の発見情報があり (Madsen *et al.*, 2006; Rhode *et al.*, 2007), 燃焼の影響を受けた可能性が示唆されている。また、本地域に非常に近い調査地で行った Kaiser *et al.* (2007) の研究によれば、炭素年代 8267 ±

72 cal. BP 以上のマツ科トウヒ属の常緑針葉樹 (*Picea*) に由来する炭化物が土壌から発見され、かつては青海・チベット高原の大部分が森林であった可能性が指摘されている。また、約 8000 cal. BP 年前における大気中の二酸化炭素が異常に増加した記録があり、人間活動の影響により、地球環境が大きく変化した可能性のあることが報告された (Ruddiman, 2003)。これらのことを考え合わせると、青海・チベット高原では少なくとも数千年前には人為的な火の利用によって森林から草原に植生転換した可能性が考えられる。このように、炭化物がこの地域の土壌に付加された可能性は高い。一般に、炭化物そのものは酸やアルカリ溶液には不溶であることが知られており、炭化物が付加されたならヒューミンに分配されるであろう。ただし、この地域のヒューミンの主体が炭化物由来であるとしても化学的分解・修飾 (化学風化) をほとんど受けていない炭化物でなければならない。これについては 5-2 の生成論において議論する。

5-1-2 腐植酸の特徴と安定性

青海・チベット高原 3400m 地点から採取した土壌 (全炭素) とその腐植酸の ^{14}C 年代を測定した結果を表 5-1 に示した。腐植酸の ^{14}C 年代は腐植酸を含む土壌 (全炭素) のそれより古いことが示された。また、下層から約 5 千年前の腐植酸が検出されたことは、その腐植酸が長期間安定な状態で存在したことを意味している。本地域の土壌では Ca の存在が SOM の安定化に重要な効果を発揮することを示した (第 2 章と第 3 章)。第 2 章 (2-4) の理化学性で述べたように、おそらくレスの降下・沈着と高標高地からより低標高地へのレスの移行堆積過程において、Ca と出会った腐植酸が主に Ca 結合型腐植酸として安定な腐植形態に変化し、土壌に蓄積されたことが示唆された。その一方で、Fe・Al 結合型腐植酸量はいずれの土壌においても表層から下層にかけて増加す

る傾向が示された。この結果からは、下層においても上層と同様に Ca 結合型が多いものの、下層では沖積堆積物母材（礫）の風化に由来する Fe・Al イオンが腐植酸と結合し、Fe・Al 結合型の割合が増大して安定な腐植形態の一部として蓄積されたことが示唆された。さらに、これらの結合型腐植酸の大部分は腐植化度が高く、もっとも安定な腐植酸型とされる A 型腐植酸に分類された。また、第 3 章において A 型腐植酸として分類された腐植酸は高い Aryl-C 割合と低い Alkyl-C 割合で特徴付けられ、一般的な A 型腐植酸と同様の特徴が示された。

上記で得られた腐植酸の特徴をさらに詳しく調べるために、第 4 章で得られた青海・チベット高原と内モンゴル自治区の草地から得られた官能基炭素組成のデータに、当研究室で保有している世界各地の土壤腐植酸のデータを加えて合計 88 試料の異なる腐植酸試料による腐植酸の特徴付けを行った（表 5-2）。横軸を Aromaticity、縦軸を Carbonyl-C + Carboxyl-C 含量として散布図（図 5-1）を作成した。その結果、88 試料の腐植酸は大きく 3 つのグループに分別された。グループ I は主に内モンゴルの栗色土腐植酸、グループ II は青海・チベット高原の高山草地土壤の腐植酸、グループ III は主にその他の土壤腐植酸でそれぞれ構成された。これらの 88 試料には A 型が 31 試料、B 型が 26 試料、P 型が 23 試料、Rp 型が 8 試料と様々な腐植酸型の試料が含まれている。また、青海・チベット高原の腐植酸としては A 型が 7 試料、B 型が 6 試料、Rp 型が 1 試料含まれている。第 4 章（4-4-1）で述べたように、A 型腐植酸の特徴が高い Aromaticity によって特徴付けられるのであれば、青海・チベット高原の腐植酸の半数は少なくとも散布図の横軸右方向（高い Aromaticity）に分布するはずである。あるいは、グループ III のように幅広い分布を示し、グループ II として固有の範囲に収まることは考えにくい。すなわち、この散布図の結果は当地の腐植酸が腐植化度の未熟な Rp

型や高い A 型などから構成されているにも関わらず、Aromaticity と Carbonyl-C + Carboxyl-C 割合が共に低い「特有の領域」に分布することを示している。加えて、腐植形態分析によって同じ腐植酸型に属していても、化学構造特性が大きく異なる場合のあることを示している。

そこで、化学構造特性を代表する値として横軸に Aromaticity を、縦軸に腐植酸型の分別と腐植化度を代表する値として相対色度 A_{600}/C を選び、両者の関係を精査した。図 5-2 に 88 試料の腐植酸を当て嵌めると、有意な正の相関 ($r = 0.642$, $p < 0.001$) が認められた。4-1 でも述べたように、Tate *et al.* (1990) は様々な土壤腐植酸の各種官能基炭素組成を調べ、腐植形態分析における相対色度の増大に伴う芳香族炭素割合の増大を報告しており、その後のいくつかの研究結果からも同様の傾向が示されている (Maie *et al.*, 2002; Ikeya *et al.*, 2004; Watanabe and Takada, 2006; Katsumi *et al.*, 2015)。本研究の結果もそれらの結果と一致しており、腐植化度が高いほど芳香族特性が高くなるという通説を支持するものであった。しかしながら、腐植酸型別に Aromaticity と A_{600}/C の関係をプロットした場合ではこの限りではないことが新たに明らかになった。すなわち、A 型腐植酸 31 試料と B 型腐植酸 26 試料、P 型腐植酸 23 試料のそれぞれの腐植酸ごとに見れば、いずれも $r = 0.2 \sim 0.3$ と極めて弱い相関を示した (図 5-3~5-5)。この結果は腐植化度と化学構造特性との間には前述のような従来説 (単純な正の相関関係) は成立しないことを示し、腐植化度の評価・解釈における色と構造の関係を見直す必要のあることを示す。さらに、青海・チベットだけを取り出して同様に腐植酸型ごとにプロットすると (図 5-7)、Aromaticity と A_{600}/C の間には逆に強い相関関係 ($r = 0.6 \sim 0.7$) が認められた。図 5-1 でグループ II として特定の領域に収まったことと、図 5-7 で色と化学構造について特有の関係が得られたことは、この地域の腐植酸が特有の特性をも

つことを支持するものである。

以上のように、この地域の SOM の安定貯蔵の鍵は特有の性質を示すヒューミンならびに A 型腐植酸にあると考えられる。そこで、こうした特有のヒューミンと A 型腐植酸が如何にして生成され、SOM として貯蔵されたかについて、次節で議論する。

5-2 青海・チベット高原における土壤有機物の生成機構

5-2-1 ヒューミンの生成機構

5-1-1 で述べたように、当地域は燃焼の影響を受けた可能性のあることを指摘した。燃焼生成物に由来する炭化物は SOM の給源のひとつであり、微生物による分解・無機化を受けにくく、代謝回転速度の遅い SOM プールとして注目されている (Shindo *et al.*, 2004; 進藤, 2013)。この地域のヒューミンの主体が炭化物由来であるとして、その生成機構としては、1) 炭化物 (微粒炭) の混入、2) 微粒炭の活性作用による他の有機成分と微粒炭の有機・有機複合体の形成、3) 微粒炭とシルト画分中の鉱物と結合による有機・無機複合体の形成が考えられる。

はじめに、炭化物の混入について述べる。すなわち、燃焼生成物に由来する炭化物が地表に堆積し、物理的風化によって崩壊し、微粒炭となってヒューミンとして蓄積する機構である。実際、黒ボク土の研究において炭化物が土壤に混入することにより黒色土壤が形成され、その後の風化によって微粒化した炭化物 (微粒炭) がヒューミンの主体となったとする報告がある (山野井, 1996)。炭化物の形成は温度によって完成度 (多環芳香族の縮合度と占有率) が異なるが、より高温で生成された炭化物は酸やアルカリ

に不溶である(進藤, 2013)。ただし, 炭化物のうちの比較的不完全な構造をもつ成分は化学的風化(分解・変質)によって腐植酸やフルボ酸に移行すると考えられる。また, 完全な構造をもつ炭化物も長期間にわたる化学風化を受けることによって不溶性から可溶性に変化する可能性がある。したがって, この地域のヒューミンとして残存するのは, 完成度が高く, 化学的風化をそれほど受けていない「炭化物としては未熟」な不溶性の微粒炭のみが対象である。

次に, 微粒炭による他の有機成分との有機・有機複合体の形成について述べる。微粒炭は活性炭に準ずる成分である。活性炭は芳香環の π 結合(疎水結合)などの結合力によって他の疎水性有機物を補えることが知られている。実際, 初期の腐植物質の精製・分画操作において活性炭が用いられたが, 腐植抽出液を活性炭に吸着させた場合, アルカリ溶出による回収率が著しく低いために(Forsyth, 1947), 今日汎用されている疎水性ポリマーのDAX-8(XAD-8)樹脂にとって変わったという歴史的経緯がある。すなわち, アルカリでの回収率が低いということは, 活性炭に吸着・結合した腐植物質はアルカリで溶出されない成分が多いことを示し, 活性炭そのものもアルカリ不溶であることを考えると, こうした有機・有機複合体がヒューミンとして存在する可能性がある。

3)の微粒炭とシルト画分中の鉍物との結合については, ミクロ団粒によって物理的に隔離封鎖された有機物とも関連する。進藤(2013)はシルト画分に炭化物が最も多く含まれることを報告している。また, 本地域の土壌はいずれもシルト質土壌であることが明らかとなっている(2-4)。炭化物が地表に堆積し, その後の風化によって微小化した微粒炭がシルト画分中のなんらかの鉍物と結合し, 水やアルカリにも不溶となり, 抽出できなくなる。こうした有機・無機複合体がヒューミンとして残存した可能性が考えられる。ただし, 微粒炭とシルト画分中の鉍物との結合様式については不明である。

以上のように、ここで述べた3つの機構のいずれがこの地域のヒューミンの生成機構を支配しているのかは不明であるが、今後の研究成果に期待したい。いずれにしても、青海・チベットにおける SOM の安定性には微粒炭が深く関わったヒューミンの存在が重要であることは間違いない。

5-2-2 A 型腐植酸の生成機構

青海・チベット高原の腐植酸は、日本の火山灰由来黒ボク土と同様に炭化物の存在がその生成に重要な条件であるが、同じ炭化物由来の A 型腐植酸であったとしても、化学構造特性が異なることを述べた。すなわち、青海チベット高原の A 型腐植酸は他とは異なる生成機構で成立した可能性が高い。

その生成機構の違いとしては、1) 物理的風化と化学的風化の寄与度の違い、ならびに、2) 陽イオンによる吸着保持機構の違いが考えられる。

物理的風化作用によって微粒化した微粒炭は時間とともに、化学的風化作用によって分解・変質し、いずれは無機化する。宮崎、(1971) は、黒ボク土においてヒューミンが可溶性腐植(腐植酸とフルボ酸)よりも古い年代を示したことから、可溶性腐植よりもヒューミンが先に形成されたことを指摘した。これはヒューミン(中の微粒炭)が化学的風化作用によって腐植酸へと移行する可能性を示唆している。炭化物(微粒炭)は他の官能基を持たず、縮合多環芳香族構造を主要骨格とし、化学的酸化分解による縮合多環芳香族構造の開裂は、Carboxyl-C 含量の増大に寄与する(Ikeya *et al.*, 2007)。微粒炭が可溶性腐植へと腐植化するには親水性官能基であるカルボキシル基の存在が必要である(Zech *et al.*, 1997)。すなわち、微粒炭の化学的風化度は多環芳香族構造に対する Carboxyl-C 含量の増大で評価される。図 5-1 に示したように、青海・チベット高

原の腐植酸は他の腐植酸より全体的に Carboxyl-C 含量が低いことが特徴であった。この結果を考えると、本地域の A 型腐植酸は、日本や他の地域の A 型腐植酸に比べて化学的風化程度の低い微粒炭から成ることが考えられる。これは、第 3 の極地とも呼ばれ、標高が高く寒冷乾燥気候である本地域では、酸化的化学反応の影響がより小さいことによるのかもしれない。そして、日較温度差が大きく日射が強いという独特の条件は、温熱変化による物理的風化作用（崩壊作用）が他の地域より支配的であることから、物理的風化の寄与がより大きいことが考えられる。つまり、おなじ A 型腐植酸でも青海チベット高原の A 型腐植酸は物理的風化作用の支配が強く、日本をはじめとする他の温暖・湿潤な地域の A 型腐植酸は化学的風化作用の支配が強いという生成機構の違いが両者の化学構造特性の違いとして現れたが、両者とも黒い炭化物を起源とするため、いずれも光学的分析結果からは同じカテゴリー（A 型腐植酸）に分類されたと考えた。

一方、陽イオンによる吸着保持効果について述べる。様々な陽イオンは土壤中で吸着保持効果をそれぞれ持ち、温度などの環境条件によってその効果が変わる。黒ボク土では、テフラ（火山灰）に含まれた Al^{3+} が日本のような湿潤の環境で容易に溶出し、有機物との結合体を形成するため、多量な有機物が吸着保持されて安定に貯蔵されることが考えられている (Shiji *et al.*, 1993)。本地域の土壌は火山灰ではなくレスの影響が大きく、Ca リッチ土壌であり、 Ca^{2+} と出会った腐植酸が主に Ca 結合型腐植酸として安定な腐植形態に変化し、土壌に蓄積されたことが示唆された。こうした有機・無機結合体の形成を腐植酸分子の化学構造から考えると、 Al^{3+} と腐植酸との結合部位はカルボキシル基やフェノール基にあり、腐植酸は Al との配位結合によって安定化されている（平館と井上, 2013）。 Al^{3+} と比べ、2 価の Ca^{2+} は腐植酸との配位結合の程度はより低く、吸着保持効果は低くなる。こうした陽イオンの吸着保持効果の違いによって、A 型腐植酸の

土壌における滞留時間が異なることで、本地域の腐植酸の生成機構が異なった可能性が考えられる。

以上に述べたことから青海・チベット高原におけるヒューミン、腐植酸は独特の特性を示し、それらはおそらく、その気候条件に起因する特有の生成機構に支えられていることが考えられ、その結果として青海・チベット高原の SOM 特性は特有の性質を示すと結論付けた。

表5-1 青海・チベット高原3400m地点における
 土壌と腐植酸の放射線炭素年代

深さ (cm)	¹⁴ C年代	
	土壌	腐植酸
0-9	-700	-470
27-45/56	2300	2755
60-100	4560	4870

表5-2 世界各地の土壤腐植酸の¹³C NMRおよび形態分析の分析値

土壌型	サイト	層位	¹³ C NMR分析							形態分析		
			Carbonyl 220-190ppm	Carboxyl 190-165	O-Aryl 165-145	Aryl 145-110	O-Alkyl 110-48	Alkyl 48-5 ppm	Aromaticity	Δlog K _{OH}	A ₆₀₀ /C	腐植酸型
Regosol	4200m (A1)	HA _{OH}	2.2	12.6	7.5	24.6	27.8	25.3	0.38	0.816	2.4	Rp
		HA _{PP}	3.6	13.7	6.0	21.2	25.6	29.9	0.33	0.591	5.4	A
Phaeozem	3800m (A1)	HA _{OH}	2.8	15.1	7.9	22.6	29.3	22.4	0.37	0.791	2.8	B
		HA _{PP}	3.3	13.7	7.5	24.9	22.1	28.5	0.39	0.569	4.8	B
	Bw1	HA _{OH}	3.0	14.3	5.6	29.9	24.5	22.6	0.43	0.623	5.5	A
		HA _{PP}	1.7	13.8	5.2	33.7	23.6	22.1	0.46	0.452	13.3	A
	3400m (A1)	HA _{OH}	1.7	14.6	6.6	23.4	29.4	24.3	0.36	0.733	3.4	B
		HA _{PP}	4.4	15.2	7.8	24.3	24.4	23.9	0.40	0.542	7.2	A
	A2+AB	HA _{OH}	2.1	15.4	6.4	28.1	24.0	24.0	0.42	0.670	3.9	B
		HA _{PP}	2.4	13.8	3.5	31.5	23.8	25.0	0.42	0.492	9.7	A
	Bw1	HA _{OH}	1.4	14.7	5.9	32.0	22.3	23.6	0.45	0.631	4.9	B
		HA _{PP}	1.0	11.2	3.6	36.1	25.2	23.0	0.45	0.473	11.4	A
	Bw2+Bw3	HA _{OH}	1.7	15.5	6.1	32.0	20.5	24.2	0.46	0.638	4.7	B
		HA _{PP}	0.7	13.0	4.5	43.3	18.0	20.4	0.55	0.477	11.0	A
Andosol	日名倉	A	3.3	19.7	7.4	36.8	18.5	14.3	0.57	0.598	6.5	A
		B	1.1	15.9	5.2	32.6	19.3	25.9	0.46	0.742	2.7	B
	Kitulo Central	A	3.1	18.9	10.0	51.5	11.2	5.2	0.79	0.504	7.8	A
		Nyalwela	A	3.3	19.4	10.0	39.0	15.4	13.0	0.63	0.529	7.5
	夷守岳	A	3.7	16.4	7.1	21.3	29.3	22.3	0.35	0.78	2.7	B
	曉晴山	A	2.8	18.4	6.0	46.3	19.4	7.2	0.66	0.528	8.2	A
	赤沢II	A	3.5	19.4	4.7	20.8	25.1	26.5	0.33	0.691	2.8	B
	曾爾高原	A	3.8	19.2	7.9	34.8	23.1	11.2	0.55	0.562	6.9	A
	大山	A	5.3	21.3	8.4	39.7	15.1	10.2	0.66	0.507	7.6	A
	東お多福山	A	3.6	17.9	8.9	34.7	23.0	11.8	0.56	0.746	4.1	B
	ハケ岳	A	1.7	18.9	6.9	47.3	16.2	9.0	0.68	0.535	8.3	A
	鉢伏山	A	3.2	19.6	7.5	44.0	15.9	9.7	0.67	0.569	7.2	A
		B	3.4	16.9	6.3	23.1	27.9	22.5	0.37	0.881	1.4	Rp
	牧野	A	4.9	23.4	9.9	47.0	8.4	6.3	0.79	0.493	10.6	A
		鈴北岳	A	1.8	19.2	5.9	29.2	26.2	17.8	0.44	0.541	2.7
	トムラウシ	A	3.7	16.4	7.1	21.3	29.3	22.3	0.35	0.779	2.3	Rp
		B	1.4	18.0	7.3	22.7	18.9	31.6	0.37	0.594	3.0	P
	菅平	A1	3.0	18.8	6.2	30.6	24.4	17.1	0.47	0.539	8.4	A
		A2	2.8	16.4	7.6	34.0	22.6	16.5	0.52	0.540	9.0	A
		A3	3.2	16.8	7.0	37.8	19.5	15.7	0.56	0.524	10.1	A
AB		2.1	14.1	6.5	38.6	20.1	18.7	0.54	0.526	8.5	A	
BA		2.7	14.9	9.2	34.4	23.4	15.4	0.53	0.563	7.6	A	
B1		3.1	15.1	6.7	34.1	17.4	23.6	0.50	0.601	5.2	A	
B2		4.1	16.3	6.1	29.9	12.1	31.3	0.45	0.661	3.1	B	
B3		2.8	14.9	6.0	25.2	13.0	38.0	0.38	0.659	2.6	P	
Arcisol	Andover	A	3.6	19.2	6.4	28.5	22.2	20.1	0.45	0.590	3.7	P
	宮城	A	2.1	17.9	7.4	29.8	27.4	15.4	0.46	0.700	3.2	B
Arenosol	Salgadira	A	1.0	15.6	7.7	31.2	26.1	18.4	0.47	0.638	5.7	A
		B	2.2	16.4	6.6	25.4	28.2	21.1	0.39	0.689	1.7	P
Sintuongtuong	A	A	2.9	15.4	6.5	29.8	25.1	20.2	0.45	0.641	5.2	A
		B	2.4	14.9	4.9	30.9	24.8	22.1	0.43	0.588	5.0	A
Luvisol	Tudan	A	2.9	15.4	6.0	30.7	25.1	19.9	0.45	0.585	6.1	A
		B	2.9	16.3	5.0	29.1	25.2	21.5	0.42	0.635	3.2	P

表5-2 (続き)

土壌型	サイト	層位	¹³ C NMR分析							形態分析			
			Carbonyl 220-190ppm	Carboxyl 190-165	O-Aryl 165-145	Aryl 145-110	O-Alkyl 110-48	Alkyl 48-5 ppm	Aromaticity	Δlog K	A ₆₀₀ /C	腐植酸型	
Cambisol (褐色森林土)	かやの平	A	4.9	20.8	6.8	23.8	21.4	22.2	0.41	0.567	4.3	B	
		AB	2.9	18.8	5.4	21.8	23.4	27.8	0.35	0.526	3.2	P	
		B	2.8	19.3	6.5	23.3	23.3	24.8	0.38	0.539	2.0	P	
		BC	2.9	17.8	6.1	23.3	23.8	26.1	0.37	0.609	1.5	P	
		2B	3.2	19.6	6.6	20.0	23.3	27.3	0.34	0.854	1.2	Rp	
	花折	A	4.5	20.9	7.1	20.1	22.4	24.9	0.36	0.746	2.1	Rp	
		B1	4.4	20.3	6.3	18.8	22.5	27.6	0.33	0.761	1.6	Rp	
		B2	4.3	18.1	5.0	18.7	22.5	31.3	0.31	0.760	2.1	Rp	
		BC	6.8	20.0	7.7	20.6	20.4	24.5	0.39	0.634	1.0	P	
	Andossi	A	4.4	19.9	6.3	21.4	28.5	19.5	0.37	0.679	2.5	P	
		B	5.1	20.0	6.0	21.9	26.1	20.9	0.37	0.596	3.2	P	
	椎葉村	A	4.2	18.2	5.7	21.7	26.5	23.6	0.35	0.641	3.1	P	
		久多	A	5.8	18.1	5.0	19.4	29.4	22.3	0.32	0.572	5.9	A
		経ヶ峰	A	4.3	17.8	5.4	20.5	30.0	22.0	0.33	0.452	2.3	P
		鶏籠山	A	3.9	16.6	7.1	23.8	26.1	22.4	0.39	0.694	3.7	B
		山城	A	6.3	19.4	7.6	21.0	23.3	22.4	0.38	0.670	3.9	B
		段戸	A	3.9	17.1	6.2	21.7	30.0	21.1	0.35	0.649	3.8	B
		長峰山	A	3.2	18.9	7.9	24.5	27.7	17.7	0.42	0.825	3.1	B
		夜叉ヶ池	A	1.8	19.2	5.9	29.2	26.2	17.8	0.44	0.605	3.4	P
		六甲戸賀谷	A	4.7	18.2	7.4	18.3	24.3	27.1	0.33	0.654	2.2	P
B			1.6	15.8	5.4	30.8	26.4	20.1	0.44	0.523	5.2	A	
Uyole	A	3.6	17.1	8.9	36.8	22.0	11.6	0.58	0.477	5.3	A		
Chernozem	Wakaw	A	3.5	17.2	7.1	37.9	21.1	13.1	0.57	0.59	5.8	A	
Ferralsol	Jaguapita	A	5.9	17.7	6.9	26.4	18.6	24.5	0.44	0.729	3.4	B	
		B	1.9	16.5	6.3	29.8	25.2	20.4	0.44	0.632	4.3	B	
	Ortigera	A	1.6	17.4	7.2	30.7	23.6	19.4	0.47	0.621	5.7	A	
		B	1.8	16.8	6.1	35.7	20.2	19.5	0.51	0.713	3.2	B	
Histosol	市島	A	2.7	13.0	10.3	35.9	21.5	16.9	0.55	0.77	2.5	Rp	
Kastanozem (栗色土)	Inner Mongolia CK	A	1.9	14.9	6.3	26.8	23.5	26.6	0.40	0.688	2.9	B	
		IM 2G	A	3.1	15.5	6.6	23.3	25.9	25.6	0.37	0.607	3.4	P
		IM 2S	A	2.9	14.5	6.3	23.0	28.1	25.2	0.35	0.649	2.9	P
		IM 4G	A	3.2	14.9	6.6	25.4	27.3	22.6	0.39	0.634	2.7	P
		IM 4S	A	3.0	16.0	7.2	24.6	25.6	23.6	0.39	0.632	2.8	P
		IM 9G	A	1.8	15.7	7.1	23.0	30.6	21.8	0.36	0.613	3.2	P
		IM 9S	A	2.2	14.4	6.7	24.9	26.4	25.4	0.38	0.654	2.6	P
		IM 10G	A	2.3	15.4	6.6	26.4	25.0	24.4	0.40	0.594	3.9	B
		IM 10S	A	1.9	14.8	6.0	26.2	22.9	28.1	0.39	0.644	3.1	P
		Nitisol	Parana	A	2.2	17.2	6.1	21.3	34.1	19.0	0.34	0.72	3.2
B	3.2			18.0	5.0	24.3	31.5	18.0	0.37	0.64	3.4	B	
A	1.4			16.8	6.3	26.1	27.8	21.7	0.40	0.744	3.2	B	
B	1.5			16.7	5.5	39.3	22.7	14.3	0.55	0.724	4.0	B	
Rolandia	A	1.4	16.8	6.3	26.1	27.8	21.7	0.40	0.744	3.2	B		
	B	1.5	16.7	5.5	39.3	22.7	14.3	0.55	0.724	4.0	B		

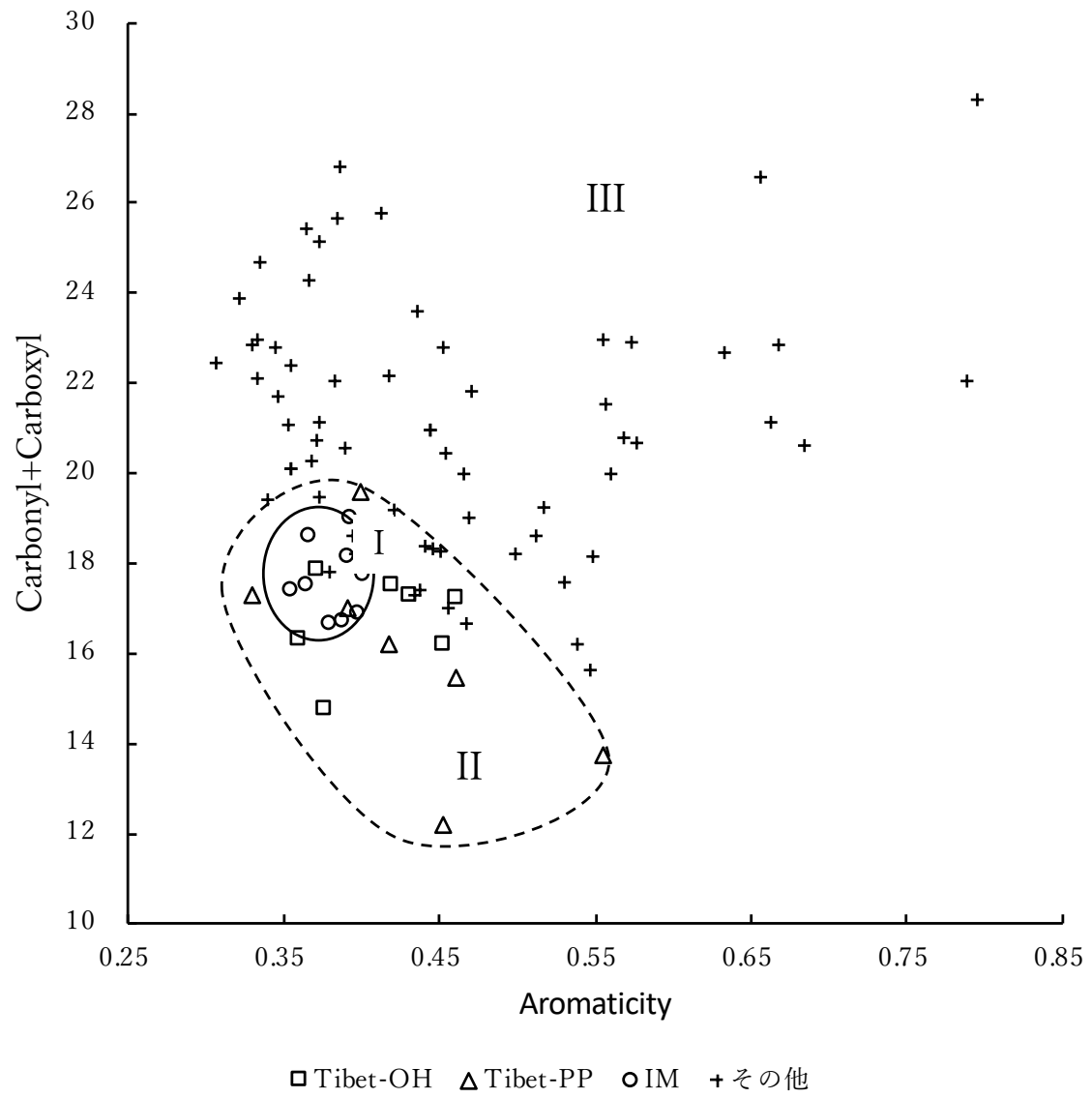


図5-1 世界各地の土壤腐植酸の¹³C NMR による Carbonyl+CarboxylとAromaticityの2次元プロット

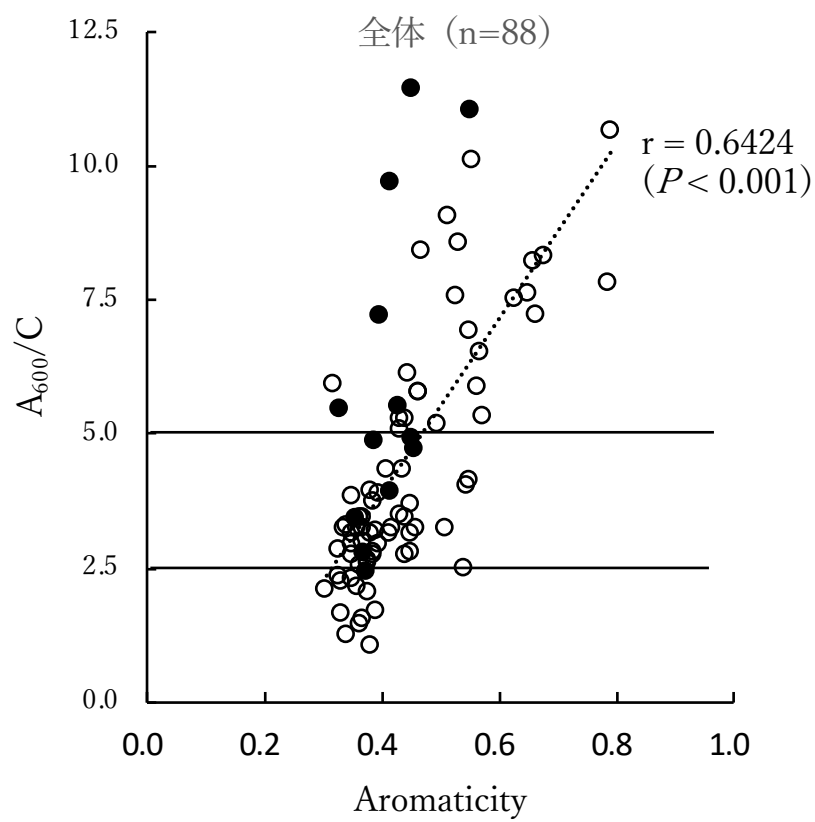


図5-2 A₆₀₀/CとAromaticityとの関係
 ●, 青海・チベット高原の腐植酸
 ○, その他

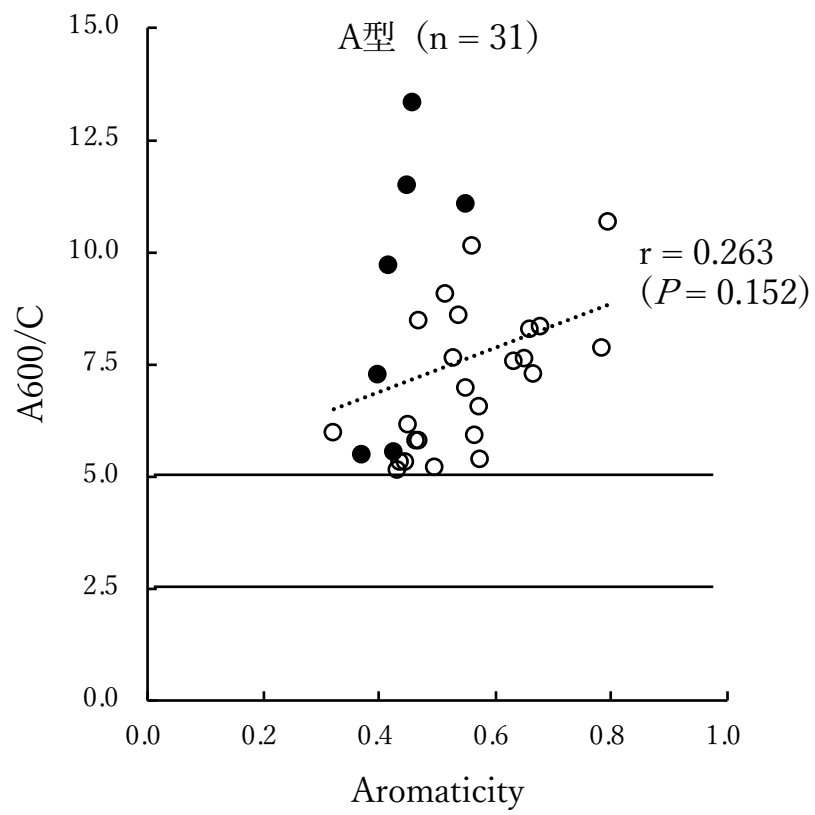


図5-3 A型における腐植酸のA₆₀₀/CとAromaticityとの関係
 ●, 青海・チベット高原の腐植酸
 ○, その他

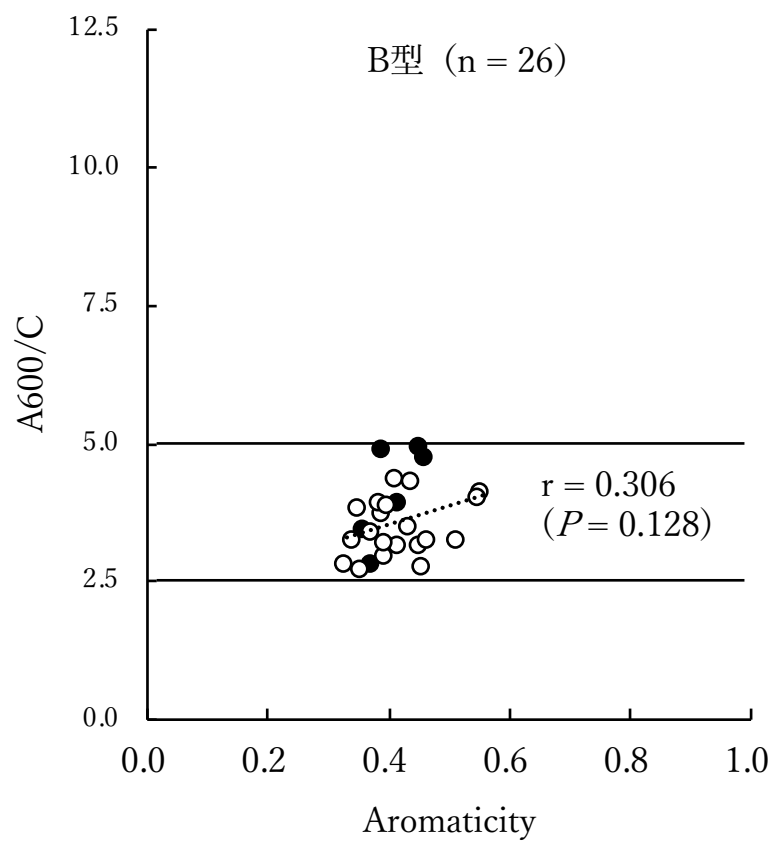


図5-4 B型における腐植酸の A_{600}/C とAromaticityとの関係
 ●, 青海・チベット高原の腐植酸
 ○, その他

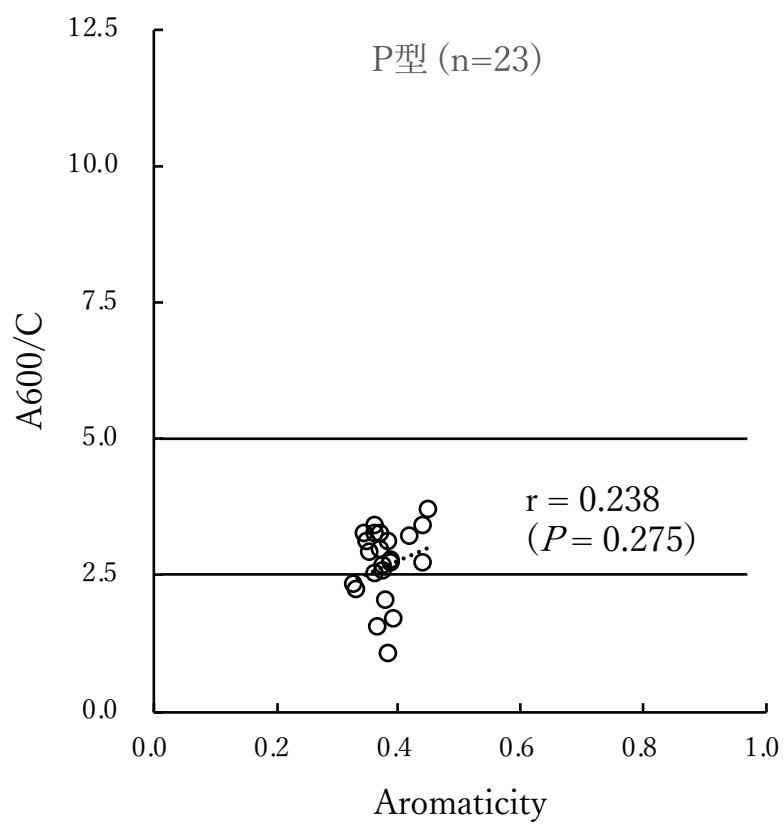


図5-5 P型における腐植酸のA₆₀₀/CとAromaticityとの関係
 ●, 青海・チベット高原の腐植酸
 ○, その他

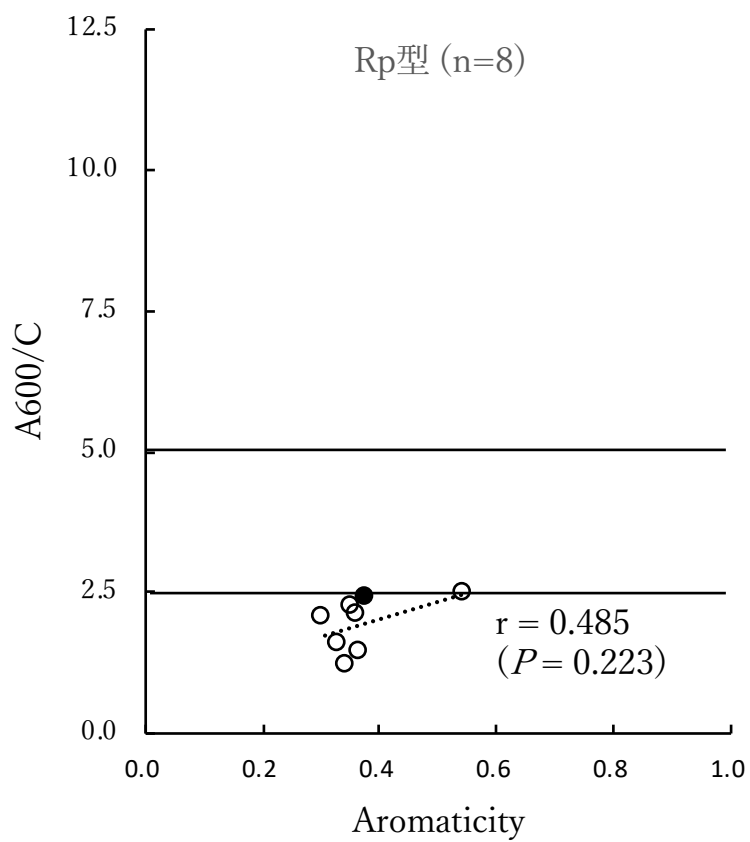


図5-6 Rp型における腐植酸のA₆₀₀/CとAromaticityとの関係
 ●, 青海・チベット高原の腐植酸
 ○, その他

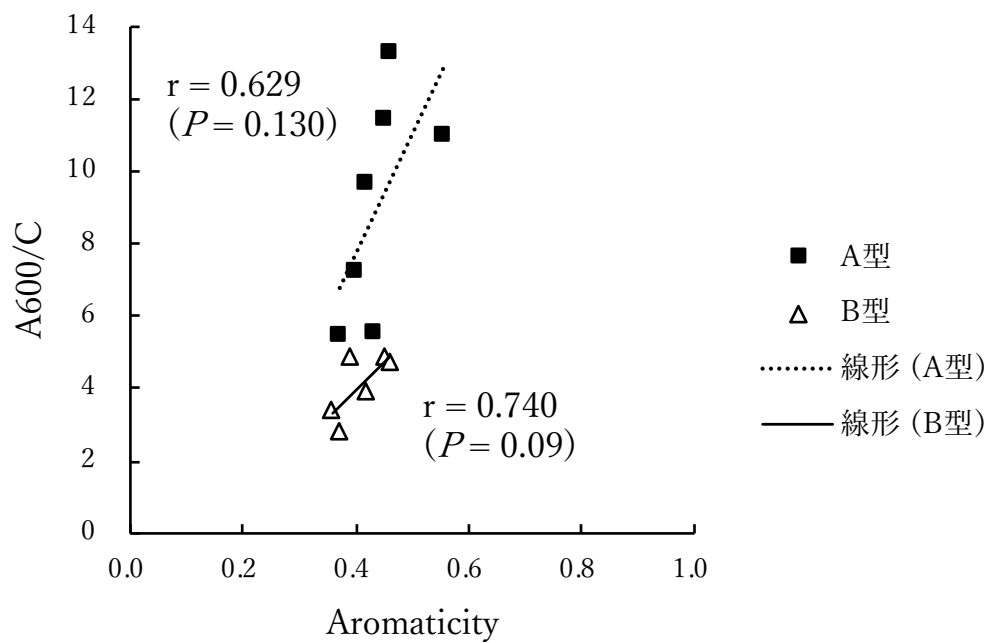


図5-7 青海・チベット高原における腐植酸型別に A₆₀₀/CとAromaticityとの相関

謝 辞

本研究を行うにあたり終始ご懇切なるご指導を賜り、また本論文作成に手厚いご指導およびご鞭撻を賜りました神戸大学農学研究科藤嶽暢英教授に心から感謝いたします。また、ご多忙の中、論文執筆に際して懇切なご助言ならびにご校閲を賜りました神戸大学農学研究科の前藤薫教授および水野雅史教授に厚く感謝いたします。

研究上適切なお助言と的確なご指導を頂きました神戸大学農学研究科の鈴木武志助教、木田森丸博士に深く感謝いたします。また、本研究を遂行するにあたって、ご配慮、叱咤激励を賜りました筑波大学の廣田充准教授に深く感謝いたします。また、本研究の遂行上、特に研究サイトでの適切なお指導、叱咤激励を賜りました北京大学の唐艶鴻、中国科学院植物研究所の沈海花准教授に深く感謝いたします。

また、苦楽をともにした呉慧嶠氏、北村今日子氏をはじめとする、神戸大学農学部土壌学研究室の卒業生の方々、学生諸君の皆様方には様々な形でご協力をいただきましたことを感謝いたします。

私事ではありますが、このような研究生活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。

以上の方々のご指導、ご協力により本研究を無事遂行することができました。心からお礼申し上げます。

引用文献

- Abril A, Villagra P, Noe L 2009: Spatiotemporal heterogeneity of soil fertility in the Central Monte desert (Argentina). *Journal of Arid Environments* 73: 901-906.
- Almendros G, Dorado J 1999: Molecular characteristics related to the biodegradability of humic acid preparations. *Eur. J. Soil Sci.*, 50, 227–236.
- Asano M, Wagai R 2014: Evidence of aggregate hierarchy at micro-to submicron scales in an allophanic Andisol. *Geoderma*, 216, 62-74.
- Baldock JA, Oades JM, Vassallo AM, Wilson MA 1990: Solid-state CP/MAS ^{13}C NMR analysis of bacterial and fungal cultures isolated from a soil incubated with glucose. *Soil Research*, 28(2), 213-225.
- Baldock JA, Oades JM, Waters AG, Peng X, Vassallo AM, Wilson MA 1992: Aspects of the chemical structure of soil organic materials as revealed by solid-state ^{13}C NMR spectroscopy. *Biogeochemistry*, 16, 1–42.
- Batjes NH, Sombroek WG 1997: Possibilities for carbon sequestration in tropical and subtropical soils. *Global Change Biology*, 3(2), 161-173.
- Blakemore LC, Searle PL, Daly BK 1981: Methods for chemical analysis of soils. Bureau scientific report 10A, pp. 1–102. Department of Scientific and Industrial Research, Lower Hutt, New Zealand.
- Bronick CJ, Lal R 2005: Soil structure and management: a review. *Geoderma*, 124(1-2), 3-22.
- Cao ZY, Wang Y, Li J, Zhang JJ, He NP 2016: Soil organic carbon contents, aggregate

- stability, and humic acid composition in different alpine grasslands in Qinghai-Tibet Plateau. *J. Mt. Sci.*, 13, 2015–2027.
- Committee of Soil Environment Analysis (Eds) 1997: In *Methods for Soil Environment Analysis*. pp. 1–427. Hakuyu-sha, Tokyo (in Japanese).
- Conte P, Piccolo A, Van Lagen B, Buurman P, De Jager PA 1997: Quantitative differences in evaluating soil humic substances by liquid- and solid-state ^{13}C -NMR spectroscopy. *Geoderma*, 80: 339-352.
- Cowie JD 1968: Pedology of soils from wind-blown sand in the Manawatu district. *N. Z. J. Sci.*, 11, 459–487
- Degens BP, Schipper LA, Sparling GP, Vojvodic-Vukovic M 2000: Decreases in organic C reserves in soils can reduce the catabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(2), 189-196.
- Du M, Kawashima S, Yonemura S, Zhang X, Chen S 2004: Mutual influence between human activities and climate change in the Tibetan Plateau during recent years. *Global and Planetary Change*, 41(3-4), 241-249.
- Eswaran H, Van Den Berg E, Reich P 1993: Organic carbon in soils of the world. *Soil science society of America journal*, 57(1), 192-194.
- Feng Q, Cheng GD, Mikami M 2001: The Carbon Cycle of Sandy Lands in China and its GlobalSignificance. *Climatic Change*, 48(4), 535-549.
- Forsyth WGC 1947: Studies on the more soluble complexes of soil organic matter: 1. A method of fractionation. *Biochemical Journal*, 41(2), 176.
- Fu G, Shen Z, Zhang X, Zhou Y 2012: Response of soil microbial biomass to short-term

- experimental warming in alpine meadow on the Tibetan Plateau. *Applied Soil Ecology*, 61, 158-160.
- Fujitake N, Kawahigashi M, 1999: *Soil Sci. Plant Nutr.*, 45, 359.
- Gao YH, Luo P, Wu N, Chen H, Wang GX 2007: Grazing intensity impacts on carbon sequestration in an alpine meadow on the eastern Tibetan Plateau. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 3(6), 642-647.
- Ginwalla AS, Mikita MA, 1992: Reaction of Suwannee river fulvic acid with chloramine: characterization of products via ^{15}N -NMR. *Environ. Sci. Technol.* 26, 1148-1150.
- Golchin A, Clarke P, Baldock JA, Higashi T, Skjemstad JO, Oades JM 1997: The effects of vegetation and burning on the chemical composition of soil organic matter in a volcanic ash soil as shown by ^{13}C NMR spectroscopy. I. Whole soil and humic acid fraction. *Geoderma*, 76(3-4), 155-174.
- Grinhut T, Hertkorn N, Schmitt-Kopplin P, Hadar Y, Chen Y 2011: Mechanisms of humic acids degradation by white rot fungi explored using ^1H NMR spectroscopy and FTICR mass spectrometry. *Environmental science & technology*, 45(7), 2748-2754.
- Hargitai L 1994. Biochemical transformation of humic substances during humification related to their environmental functions. *Environ. Int.*, 20, 43-48.
- Hatcher PG, Bortiatynski JM, Minard RD, Dec J, Bollag JM, 1993: Use of high-resolution ^{13}C -NMR to examine the enzymatic covalent binding of ^{13}C -labeled 2,4 dichlorophenol to humic substances. *Environ. Sci. Technol.* 27, 2098-2103.
- Hatcher PG, Schnitzer M, Dennis LW, Maciel GE, 1981: Aromaticity of humic

- substances in soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 45: 1089-1094.
- Hirota M, Zhang P, Gu S, Du M, Shimono A, Shen H, Li Y, Tang Y 2009: Altitudinal Variation of ecosystem CO₂ fluxes in an alpine grassland from 3600 to 4200 m. *J PLANT ECOL.*, 2, 197–205.
- Hu Y, Wang Z, Wang Q, Wang S, Zhang Z, Zhang Z, Zhao Y 2017: Climate change affects soil labile organic carbon fractions in a Tibetan alpine meadow. *J. Soils Sediments.*, 17, 326–339.
- Huang Z, Xu Z, Chen C, Boyd S 2008: Changes in soil carbon during the establishment of a hardwood plantation in subtropical Australia. *Forest Ecology and management*, 254(1), 46-55.
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change) 2001: Climate change 2001: the scientific basis. Contribution of Working Group I to the third assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, 881.
- IUSS Working Group WRB. 2014. World reference base for soil resources 2014: International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. In *World Soil Reports*. Vol. 106. pp.1–116. FAO, Rome.
- Iimura Y, Ohtani T, Chersich S, Tani M, Fujitake N 2012: Characterization of DAX - 8 adsorbed soil fulvic acid fractions by various types of analyses. *Soil science and plant nutrition*, 58(4), 404-415.
- Ikeya K, Ishida Y, Ohtani H, Yamamoto S, Watanabe A 2007: Analysis of polynuclear aromatic and aliphatic components in soil humic acids using ruthenium tetroxide oxidation. *European journal of soil science*, 58(5), 1050-1061.

- Ikeya K, Watanabe A 2003: Direct expression of an index for the degree of humification of humic acids using organic carbon concentration. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 49, 47–53.
- Ikeya K, Yamamoto S, Watanabe A 2004: Semiquantitative GC/MS analysis of thremochemolysis products of soil humic acids with various degrees of humification. *Organic Geochem.*, 35: 583-594.
- Jobbágy EG, Jackson RB 2000: The vertical distribution of soil organic carbon and its relation to climate and vegetation. *Ecol. Appl.*, 10, 423–436.
- Kaiser K, Mieke G, Schoch WH, Zander A, Schlutz F 2006: Relief soil and lost forests: Late Holocene environmental changes in southern Tibet under human impact. *Zeitschrift für Geomorphologie Supplement.*, 142, 149-173.
- Kaiser K, Opgenoorth L, Schoch WH, Mieke G 2009: Charcoal and fossil wood from palaeosols, sediments and artificial structures indicating Late Holocene woodland decline in southern Tibet (China). *Quat. Sci. Rev.*, 28, 1539–1554.
- Kaiser K, Schoch WH, Mieke G 2007: Holocene paleosols and colluvial sediments in Northeast Tibet (Qinghai Province , China): Properties , dating and paleoenvironmental implications. *Catena.*, 69, 91–102.
- Kalbitz K, Schwesig D, Schmerwitz J et al. 2003: Changes in properties of soil-derived dissolved organic matter induced by biodegradation. *Soil Biol. Biochem.*, 35, 1129–1142.
- Katsumi N, Yonebayashi K, Okazaki M 2015: Evaluation of stacking nanostructure in soil humic acids by analysis of the 002 band of their X-ray diffraction profiles. *Soil science and plant nutrition*, 61(4), 603-612.

- Katsumi N, Yonebayashi K, Okazaki M, 2016: Effects of heating on composition, degree of darkness, and stacking nanostructure of soil humic acids *Science of the Total Environment*, 541, 23-32.
- Kramer RW, Kujawinski EB, Hatcher PG 2004: *Environ. Sci. Technol.*, 38, 3387.
- 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 Sci. Plant Nutr.*, 13, 151–158.
- Kumada, K 1987: In *Chemistry of soil organic matter*. pp. 1–241. Elsevier, Tokyo.
- Kuwatsuka S, Tsutsuki K, Kumada K 1978: Chemical studies on soil humic acids. I. Elementary composition of humic acids. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 24, 337-347
- Kögel-Knabner I 1993: Biodegradation and humification processes in forest soils. In: Bollag, J.M., Stotzky, G. (Eds.), *Soil Biochemistry*, Vol. 8. Marcel Dekker, New York, pp. 101-137.
- Kögel-Knabner I 1997: ^{13}C and ^{15}N NMR spectroscopy as a tool in soil organic matter studies. *Geoderma*, 80: 243-270.
- Kögel-Knabner I, Guggenberger G, Kleber M, Kandeler E, Kalbitz K, Scheu S, Leinweber P 2008 : Organo - mineral associations in temperate soils: Integrating biology, mineralogy, and organic matter chemistry. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 171(1), 61-82.
- Li C, Cao Z, Chang J, Zhang Y, Zhu G, Zong N, He Y, Zhang J, He N 2017: Elevational gradient affect functional fractions of soil organic carbon and aggregates stability in a Tibetan alpine meadow. *Catena.*, 156, 139–148.

- Li H, Hamazaki T, Nagatomo Y, Sakai M 2008: Characteristics of alpine grassland soils and their change with pasture degradation in the eastern part of Qinghai-Tibet plateau. *Pedologist*, 52, 96–106. (in Japanese with English summary).
- Li H, Hamazaki T, Sakai M, Li H, Song R, Nagatomo Y 2010: Characteristics, types and spatial patterns of Alpine meadow soils in the Qinghai-Tibet Plateau. *Pedologist.*, 54, 21–34. (in Japanese with English summary).
- Liao JD, Boutton TW 2008: Soil microbial biomass response to woody plant invasion of grassland. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(5), 1207-1216.
- Lieth HFH (Editor) 1978: *Patterns of Productivity in the Biosphere*. Stroudsburg, PA: Hutchinson Ross. 342 pp.
- Liu X, Chen B 2000: Climatic warming in the Tibetan Plateau during recent decades. *International journal of climatology*, 20(14), 1729-1742.
- Long R 2003: 13 Alpine rangeland ecosystems and their management in the Qinghai-Tibetan Plateau. The Yak Second Edition, revised and enlarged by Gerand W, Han J and long R. RAP/FAO, Bangkok.
- Madsen DB, Haizhou M, Brantingham PJ, Xing G, Rhode D, Haiying Z, Olsen JW 2006: The Late Upper Paleolithic occupation of the northern Tibetan Plateau margin. *J. Archaeol. Sci.*, 33, 1433–1444.
- Maie N, Watanabe A, Hayamizu K, Kimura M 2002: Comparison of chemical characteristics of Type A humic acids extracted from subsoils of paddy fields and surface and soils. *Geoderma.*, 106, 1–19.
- Martin D, Srivastava PC, Ghosh D, Zech W 1998: Characteristics of humic substances in

- cultivated and natural forest soils of Sikkim. *Geoderma.*, 84, 345–362.
- Mazzarino MJ, Oliva L, Abril A, Acosta M 1991: Factors affecting nitrogen dynamics in a semiarid woodland (Dry Chaco, Argentina). *Plant and Soil*, 138(1), 85-98.
- Muneer M, Oades JM 1989a: The role of Ca-organic interactions in soil aggregate stability. I. Laboratory studies with ^{14}C -glucose, CaCO_3 and $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. *Aust. J. Soil Res.*, 27, 389-399.
- Muneer M, Oades JM 1989b: The role of Ca-organic interactions in soil aggregate stability. II. Field studies with ^{14}C -labeled straw, CaCO_3 and $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. *Aust. J. Soil Res.*, 27, 401-409.
- Muneer M, Oades JM 1989c: The role of Ca-organic interactions in soil aggregate stability. III. Mechanisms and models. *Aust. J. Soil Res.*, 27, 411-423.
- Nakamura S, Hiraoka M, Matsumoto E, Tamura K, Higashi T 2007: Humus composition of Amazonian Dark Earths in the Middle Amazon, Brazil. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 53, 229–235.
- New Zealand Soil Bureau 1968: Soils of New Zealand 3. *Soil Bur. Bull.*, 26(3), 127
- Nishimura S, Tani M, Fujitake N, Shindo H 2009: Relationship between distribution of charred plant residues and humus composition in chernozemic soils. *Pedologist.*, 53, 86-93. (in Japanese with English summary).
- Oades JM 1988: The retention of organic matter in soils. *Biogeochemistry*, 5(1), 35-70.
- Oba Y 1964: Methodology for the study of soil humus. II. Kobo and Oba's method. *Pedologist.*, 8, 108-116 (In Japanese).
- Ohtsuka T, Hirota M, Zhang X, Shimono A, Senga Y, Du M, Yonemura S, Kawashima S,

- Tang Y 2008: Soil organic carbon pools in alpine to nival zones along an altitudinal gradient (4400-5300 m) on the Tibetan Plateau. *Polar Sci.*, 2, 277–285.
- Parfitt RL, Childs CW 1988: Estimation of forms of Fe and Al: A review, and analysis of contrasting soils by dissolution and moessbauer methods. *Aust. J. Soil Res.*, 26, 121–144.
- Preston CM, Blackwell CM, 1985 : *Soil Sci.*, 139, 88.
- Rawls WJ, Pachepsky YA, Ritchie JC, Sobecki TM, Bloodworth H 2003: Effect of soil organic carbon on soil water retention. *Geoderma*, 116(1-2), 61-76.
- Rhode D, Haiying Z, Madsen DB, Xing G, Brantingham PJ, Haizhou M, Olsen JW 2007: Epipaleolithic / early Neolithic settlements at Qinghai Lake , western China. *J. Archaeol. Sci.*, 34, 600–612.
- Rice, JA 2001: Humin. *Soil Science*, 166(11), 848-857.
- Ruddiman W 2003: The Anthropogenic Greenhouse Era Began Thousands of Years Ago. *Clim. Change.*, 61, 261–293.
- Sazawa K, Yoshida H, Okusu K, Hata N, Kuramitz H 2018: Effects of forest fire on the properties of soil and humic substances extracted from forest soil in Gunma, Japan. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(30), 30325-30338.
- Schmidt MWI, Skjemstad JO, Gehrt E, Kögel-Knabner I 1999: Charred organic carbon in German chernozemic soils. *Eur. J. Soil Sci.*, 50, 351–365.
- Scurlock JMO, Hall DO 1998: The global carbon sink: a grassland perspective. *Global Change Biology*, 4(2), 229-233.
- Shin HS, Rhea SW, Lee BH, Moon CM, 1996: Metal binding sites and partial structures

of soil fulvic and humic acids compared: aided by Eu(III) luminescence spectroscopy and DEPT/QUAT ¹³C-NMR pulse techniques. *Org. Geochem.* 24, 523-529.

Shindo H, Honna T, Yamamoto S, Honma H 2004: Contribution of charred plant fragments to soil organic carbon in Japanese volcanic ash soils containing black humic acids. *Organic Geochemistry*, 35(3), 235-241.

Shindo H, Ushijima N, Amano Y 2003: Comparison of elementary and humus composition of woody plants before and after burning. *Soil Sci. Plan Nutr.* 495-693.

Shoji S, Dahlgren R, Nanzyo M 1993: Volcanic ash soils: Genesis, properties and utilization, 288pp., Elsevier, Amsterdam.

Spain AV 1990: Influence of environmental conditions and some soil chemical properties on the carbon and nitrogen contents of some tropical Australian rainforest soils. *Soil Research*, 28(6), 825-839.

Steelink C, Wershaw RL, Thorn KA, Wilson MA, 1989 : Humic Substances II In Search of Structure, Edited by Hayes, M.H.B., MacCarthy, P., Malcolm, R. L., Swift, R.S., p. 310.

Steinberg CEW 2003: Humic Substances and Global Climate Change. In *Ecology of Humic Substances in Freshwaters*. pp. 117–130. Springer, Berlin, Heidelberg.

Stevenson FJ 1994: In *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. pp. 1–496. John Wiley & Son INC., New York.

Stockmann U, Adams MA, Crawford JW 2013: The knowns, known unknowns and unknowns of sequestration of soil organic carbon. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 164, 80–99.

- Sun HL, Zheng D 1996: Formation and Evolution of Qinghai-Xizang Plateau. (in Chinese) Shanghai Science and Technology Press, Shanghai, 1.
- Sun J, Liu T 2000: Stratigraphic evidence for the uplift of the Tibetan Plateau between~ 1.1 and~ 0.9 myr ago. *Quaternary Research.*, 54, 309-320.
- Swift RS 1996: Organic matter characterization (Chap. 35), In *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical methods.* Soil Sci. Soc. Am. Book Series: 5, Eds. Sparks DL, Page AL, Helmke PA, Leppert HR, pp. 1011–1069., Soil Science Society of America, Madison.
- Swift RS 2001: Sequestration of carbon by soil. *Soil Science* 166: 858-871.
- Tan K, Ciais P, Piao S, Wu X, Tang Y, Vuichard N, Liang S, Fang J 2010: Application of the ORCHIDEE global vegetation model to evaluate biomass and soil carbon stocks of Qinghai-Tibetan grasslands. *Global Biogeochem. Cy.*, 24, GB1013.
- Tang L, Dong S, Liu S, Wang X, Li Y, Su X, Zhao H 2015: The relationship between soil physical properties and alpine plant diversity on Qinghai-Tibet Plateau. *EURASIAN JOURNAL OF SOIL SCIENCE (EJSS)*, 4(2), 88-93.
- Tani MT, Hinjo HS, Ujitake NF, Umida HS, Osaki TK 2012: Features and properties of Chernozemic soils and humic substances in eastern Ukraine. *Jpn. Soc. Pedol.*, 56, 47–57.
- Tate KR, Yamamoto K, Churchman GJ, Meinhold R, Newman RH, Yamamoto K, Meinhold R, Newman RH 1990: Relationships between the type and carbon chemistry of humic acids from some new zealand and japanese soils. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 36, 611–621.

- Tatsumi K, Freyer A, Minard RD, Bollag JM, 1994: Enzyme-mediated coupling of 3,4-dichloroanilin and ferulic acid: a model for pollutant binding to humic materials. *Environ. Sci. Technol.* 28, 210-215.
- Tegelaar EW, De Leeuw JW, Saiz-Jimenez C 1989: Possible origin of aliphatic moieties in humic substances. *Sci. Total Environ.* 81-82, 1-17.
- Tsutsuki K, Kuwatsuka S 1978a: Chemical studies on soil humic acids. II. Composition of oxygen containing functional groups of humic acids. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 24, 547-560
- Tsutsuki K, Kuwatsuka S 1978b: Chemical studies on soil humic acids. III. Nitrogen distribution in humic acids. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 24, 561-570
- Tsutsuki K, Kuwatsuka S, 1979: Chemical studies on soil humic acids. IV. Amino acid, phenol, and sugar composition in the acid hydrolyzable fraction of humic acids. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 25, 29-38
- Vriend M, Prins MA 2005: Calibration of modelled mixing patterns in loess grain-size distributions: An example from the north-eastern margin of the Tibetan Plateau, China. *Sedimentology.*, 52, 1361–1374.
- Wagai R, Kajiura M, Asano M, Hiradate S 2015: Nature of soil organo-mineral assemblage examined by sequential density fractionation with and without sonication: Is allophanic soil different?. *Geoderma*, 241, 295-305.
- Wang G, Qian J, Cheng G, Lai Y 2002: Soil organic carbon pool of grassland soils on the Qinghai-Tibetan Plateau and its global implication. *Sci. Total Environ.*, 291, 207–217.

- Wang X, Dong Z, Yan P, Yang Z, Hu Z 2005: Surface sample collection and dust source analysis in northwestern China. *Catena.*, 59, 35–53.
- Wang Z, Hartemink AE, Zhang Y, Zhang H, Ding M 2016: Major Elements in Soils Along a 2.8–km Altitudinal Gradient on the Tibetan Plateau, China. *Pedosphere.*, 26, 895–903.
- Wang Z, Luo T, Li R, Tang Y, Du M 2013: Causes for the unimodal pattern of biomass and productivity in alpine grasslands along a large altitudinal gradient in semi-arid regions. *J. Veg. Sci.*, 24, 189–201.
- Watanabe A, Kuwatsuka S 1991: Triangular diagram for humus composition in various types of soils. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 37, 167-170
- Watanabe A, Sarno, Rumbanraja J, Tsutsuki K, Kimura M 2001: Humus composition of soils under forest, coffee and arable cultivation in hilly areas of south sumatra, indonesia. *Eur. J. Soil Sci.*, 52, 599–606.
- Watanabe A, Takada H 2006: Structural stability and natural ^{13}C abundance of humic acids in buried volcanic ash soils. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 52: 145-152.
- Yanagi Y, Hamaguchi S, Tamaki H, Suzuki T, Otsuka H, Fujitake N 2003: Relation of chemical properties of soil humic acids to decolorization by white rot fungus *Coriolus consors*. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 49, 201–206.
- Yang Y, Fang J, Smith P, Tang Y, Chen A, Ji C, He JS 2009: Changes in topsoil carbon stock in the Tibetan grasslands between the 1980s and 2004. *Global Change Biology*, 15(11), 2723-2729.
- Yang Y, Fang J, Tang Y, Ji C, Zheng C, He J, Zhu B 2008: Storage, patterns and controls

- of soil organic carbon in the Tibetan grasslands. *Glob. Chang. Biol.*, 14, 1592–1599.
- Yang Y, Guo J, Chen G, Yin Y, Gao R, Lin C 2009: Effects of forest conversion on soil labile organic carbon fractions and aggregate stability in subtropical China. *Plant and soil*, 323(1-2), 153-162.
- Yonebayashi K, Hattori T 1988: Chemical and biological studies on environmental humic acids. I. Composition of elemental and functional groups of humic acids. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 34, 571-584
- Yuan Y, Si G, Wang J, Luo T, Zhang G 2014: Bacterial community in alpine grasslands along an altitudinal gradient on the Tibetan Plateau. *FEMS microbiology ecology*, 87(1), 121-132.
- Zech W, Guggenberger G 1996: Organic matter dynamics in forest soils of temperate and tropical ecosystems. In A. Piccolo Ed. "Humic Substances in Terrestrial Ecosystems", pp. 101-170. Elsevier, Amsterdam.
- Zech W, Senesi N, Guggenberger G, Kaiser K, Lehmann J, Miano TM, Schroth G 1997: Factors controlling humification and mineralization of soil organic matter in the tropics. *Geoderma*, 79(1-4), 117-161.
- Zeliber JL, Romankiw L, Hatcher PG, Colwell RR 1988: Comparative analysis of the chemical composition of mixed and pure cultures of green algae and their decomposition residues by ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Appl. Environ. Microbiol.* 54, 1051-1060.
- Zhang W, Wu X, Liu G, Dong Z, Zhang G, Chen T, Dyson PJ 2014: Tag-encoded pyrosequencing analysis of bacterial diversity within different alpine grassland

- ecosystems of the Qinghai-Tibet Plateau, China. Environmental earth sciences, 72(3), 779-786.
- Zhang Y, Tang Y, Jiang J, Yang Y 2007: Characterizing the dynamics of soil organic carbon in grasslands on the Qinghai-Tibetan Plateau. Sci. China Ser. D Earth Sci., 50, 113-120.
- 宮崎明子 1971: 土壌試料の ^{14}C 年代測定結果と処理法の検討. 第四紀研究, 11, 159-164
- 熊田恭一 1972: 農業環境としての土壌. 科学, 42(9), 484-491.
- 熊田恭一, 佐藤修 1965: ポドゾル腐植の形態 P型腐植酸に関する研究 (第2報) 土壌肥料科学雑誌 第36巻 第12号 373-378
- 山野井徹 1996: 黒土の成因に関する地質学的検討. 地質学雑誌, 102(6), 526-544.
- 松本寿紀 2015. 母材および植生の異なる森林土壌における下層土の有機物特性. 修士学位論文
- 進藤晴夫 2013: III 黒色土壌有機物の生成・蓄積における腐植炭化物の役割, 日本土壌肥料学会編, 土と炭化物—炭素の隔離と貯留—, P57-97, 博友社.
- 足立嗣雄. 1973. 火山灰土壌の腐植に関する研究 -腐植組成の地域的差異について-. 農業技術研究所報告 24号 127-264
- 村本穰司, 後藤逸男, 蜷木翠 1992: 振とう浸出法による土壌の交換性陽イオンおよび陽イオン交換容量の迅速分析. 日本土壌肥料学雑誌, 63(2), 210-215.
- 渡邊彰, 池谷康祐 2013: IV 腐植物質の中の縮合芳香環, 日本土壌肥料学会編, 土と炭化物—炭素の隔離と貯留—, P104-126, 博友社.
- 筒木潔 1991: 「21世紀の土壌有機物研究」土肥通信 (北海道), 第92回, 9-19.
- 藤嶽暢英, 浅川大地, 柳由貴子 2012: ^{13}C NMR 並びに高速サイズ排除クロマトグラフ

ィーによる土壤腐植酸の特徴付け. 分析化学, 61(4), 287-298.

平館俊太郎, 井上弦 2013: I 土壤中における炭化物の存在: これまでの議論とこれからの展望, 日本土壤肥料学会編, 土と炭化物-炭素の隔離と貯留一, P9-26, 博友社.

本間洋美, 進藤晴夫 1997: 黒ボク土における炭化物の分布と腐植組成. 日本土壤肥料学雑誌, 68(6), 667-673.