ミニライゾトロンによる樹木細根の純生産の解析

里村 多香美^{*)}・中根 周 歩

広島大学大学院生物圏科学研究科

堀 越 孝 雄

広島大学総合科学部

要 旨： 森林の炭素循環において、樹木の根、特に細根の役割が重要であることが認識されており、細根の動態をより正確に数値化することが求められている。欧米では、この数十年の間に細根の動態を数値化するのに必要な、細根の純生産性の研究報告が増加した。それには、細根の純生産性の研究に有効な方法であるミニライゾトロン法の使用が大きく貢献している。ミニライゾトロン法とは、地中に中空で透明なチューブを埋設し、その中に超小型カメラを挿入して土壌中を観察するシステムである。日本では、農地生態系で一年生の作物を用いた研究にミニライゾトロン法が用いられてきている。しかし、日本の森林生態系での研究事例はなく、ミニライゾトロン法はまだなじみの薄い方法である。ミニライゾトロン法は、地中に埋設したチューブ（中空な透明管）内からチューブに接した土壌および細根の様相を画像として記録し、パーソナルコンピュータによって土壌中の細根を識別できるように画像を加工し、根長・投影面積などを解析する、という手順で行われる。その数値を変換・換算することによって、細根の純生産を概算することができる。細根密度が低い林分では多数の画像データを記録し解析する必要がある、その作業時間が非常に長くなることがあるため、解析作業の自動化が進められている。

キーワード： イングロウスコア法、細根の純生産、ミニライゾトロン法、ライゾトロン法、連続コアサンプリング法

はじめに

根は植物体の光合成産物の主要な消費先の一つと考えられている。根の成長と生成・枯死サイクルによって消費される炭素量は非常に大きく、樹木個体 (Kajimoto *et al.*, 1999) または林分 (Vogt *et al.*, 1982) の純生産の25-50%を占めることもある。したがって、樹木の whole plant physiology や生活史戦略そして森林の炭素循環を把握する上で、根に分配され消費される炭素の動態を定量化することは非常に重要である。それにもかかわらず、研究者が直接的に視覚でとらえることが困難な、土壌中の根の分布や量の調査を行うには多大な時間や労力を必要とすることが多い。このため、根に対する炭素分配やその動態を定量化した研究は地上部に比べて極めて少なかった。とりわけ、スケールの大きな生態系レベルでの研究において、その傾

向は顕著であった。最近では、大気中の二酸化炭素の増大とそれに伴う地球規模の温暖化問題を背景として、森林の炭素動態、その中でも、土壌中における炭素の動態をより正確に数値化していくことが重要であるという認識が高まっている。このような状況の中で、欧米の多くの研究者が生態系レベルで炭素循環における根の役割に関する研究を手がけている (Norby *et al.*, 2000)。しかし、日本では森林における研究例が少ないままであった。

根を経由して土壌に蓄積する炭素の動態の数値化には、1) 現在根が保持している炭素量（現存量）2) 一定期間内に根に固定された炭素量（根の純生産性；NPP_r, net primary productivity of roots）、3) 根の枯死によって土壌中にインプットされる炭素量（一定期間の枯死量）を求め、さらにこれらの値から、4) 根の

生成・枯死によって根に存在する炭素が入れ替わる速度（回転速度，ターンオーバータイム）を算出する必要がある．1)～4)の値を求める際に，樹木の根はモジュールごとに区分される．さらに各モジュールは，太さ（直径）などを指標にサイズごとに区分する必要がある．なぜなら，地上部の茎（幹と枝）に見られるように根においてもサイズによって生成・枯死速度が異なるためである．通常，最も細い根の区分を細根と呼んでおり，その定義は直径2mm以下，5mm以下など，対象とする植物や研究の目的によって異なっている（Gill and Jackson, 2000）．

林分の現存量における細根の割合は2～9%と必ずしも多くないが，林分の純生産における細根の寄与率は30～54%と極めて大きい（Vogt *et al.*, 1982）．このことは，木質化しない細根のターンオーバーが速いことによって生じる．従って，細根を経由して土壤に流入する炭素の動態の数値化には，現存量の把握だけでなくターンオーバータイムの算出が重要となる．ターンオーバータイムの算出に必要な要素であるNPP_rについての調査報告数は，この十数年で最も飛躍的に増加した．それには，細根の純生産性の研究に有効な方法の一つ，ミニライゾトロン法（minirhizotron method; 以下 MR 法と略す）に用いる機器の発達が貢献している．本稿では，MR 法の特徴や必要な機器についてレビューし，以前から細根の純生産性の研究に用いられている代表的な3つの研究方法と比較する．また，著者らの経験を踏まえつつ MR 法の研究手順を紹介し，MR 法で得られたデータから細根の純生産性を算出する方法について述べる．

ミニライゾトロン法の発達

アクリル製またはガラス製の中空で透明なチューブを地中に埋設し，チューブの中に光ファイバーや CCD カメラ（charge coupled device camera；カメラでとらえた光を電気信号に変換し，映像を映すシステム）を挿入し，透明なチューブの外壁と土壤の境界に現れる根を観察するシステムである（第1図）．画面に現れた根の数，画面あたりの投影面積（ $\text{mm}^2 \text{mm}^{-2}$ ），根長（ $\text{mm} \text{mm}^{-2}$ ）と根の直径（mm）のデータを得ることができる．投影面積や根長を深さ別に示すことで，根系到達深度（または垂直分布）を，さらに，林分に埋設するチューブの数を増やすことで，細根の水平分布を把握することができる．また，根のアーキテクチャーも解析することができる．ミニライゾトロン法という呼称は，側面にガラスを張った地下道または地下室で根

第1図 ミニライゾトロン法で用いる観察用のアクリルチューブと観察機器（Minirhizotron BTC-100X; Bartz Technology 社, USA）の模式図．レンズの視野は，1.5×1.8cmである．コントロールボックスでは，UV-白色光の切り替え，光強度の調節，ピント合わせ，ズームイン・ズームアウトを制御する．コントロールボックスをパソコンまたはビデオに連結させ，画像を撮影する．

の観察を行う「ライゾトロン法（rhizotron method; 以下 R 法と略す）」というシステムにちなんで命名された（Böhm, 1974）．MR 法という考え方自体は，1930年代後半に Bates（1937）によって提唱されていたが，当初はあまり利用されていなかった．1980年中頃から，小型で高性能のカメラと小型のビデオ，さらに，画像データをデジタル処理するのに十分な性能を持ったパーソナルコンピュータ（パソコン）などが使用可能になり，耕地の作物を中心に MR 法が実用化され，多くの研究が行われるようになった（Taylor, 1987; Majdi, 1995）．1990年代に入ると，MR 法を森林に適応した Hendrick and Pregitzer（1992, 1993）の研究をはじめとし，MR 法を用いた樹木の細根調査の報告が次々と行われてきた．

細根の純生産の研究方法

細根の純生産の研究方法として，R 法と MR 法，連続コアサンプリング法（sequential core sampling method；以下 SCS 法と略す）とイングロウスコア法（ingrowth core method; 以下 IC 法と略す）が用いられている（第1表）．SCS 法とは，円柱型のコアサンプラーによって土壤の塊を採取して篩にかけ，手作業によって根を選別し，水洗い後，根の長さや乾燥重量を測定する方法である．同じ調査地で異なる時期に頻

第1表 細根の純生産の調査方法の特性^a

特性\方法名 ^b	MR法	R法	SCS法	IC法
機器・設備費用(万円)	300-500	1000<	<20	<50
森林での使用 ^c	++	+	++	++
データの反復 ^d	○	×	○	○
長期調査 ^c	+++	++	+	+
調査地の攪乱 ^e	+++	+++	+	++
定点観察 ^d	○	○	×	×
観察面の大きさ ^f	+	++	-	-
調査項目 ^c				
現存量	+	-	+++	+++
純生産	+++	+++	++	++
枯死量	+++	+++	-	+
根の分布パターン	++	++	+	-

^a MR法とR法の比較は, McMichael and Taylor(1987)と平沢(1996)を, MR法とSCS法, IC法の比較は, Majdi(1996b)とVogt *et al.*(1998)を参照.

^b 調査方法は, MR法:ミニライゾトロン法, R法:ライゾトロン法, SCS法:連続コアサンプリング法, IC法:イングロウスコア法の略号で示す.

^c 非常に適性の高いものから順に +++, ++, + 適さないものを - で示す.

^d データの反復や定点観察が可能なものを ○, 不可能なものを × で示す.

^e 調査地の攪乱の程度が低いものから順に, +++, ++, +, - で示す. M法とMR法は, 観察用の機器設置後の攪乱の程度を示す.

^f 観察面の大きいものは ++, 小さいものは +, 直接観察ができないものは - で示す.

繁に根を採取し, 生きた根と死んだ根を選別するとともに量を求め, 生成量に換算する. 計算方法の比較は, Vogt *et al.*, (1998) 参照. IC法は, 土壌を採取した後に根を除いた土だけを埋め戻し, 後日掘り返して新たに伸長した根の量を測定し, 生成量と見なす.

R法とMR法はともに, 根, 土壌間隙, 土壌動物, 根粒, 菌糸体などの土壌中の様々な要素を直接観察することが可能で, 観察機器の設置後は非破壊的に同一箇所での継続調査を行えるという利点がある. すなわち, 土壌中に根が出現し, 枯死し, 分解される過程を追跡調査することが可能である. それに対して, 破壊的方法であるSCS法とIC法ではこの過程を直接調査することはできない(第1表). また, 土壌を頻繁にあるいは多量に採取することによって, 細根の傷害と損失, さらににはその補償成長を招き, 細根量を過少または過大評価することがある(Vogt *et al.*, 1998). しかし, 林分の純生産性

の表現に不可欠な3次元的な広がりを持ったパラメーター(根長密度, mm mm^{-3} ; 根重密度, g mm^{-3} など)の直接的な定量に適しており, 調査に必要な機器は安価であるという利点もある. これらの特性を考慮すると, 非破壊的な調査方法であるR法とMR法は, 観察用の機器埋設後の調査地の攪乱が少ないため長期間の調査や生成・枯死課程の調査に向いている方法であるといえる. しかし, R法とMR法では3次元的のパラメーターを直接得られないため, 数値の変換作業を要する. また, R法およびMR法では, 透明なチューブと土壌の接する面という特殊な環境で土壌面を観察しているため, その影響が現れることがある. 例えば, コアサンプリング法(core sampling method)に比べ細根の密度は表層土壌で減少し, 深層土壌で増加することがある. その理由として, チューブ面の温度上昇, 光のもれなどが挙げられており(Smit *et al.*, 2000), 注意を要する.

第2図 コアサンプラーを改良したタイプの埋設機器 (Bartz Technology 社, USA).

埋設作業は、二人一組になって行う。一人がグリップを持って埋設機器を支え、もう一人がハンマーを撃ち下ろすことで、細長い円柱形の穴を掘削する。

第3図 定位置連続観察用操作器具の概要。

観察用のアクリルチューブの上部に数カ所穴をあけ、その穴にカメラ位置操作器具 (Bartz Technology 社, USA) を取り付け、パイプの横方向にカメラがずれるのを防ぐ。カメラ部分の上方には、目盛付きのガイドが取り付けられている。そのガイドのガイド穴にカメラ位置操作器具を取り付け、パイプの縦方向にカメラガイドをスライドさせることで、1cm間隔の定位置で土壌中を観察することが可能になる。

MR 法は、R 法に比べ比較的安価で、設置による攪乱を極力減少し、容易に反復を増やすことができる利点がある。反面、MR 法は R 法よりも観察面が小さいという欠点があり、観察に必要なチューブの数や観察画面数を増やすことで補っている。観察に必要なチューブの数や画面数は、林分の樹種構成や齢で変化する細根密

度に大きく左右される。著者が現在解析しているデータでは、アカマツ林 (広島県東広島市、廿日市市) は冷温帯落葉広葉樹林 (岐阜県高山市) に比べ非常に細根密度が低く、一林分に20本ものチューブを埋設する必要があった (未発表)。取り扱う画面の数が多くなれば、MR 法もその他の方法と同様、多大な時間を必要とす

る場合がある (Rygiewicz *et al.*, 1997)。

ミニライゾトロン法に必要な機器

MR 法の研究は、①チューブの埋設 → ②画像データの記録 → ③根を識別できるように画像を加工する → ④加工した画像から根長・投影面積などを解析する、という手順で行われる。MR 法に必要な機器・器具は、地中に埋設する透明なチューブ、チューブを埋設する機材、チューブの外壁に現れた根を観察するための装置 (CCD カメラやファイバースコープ)、観察画像の記録装置、画像の加工と解析用に用いるパソコンとソフトウェア、がある。透明なチューブと根を観察する装置はセットで製品化・販売されており、国内で入手可能なものは、根の観察に CCD カメラを用いた Minirhizotron シリーズ (Bartz Technology 社, USA) やスキャナーを使用した CI-600 Soil Profile Scan System (CID 社, USA) がある。日本での販売元は、それぞれ盟和商事 (東京)、アースサイエンス社 (東京) である。機器が製品化されていない頃 (岩間・仲田, 1987) や製品化されている機器より安価に揃えたい場合 (Poelman *et al.*, 1996) は、必要な部品を集め、自分で組み立てて使用している。以下に MR 法に必要な機器・器具の説明をする。

透明なチューブ：土壌に埋設する透明なチューブは、ガラス (Pyrex) やアクリル (Perspex, Plexiglas) 製の外径5cm程度の円筒形、ときに直方形 (Poelman *et al.*, 1996) が使用される。礫や土壌間隙の多い地形では、チューブの外側に透明なポリビニル製のシートをかぶせチューブとシートの間に空気を入れて加圧するという工夫が行われている (Merrill *et al.*, 1987; Merrill, 1992)。このシステムをさらに改良して、直方形の骨組みを作り、内側に透明なゴム製のチューブを入れ加圧して、チューブの外側を観察する方法も考案されている (Gijssman *et al.*, 1991)。

チューブ埋設用の器材：チューブ埋設時の攪乱の影響を最小限にするために、チューブと同様な形の穴を掘る埋設用の器具や装置が用いられている。コアサンプラーを改良したタイプ (第2図) と大型の油圧式コア採取機械 (Box Jr. *et al.*, 1989) がある。森林で調査を行うときには、埋設時の周囲の攪乱が少なく、持ち運ぶことができるコアサンプラーを改良したタイプが適切である。

根を観察する装置：ファイバースコープや CCD カメラ、スキャナーなどが用いられて

いる。暗いチューブの内部からチューブに外接する土壌面を観察するため、カメラの側に光源を取り付ける必要がある。さらに、定位置を連続観察するための操作器具 (第3図) も必要である。

観察画像の記録装置：観察画像の記録には、ビデオカメラやビデオカセットレコーダー、パソコンなどが使用されている。現場で画面を確認しながら記録できる機器が望ましい。なぜならば、焦点があっていない、明るさが足りない、チューブの内側が結露している、といった原因で画像が不明瞭になっているか確認する必要があるためである。チューブの内側が結露している場合、乾いたタオルなどで水滴を拭き取ることで、明瞭な画面が得られる。

画像の加工と解析用のパソコンとソフトウェア：画像の解析は、パソコンで行うことが多い。現在、市販されている程度の性能を持ったパソコン (CPU, Pentium II ; ハードディスク, 4G ; メモリ, 64M 以上) ならば、どの機種でも解析は可能である。しかし、画像の数が膨大でサイズも大きいため、作業効率を考えると、できる限り CPU の速度が速く、大容量のメモリやハードディスクを積載していることが望ましい。MR 法で得られた根の画像の加工・解析を目的に作成された専用のソフトには、ROOT (Hendrick and Pregitzer, 1992), RHIZO (Regent Instruments Inc.,

第4図 アカマツ林における観察用チューブの埋設方法の一例。

6×6m の調査地を1×1m のサブプロットに分け、ランダムに選んだ20個のサブプロットのほぼ中心にチューブを埋設した。

第5図 観察用アクリルチューブの模式図。

チューブの上方には、カメラ位置固定孔を3カ所あけた。チューブの地上に露出した部分はガムテープを巻いて遮光した。また、観察を行わないときは雨や昆虫が入らないように、ガムテープと塩化ビニル製のパイプで作成したキャップをかぶせた。

Canada) などがある。専用のソフトウェアより作業が複雑で時間がかかるが、市販のソフトウェアである Photoshop (Adobe Co, USA) を用いて記録画像を加工し、米国国立衛生研究所が制作したフリーの解析用ソフト NIH Image を使用して投影面積・根長などの値をより正確に解析することができる。

ミニライゾトロン法の研究手順（アカマツ林の場合）

それでは、著者らが広島大学構内のアカマツ林で研究している方法を具体的に紹介する。

1) 観察用のチューブの埋設

林分における細根の空間的なばらつきを把握し、林分一定面積あたりの細根の現存量や純生産を求めることができるように、アカマツの調査林分（6×6m）を36個の1×1m のサブプロットに区切り、20個のサブプロットをランダムに選んでチューブの埋設位置を決定した（第4図）。アクリルチューブを設置する前にチューブの上部にカメラ位置固定孔を3ヶ所作成し（第5図）、チューブの側面3方向で観察できるようにした。埋設用機器（第2図）を地表面に対して45度の角度（細根の伸長成長をあまり妨げない角度）に傾け、選定したサブプロットのほぼ中心に直径約5cm、長さ30-40cmの円柱形の穴を掘り取り、即座に観察用のチューブを埋設した。埋設用機器で掘り取った後2分以上時間をおいてしまうと穴の外壁の土壌が崩れて穴を

塞ぎ、チューブの埋設が困難であった。チューブの地上に出ている部分は、ガムテープと塩化ビニル製のキャップを用いて遮光した（第5図）。通常、調査を継続している間は、定点で非破壊的に継続調査を行うためには、チューブは埋設したままにしている。チューブは、調査開始時から現在まで2年ほど調査地に埋設したままの状態であるが、劣化・損傷する事はなかった。

2) 細根の画像の観察と記録

観察頻度が極端に低下すると、以前観察したときから次に観察するときまでの間に生成・枯死した細根の量は不明であり、この値が含まれないため、生成量を過小評価することがある (Rygiewicz et al., 1997)。観察頻度は、著者らは、冷温帯落葉広葉樹林では約1.5ヶ月に一度、アカマツ林では約2ヶ月に一度観察を行っている。

実際の観察手順を説明する前に、著者らが使用しているミニライゾトロン (Minirhizotron BTC 100X; Barts Technology Corporation, USA) のシステムを紹介する。

カメラ：CCD カメラ (494×768pixels)

レンズ：倍率15-100倍。15倍と100倍で観察した場合の視野は、それぞれ1.5×1.8, 0.2×0.3 (縦×横) cmである。

光源：白色ランプが4つ、UV ランプが2つ、ランプの切り替え、光強度の調節可。

スピーカー：モノラルスピーカー (用途は以下参照)

電源：12V の DC 電源または家庭用 AC 電源 (50Hz, 60Hz)

出力：映像 S-VHS, 音声ピンジャック1つ

画像の記録には、S-VHS 接続の可能な媒体 (以下を参照) を連結させる必要がある。また、音声を記録したいときには、ピンジャック接続できる媒体が必要である。

記録手順項目には、①ミニライゾトロンと記録媒体を接続する、②チューブ内壁の結露した水滴を拭く、③カメラをチューブに固定する、④チューブ長軸方向の長さ1cmにつき1画面ずつ画像を記録する (チューブ長軸方向の長さ1~20cmの位置で画像を記録する場合、20画面記録することになる)、⑤次のチューブに機器一式を移動する、がある。チューブを20本埋設し、1本のチューブに3つのカメラ位置固定孔をあけた場合は、①→②→③→④×3回繰り返す→⑤×20回繰り返す、という手順で作業を行う。野外で画像を確認し記録する媒体として、携帯に適した小型のパーソナルコンピュータ (Lobletto 1010 SS, Toshiba; 以下携帯用パソ

第2表 使用したノートパソコンとビデオの特徴と画像の記録状況に関する比較

特徴\機器	ノートパソコン ^a	ビデオカセットレコーダー ^b
機器の特徴	OS: Microsoft Windows 98 CPU: Pentium(r) Processor RAM: 64.0 MB 6.1型 TFTカラー液晶 ハードディスク	小型で、録画・鑑賞・編集の できるモニター付きデジタル ビデオカセットレコーダー 5.5型 TFTカラー液晶 MiniDV
モニター		
記録媒体(メディア)		
ミニライゾトロンとの接続		
画像	S-VHS → シリアル・PS/2 ^c	S-VHS
音声	-	ピンジャック
金額(万円)	20	35
画質 ^d		
モニター(野外)	×	◎
記録画像	○	◎
作業時間		
野外 1画面の記録(①)	80 秒 ^e	001 秒
チューブ1本の記録(②) ^f	192 分 ^e	011 分
室内 ^g 1画面の記録(③)	-	080 秒 ^e
60画面(チューブ1本)の記録(④) ^h	-	080 分 ^e
野外 + 室内(② + ④)	192 分	191 分

^a Lobletto 1010 SS(Toshiba)を用いた場合。

^b VIDEOWALKMAN GV-D900(SONY)を使用した場合。

^c ミニライゾトロンとパソコンの接続にはSnap View II JSV-02 (Justy Co., 日本)を用いた。

^d 画質がよい方から、◎:非常に良好、○:良好、×:不良、を示す。

^e 1600×1200 pixels で保存した場合。

^f チューブ1本の記録時間 = (チューブ内壁の結露取り(2分) + カメラをチューブに固定(1分) + ①×20画面)×3列 + 移動(1分)、で算出。

^g ビデオ→パソコンへの再記録に必要な時間。ビデオとパソコンの間に Snap View II JSV-02 (Justy Co., 日本)をシリアル・PS/2接続で取り付けた。

^h 60画面の記録時間 = ①×20画面×3列、で算出。

コンという)またはモニター付きデジタルビデオカセットレコーダー(VIDEOWALKMAN GV-D900, SONY)を使用し、比較を行った(第2表)。携帯用パソコンの液晶モニターは、太陽光のもとで(散乱光でさえも)極めて不鮮明で、現場で画像を確認するには不向きであった。記録する画像の解像度を1600×1200pixels(原画像として望ましい解像度)に設定した場合、一画面あたりの記録には80秒必要であった。それに対して、モニター付きビデオカセットレコーダーのモニターは太陽光(直射光、散乱光)のもとでも画像が鮮明で画面の確認が容易であった。また、ビデオカセットレコーダーでは音声の収録ができるため、ミニライゾトロンとマイクを接続し、画面の識別番号を読み上げながら瞬時に記録することが可能であった。そのため、ビデオカセットレコーダーでは携帯用パソコンの約1/10の時間でチューブ一本分の画像を記録できる(第2表)。ミニライゾトロンやパソコン、ビデオ等は、他の電子機器と同様、雨天時に野外で使用することはできないため、

データを採取するための日程は天候に左右される。複数の調査地で同じ時期にデータを採取し比較する場合は、雨天時に作業が中断し、調査地間でのデータの採取時期がずれないように野外の作業時間はできるだけ短縮する必要がある。その場合には、パソコンよりもビデオカセットレコーダーのほうが調査地での画像の記録装置として適している。しかし、画像の解析はパソコンで行うため、ビデオカセットレコーダーで記録した画像は、その後、パソコンに再記録するという室内での作業が必要になる。野外の作業時間とビデオカセットレコーダーからパソコンに再記録する室内での作業時間の合計を比較した場合、パソコンのみとビデオカセットレコーダー+パソコンによる記録に必要な作業時間はほとんど変わらなかった(第2表)。これらの結果から、野外で画像を確認するためのモニター画面の鮮明度と野外における画像記録の作業時間の短縮化の面から、著者らは、ビデオカセットレコーダーを用いて記録し、パソコンに再記録するという手順を用いている。

第6図 画像解析前の処理画像.

a) 明るさやコントラストを調整して、根の画像を明瞭にした画像（倍率15倍で記録）. b) アカマツ（*Pinus densiflora*）の菌根が存在する部分を拡大した画像. c) b) に透明なシート（レイヤー）を重ね、赤で着色した菌根の画像. d) c) から背景を消去した菌根の画像.

今後、高性能な小型パソコンを使用し、ミニライゾトロン画像出力システムの改良（例えば、IEEE1394接続にすること）を行った場合、この作業の時間を短縮する事ができると考えられる.

3) 画像の加工と解析

パソコンが根を識別できるように画像を加工するためのソフトウェアには、Adobe Photoshop (Adobe Co, USA) を用いた. まず、根の部分が明瞭になるように、画面全体の明るさやコントラストを調整した（第6a図）. 根のある部分の拡大図が第6b図である. 次に、画像の上にレイヤーと呼ばれる透明なシートを重ね、パソコン上で根を手動でトレースし、着色した（第6c図）. そして、根の画像のレイヤーのみを取り出し（第6d図）、TIFF形式で保存した.

米国国立衛生研究所で開発されたフリーのソフトウェア NIH Image によって TIFF 形式の根の画像を解析し、画面あたりの根の周長（mm

mm⁻²）を求め、周長/2から画面あたりの根長（mm mm⁻²）を算出した. この値を用いて、下記の方法で純生産性を算出することが可能である.

ミニライゾトロン法で得られたデータから細根の純生産を求める

通常林分の純生産は、単位時間に生産される単位土地面積あたりの重量（kg ha⁻¹ yr⁻¹）で表されるが、ミニライゾトロン法で得られたデータは観察画面あたりの根の長さ（cm cm⁻²）という二次元のデータまたは観察された根の数である. それゆえ、この値から純生産を求めるには、①2次元の根長密度（cm cm⁻²）から3次元の根長密度（cm cm⁻³）に変換、②根長密度（cm cm⁻³）から根重密度（g cm⁻³）に変換し、さらに、これらの値から、③細根の純生産（またはターンオーバー）を求めることができる. 以下

にその方法を示す。

- ①根長密度を2次元から3次元に変換；この変換には、二つの方法が試みられている。

第一の方法は、コアサンプリング法によって得られた根長密度 (cm cm^{-3}) と、ミニライゾトロン法によって観察した根の長さまたは根の数との関係を求め、その関係式から換算する (Thomas *et al.*, 1996; Ephrath *et al.*, 1999), という方法である。木本植物 (アカシア; *Acacia saligna*) と草本植物 (コムギ; *Triticum aestivum* L.) で研究を行った Ephrath *et al.* (1999) の報告では、種に関わらず、根長密度 (X , cm cm^{-3}) と根の数 (Y) との間の関係は、 $Y=9.4723+25.543X$ ($R^2=0.62$, $P<0.001$) という直線回帰式で示すことができると記されている。

第二の方法に、観察している画面の奥行きを入力する (Cheng *et al.*, 1991) という方法がある。この場合、根長密度 (RLD) (cm cm^{-3}) は、下記の式によって求められる。

$$\text{RLD}=L/(A \times D)$$

L は測定した根の長さ (cm)、 A は観測に用いた画面の面積 (cm^2)、 D はチューブの外壁から根が観察された土壌面までの距離 (根の観察できる土壌面の奥行き) (cm) である。 D の値は、土壌条件や樹種構成によって変化する (Cheng *et al.*, 1991)。

- ②根長密度から根重密度に変換；この変換には、あらかじめ細根を採取して根長と乾燥重量を測定し、根の根重/根長比 (K , g cm^{-1}) を算出しておく必要がある。この値と上述の方法で求めた根長密度を次式に当てはめることにより、根重密度 (RWD) (g cm^{-3}) を求めることができる。

$$\text{RWD}=KX_n$$

X_n は、土壌深度別の細根の根長密度 (cm cm^{-3}) である。

- ③細根の純生産またはターンオーバーの算出；細根の観察を行ったすべての深さにおける RWD を合計すると、単位土地面積あたりの細根量 (g cm^{-2}) を得ることができる。

ミニライゾトロン法を用いた定位置での観察から、時間 $T1$ には存在していなかったが $T2$ において存在した細根 ($T1 \sim T2$ の間に生成した細根) の長さや数を上記の方法で変換し、さらに単位土地面積あたりの細根量

(kg ha^{-1}) に換算することで、時間 $T1 \sim T2$ 間における単位土地面積あたりの細根の純生産 (kg ha^{-1}) を得ることができる。 $T1 \sim T2$, $T2 \sim T3$, ... と年に何度も観察し、年間の値を合計して年間の純生産 ($\text{kg ha}^{-1} \text{ yr}^{-1}$) として示す。以前観察したときから次に観察するときまでの間に生成・枯死する細根がある場合は過小評価となってしまうので、できるだけ観察頻度を増やす必要がある。また、時間 $T1$ には存在したが $T2$ には存在していない細根 ($T1 \sim T2$ の間に枯死・分解した細根) の長さや数を純生産性と同様に交換・換算する事で、単位土地面積あたりの細根の枯死・分解量 ($\text{kg ha}^{-1} \text{ yr}^{-1}$) を求めることもできる。

今後の展望

機器の発達によりミニライゾトロン法は細根の純生産の研究に用いられてきているが、まだまだ改良すべき点も多い。まず、斜面の急な森林内でミニライゾトロンの機器を持ち歩くためには、より小型で軽量の機器の開発を進めていく必要がある。また、CCD カメラを用いたミニライゾトロンのシステムでは観察範囲が小さいため多数の反復が必要である。従って、細根が粗に分布する林分では非常に多数の画像の記録を迫られ作業に膨大な時間を要する。作業時間の短縮・自動化が今後の課題である。現在、複数の研究者が根の画像の加工と解析を自動化することを試みており (Richner *et al.*, 2000), その成果が期待される。

謝 辞

本研究の解析手法の開発にあたって、久米篤博士、そして小椋聡子、脇田太、松橋和哉の各氏のご協力を受けた。橋本靖博士と小泉博博士には、調査地の提供と野外測定の便宜を取りはからっていただいた。本原稿の作成において、小林剛博士のご助言をいただいた。本研究の一部は科学技術振興事業団 (JST) 戦略的基礎研究推進事業 (CREST) の支援を受けた。

引用文献

- Bates, G.H. 1937. A device for the observation of root growth in the soil. *Nature* 139: 966-967.
 Böhm, W. 1974. Mini-rhizotrons for root observations under field conditions. *Z. Acker und Pflanzenbau* 140: 282-287.
 Box Jr., J.E., Smucker, A.J.M., Ritchie, J.T. 1989. Minirhizotron installation techniques for investigating

- root responses to drought and oxygen stresses. Soil Sci. Soc. Am. J. 53: 115-118.
- Cheng, W., Coleman, D.C. and Box Jr., J.E. 1991. Measuring root turnover using the minirhizotron technique. Agric. Ecosys. Environ. 34: 261-267.
- Ephrath, J.E., Silberbush, M., Berliner, P.R. 1999. Calibration of minirhizotron readings against root length density data obtained from soil cores. Plant Soil 209: 201-208.
- Gijsman, A.J., Floris, J., Van Noordwijk, M., Brouwer, G. 1991. An inflatable minirhizotron system for root observation with improved soil/tube contact. Plant Soil 134: 261-269.
- Gill, R.A., Jackson, R.B. 2000. Global patterns of root turnover for terrestrial ecosystems. New Phytol. 147: 13-31.
- Hendrick, R.L., Pregitzer, K.S. 1992. Spatial variation in tree root distribution and growth associated with minirhizotrons. Plant Soil 143: 283-288.
- Hendrick, R.L., Pregitzer, K.S. 1993. Patterns of fine root mortality in two sugar maple forests. Nature 361: 59-61.
- 平沢正 1996. リゾトロンとミニリゾトロン. 根の事典, 朝倉書店. pp.384-386.
- 岩間和人, 仲田昭一 1987. 内視鏡によるバレイショ根の観察. 日作紀 56: 411-412.
- Kajimoto, T., Matsuura, Y., Sofronov, M.A., Volokitina, A.V., Mori, S., Osawa, A., Abaimov, A.P. 1999. Above- and Belowground biomass and net primary productivity of a *Larix gmelinii* stand near Tura, central Siberia. Tree Physiol. 19: 815-822.
- Majdi, H. 1996a. Selected papers of the minirhizotron workshop. Plant Soil 185: 253-309.
- Majdi, H. 1996b. Root sampling methods - applications and limitations of minirhizotron technique. Plant Soil 185: 255-258.
- McMichael, B. L. and Taylor, H. M. 1987. Applications and limitations of rhizotrons and minirhizotrons. In Taylor ed., Minirhizotron observation tubes: methods and applications for measuring rhizosphere dynamics, ASA Special Publication No. 50, USA. pp1-13.
- Merrill, S.D., Doering, E.J., Reichman, G.A. 1987. Application of a minirhizotron with flexible, pressurized walls to a study of corn root growth. In Taylor ed., Minirhizotron observation tubes: methods and applications for measuring rhizosphere dynamics, ASA Special Publication No. 50, USA. pp131-143.
- Merrill, S. D. 1992. Pressurized-wall minirhizotron for field observation of root dynamics. Agron. J. 84: 755-758.
- Norby, R.J., Fitter, A.H. and Jackson, R.B. 2000. Root dynamics and global change: an ecosystem perspective. New Phytol. 147: 1-232.
- Poelman, G., Van de Koppel, J. and Brouwer, G. 1996. A telescopic method for photographing within 8×8 cm minirhizotrons. Plant Soil 185: 163-167.
- Richner, W., Liedgens, M., Bürgi, H., Soldati, A., Stamp, P. 2000. Root image analysis and interpretation. In Smit *et al.* eds. Root Methods. Springer, Germany. pp305-341.
- Rygiewicz, P.T., Johnson, M.G., Ganio, L.M., Tingey, D.T., Storm, M.J. 1997. Lifetime and temporal occurrence of ectomycorrhizae on ponderosa pine (*Pinus ponderosa* Laws.) seedlings grown under varied atmospheric CO₂ and nitrogen levels. Plant Soil 189: 275-287.
- Smit, A.L., George, E., Groenwold, J. 2000. Root observation and measurements at (transparent) interfaces with soil. In Smit *et al.* eds. Root Methods. Springer, Germany. pp235-271.
- Taylor, H.M. 1987. Minirhizotron observation tubes: Methods and applications for measuring rhizosphere dynamics. ASA Special Publication Number 50, USA. pp1-143.
- Thomas, S.M., Whitehead, D., Adams, J.A., Reid, J.B., Sherlock, R.R., Leckie, A.C. 1996. Seasonal root distribution and soil surface carbon fluxes for one-year-old *Pinus radiata* trees growing at ambient and elevated carbon dioxide concentration. Tree Physiol. 16: 1015-1021.
- Vogt, K.A., Grier, C.C., Meier, C.A., Edmonds, R.L. 1982. Mycorrhizal role in net primary production and nutrient cycling in *Abies amabilis* ecosystems in western Washington. Ecol. 63: 370-380.
- Vogt, K.A., Vogt, D.J., Bloomfield, J. 1998. Analysis of some direct and indirect methods for estimating root biomass and production of forests at an ecosystem level. Plant Soil 200: 71-89.

Title: Analysis of fine-root net primary productivity of trees using minirhizotron method

Authors: Takami SATOMURA, Kaneyuki NAKANE and Takao HORIKOSHI