

根圈動態研究における非破壊分光画像計測の可能性

中路 達郎¹・野口 享太郎²・小熊 宏之³

1. 北海道大学 北方生物圏フィールド科学センター

〒053-0035 北海道苫小牧市高丘 北海道大学 苫小牧研究林

2. 独立行政法人 森林総合研究所四国支所

〒780-8077 高知県高知市朝倉西町 2-915

3. 独立行政法人 国立環境研究所 環境計測研究センター

〒305-8506 茨城県つくば市小野川 16-2

Potential of non-destructive spectral imaging for study on rhizosphere dynamics

Keywords: hyperspectral reflectance; image analysis; near-infrared; root growth

Tatsuro Nakaji¹, Kyotaro Noguchi², Hiroyuki Oguma³

1. Field Science Center for Northern Biosphere, Hokkaido University

Tomakomai Experimental Forest, Takaoka, Tomakomai, Hokkaido 053-0035, Japan

2. Shikoku Research Center, Forestry and Forest Products Research Institute

2-915, Asakuranishimachi, Kochi 780-8077, Japan

3. Center for Environmental Measurement and Analysis, National Institute for Environmental
Studies

16-2, Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-8506, Japan

1. はじめに

植物の根、特に一般に直径 2mm 未満で定義される細根は、養分や水分の吸収といったその機能も植物生理学的に重要であるが、それだけでなく、土壤への有機物供給源としても重要性が指摘されている (De Kroon & Visser 2003)。各地の森林の研究例では、系全体の純一次生産の 2 割～6 割が細根の生産にあたると報告されており、その幅は非常に大きい (Keyes & Grier 1981, Vogt et al. 1982, Jackson et al. 1997, Kajimoto et al. 1999, Janssens et al. 2002, Xiao et al. 2003)。このため、この生産幅の原因を細根の成長と枯死・分解といった動態の理解に基づいて解明することは、森林の炭素循環の現状と将来を評価・予測するためにも重要である。しかしながら、対象物が地下にあることもあって、細根の動態を野外で計測するのは容易ではない。細根の代表的な観測手法には、根自体を直接掘り起こして計測する手法 (コアサンプリング法、イングロースコアサンプリング法など) と、カメラ等を用いて地中の画像を撮影し、その消長を非破壊的に計測する手法がある (ルートウィンドウ、ライゾトロン法など) (Smit et al. 2000, Satomura et al. 2007, Neumann et al. 2009)。前者は掘り起こした根を分析するため、バイオマスの測定や成分分析などを行える反面、植物体と周囲の土壤を破壊して

しまうので、野外での連続観測に難がある。一方、後者の画像計測法では透明な樹脂製の観測窓を地中に埋設して小型カメラで周囲を定期的に撮影し、おもに細根の伸長速度や表面積成長を測定する。この手法は、バイオマスを定量するには向いておらず、埋設時の搅乱影響が軽減するまでの一定の時間を要するものの、その後は対象を破壊しないため連續した動態観測を行えるメリットがある。炭素循環などを扱う研究では、定期的に観測した根のバイオマスとその成長速度をもとに、細根の生産や枯死のターンオーバー係数を計算し、地中の炭素貯留速度を評価する。系内で新たに発生した根の生産量と根の現存量とのバランスは生産ターンオーバー、枯死した根と現存量のバランスは枯死ターンオーバーと呼ばれ、画像計測に基づく解析では、それぞれ観測ウィンドウ内の根の伸長速度、消長速度を根長密度の年間最大値で割った値として計算される (Gill & Jackson 2000, Gill et al. 2002)。非破壊計測で定期的に得られるこれらの値は植物の生理生態機能や炭素循環プロセスの理解にとって非常に重要であり、小型の CCD カメラと地中に埋設した透明管を使ったミニライゾトロン法の普及とともに 1980 年代から広く研究されている (Hendrick & Pregitzer 1992, Heeraman et al. 1993, Smit et al. 2000, Majdi & Öhrvik 2004, Noguchi et al. 2004, Satomura et al. 2007)。例えば、温暖地域の高い呼吸活性を樹木根の動態に注目した研究では、維持呼吸などのコスト増による枯死根の増加とターンオーバーの上昇が観察され、温暖化などの環境変動と合わせた動態の解析が注目されている (Hendrick & Pregitzer 1993)。

画像観測の機材に関しては、Bartz Technology 社や C.I.D.社 (ともに米国) による市販のミニライゾトロンシステムがあるが、近年は OA 機器のフラットベッドスキャナーを利用した観測方法が経済性や安定性からも有用な手法として提案されており (Dannoura et al. 2008)、根圈動態の研究における画像計測は一般的な研究手法となってきている (図 1)。しかしながら、ミニライゾトロン法を含む画像計測法にもいくつか課題があり、根と観察窓の素材の相性、水分や熱などの地中環境の搅乱といった現場での課題、何よりも撮影された根の種類や生死、理化学性の判断の困難さが従来から指摘され続けている。本稿ではこのうち、特に根の分類や理化学性の推定に注目し、その一助として最近有望視されている分光画像計測を取り入れた新しい手法の可能性について紹介する。

2. 分光計測のメリット

分光画像の撮影による生態観測は食品や医療分野、リモートセンシング研究などで幅広く利用されている。野外観測を得意とするリモートセンシングでは、植物の葉や群落を対象にした可視～短波長赤外領域 (およそ 400～2500nm) の連続分光反射率の画像計測により、植物と土壤の分離 (Daughtry 2001, Jones & Vaughan 2010)，植物組織の色素や構造、養分元素濃度や水分、リグニンあるいはセルロースなどの化学組成などの評価が行われている。これは、すべての物質は固有の分光特性 (波長ごとの吸収・反射・透過) をもち、たとえば生体組織と土壤、若い組織と古い組織などを比較すると異なる分光特性を持つといった原理に基づいている (光学リモートセンシングの原理に関しては、Asrar 1989, Jones & Vaughan 2010 を参照されたい)。

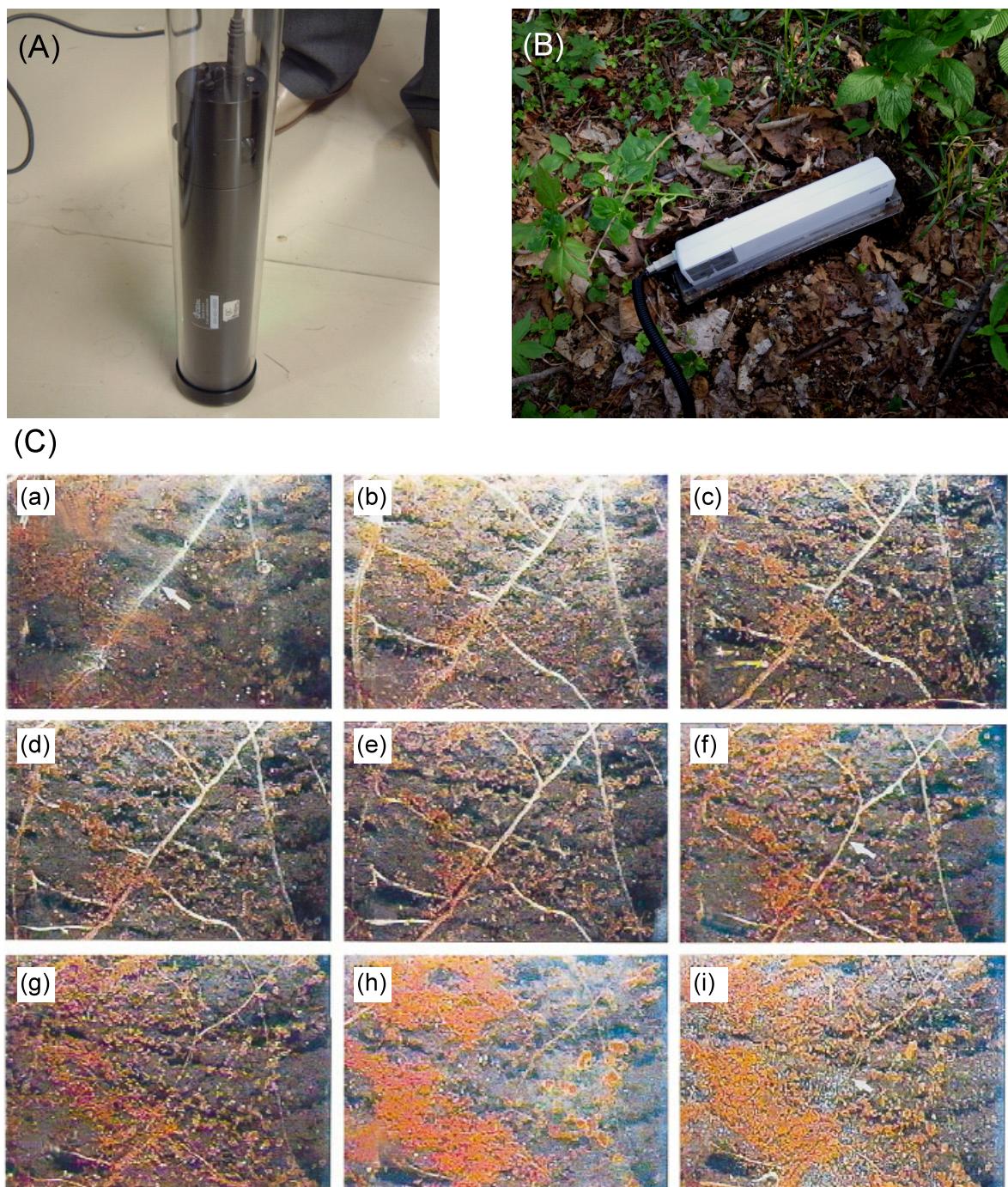


図1 ミニライズトロンの機材と根圏の画像計測。(A) 市販されているミニライズトロンのセンサー本体と透明アクリルチューブ。チューブを地中に埋設し、センサーを中に挿入して定期的に周囲の画像を撮影する。(B) フラットベッド型スキャナーによる観測風景。Dannoura ら(2008)は地中にスキャナを直接埋設して観察した。写真では透明なアクリルケース越しに撮影している(北海道大学苫小牧研究林)。(C) 連続撮影画像による春コムギの根の経時変化(Pritchard & Rogers 2000)。(a)～(i)のように時系列画像を2～4週ごとに撮影し、成長や根毛の出現と消失を解析している。

分光情報の利用方法には、特定の複数の分光反射率をもとに計算される指標値(Serrano et al. 2002, Soukupova et al. 2002, Nagler et al. 2003, Delbart et al. 2005), 多バンドの連続分光反射率

(ハイパースペクトル) を利用した多変量解析やケモメトリクス (Asner & Martin 2008) など様々な手法が存在するが、これらに共通する分光計測のメリットとしては、従来のカラー画像からは判断が困難な対象物質を評価できる光学情報量を多く含むこと、客観的な数値情報をもとにして生態情報を整理・解析できることがあげられる。特に、根の生死判定や種類の同定は非常に困難であり観測者による判断の誤差も想定されるため、光学情報による客観性の確保は有用と考えられる。また、分光計測やリモートセンシングの研究分野で進んでいく自動分類や多変量解析などは、根圏の最新の画像解析法 (Nakaji et al. 2008, Zeng et al. 2008, Gasch et al. 2011, Nakano et al. 2012) への応用も期待される。

3. 最近の応用例

森林生態系研究や根圏の分析研究では、おもに採取した試料の分析手法の一つとしてこのような近赤外分光法が活用されつつある。たとえば、森林のリター中のリグニンやセルロースの分析 (Ono et al. 2003), 草本の根の種推定 (Roumet et al. 2006) や生死判定 (Picon-Cochard et al. 2009) などが室内分析による分光情報の解析をとおして試みられており、野外試料の新たな分析法として報告されている。図 2 は草本の根においてサンプリングした試料の近赤外分光分析データから生死判別を試みた例である (Picon-Cochard et al. 2009)。Picon-Cochard ら (2009) は、5 種の草本を対象に、生きている根と人為的に枯死させた根を採取し、可視一短波長赤外領域 (400-2500nm) における吸収率を計測した。そして、枯死根のほうが近赤外域の吸収率が低い傾向にあることを示し、

ケモメトリクスの一手法である PLS 回帰モデルを作成して、およそ 18% 程度の誤差で生死を判別できることを示した。一般に、根の生死判別は黒色化などの色味や触った感触で判断する事例が多いが (Wells & Eissenstat 2001, Ruess et al. 2003), たとえば離層が形成されていても中の通水機能が残っていることも報告されており (Larcher 1995), 機能と構造を総合した生死の決定は非常に難しい。分光測定は直接的に通水機能を計測するものではないが、構造の変化や水分含量といった間接的な情報を検出できるため、判断基準あるいは補足情報としての利用は期待されるところである。

細根の観測における分光画像の活用はこれまでに数例報告されている。厳密には反射光を分光した例ではないが、生体組織の蛍光反応を利用して根の活性や生死判定に利用する試みはこれまでにも注目されており、Wang ら (1995) は、紫外光照射下で撮影した草本植物の根の蛍

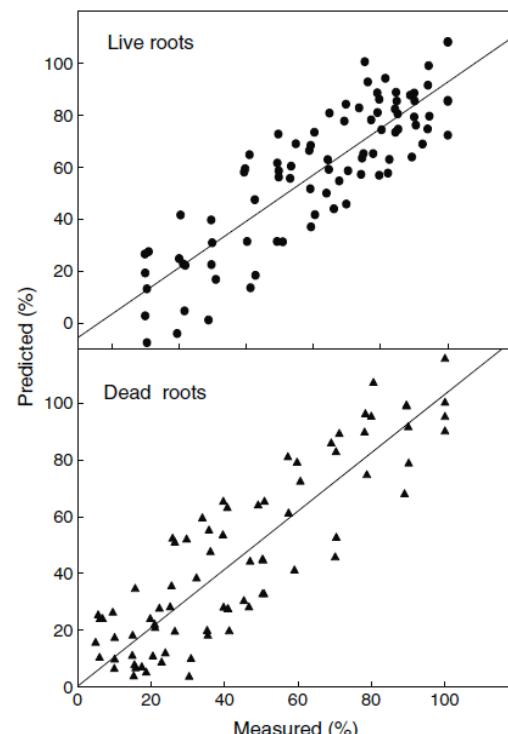


図 2 可視-短波長赤外波長の吸収率をもとに推定した草本の根の生死判定の精度 (Picon-Cochard et al. 2009)。

光が生理的な生死の判別に有効であることを報告した。しかし、植物種によってこの蛍光反応が異なることも指摘されており (Smit & Zuin 1996), まだ植物研究一般に利用できる手法としては普遍性などに課題が残されている。

一方、根のエイジングや生死判別に関する可視 - 近赤外分光画像の利用は, Nakaji ら (2008) によって報告されている。ガラスケースで育成したポプラを対象に、実験的に枯死させた試料を作成して、その可視 - 近赤外領域 (480–972nm) の根圏の連続分光反射率画像をガラス越しに撮影したところ、生きている根の反射率はエイジングとともに、可視波長で

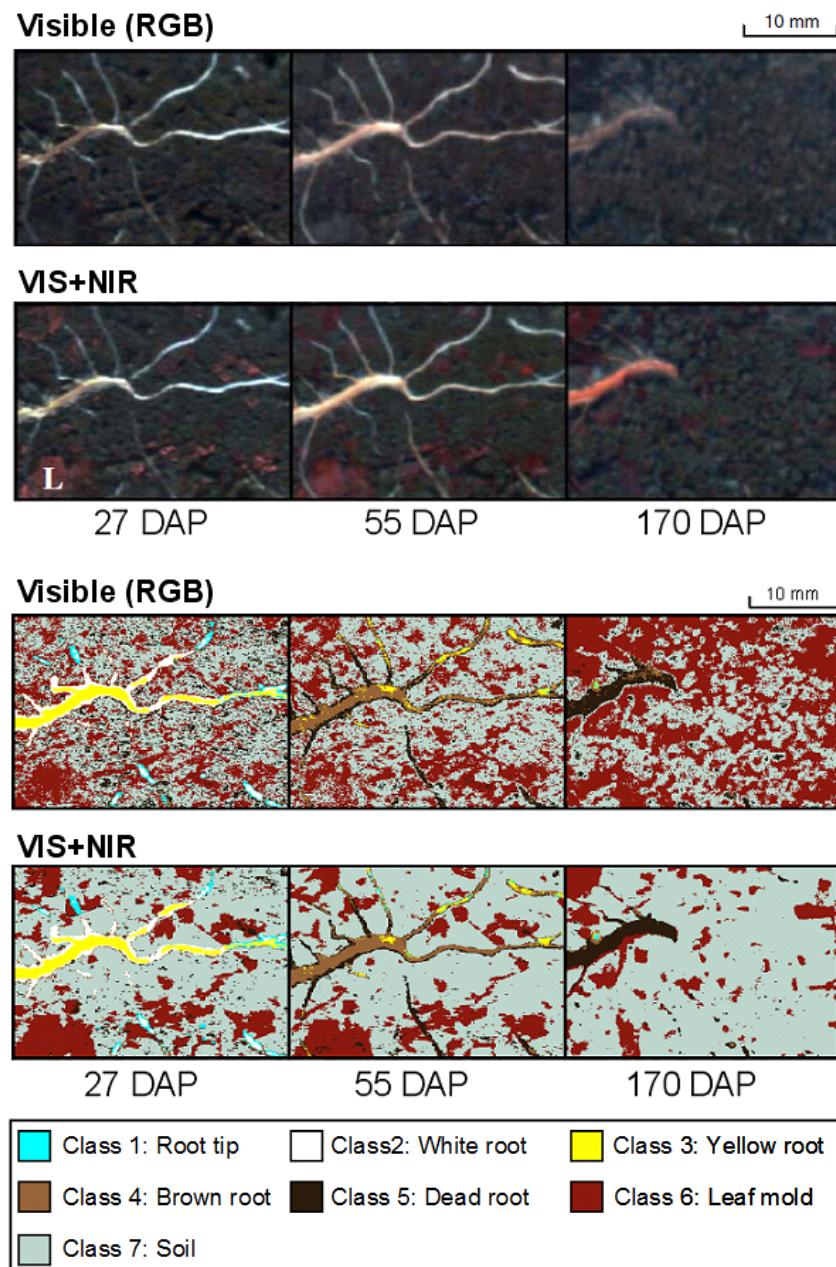


図 3. ポプラ根圏の分光反射率画像(上段)および教師つき分類の結果(下段)(Nakaji et al. 2008)。DAP は植栽後の日数を示し、170DAP では断水処理によって根を枯死させている。一般的なカラー画像に比べて、近赤外画像を加えたほうが枯死根やリター(図中 L)が明確になる。自動分類を行った際も、枯死根やリター、土壤の分類精度が向上した。

は低下し、近赤外波長では増加することが明らかになった。このような違いは、組織構造の発達と関係していると思われる。また、たとえ可視波長で同じような反射率（色味が同じ）であっても、近赤外波長では、土壤＜リター・枯死根＜成熟根という反射率であることが示された。この特徴をもとに、可視情報に近赤外画像情報を加えた3バンド（緑、赤、近赤外）の画像を用いて土壤や根、枯死根、リターの自動分類を行ったところ、通常の可視3バンド画像（赤、青、緑）に比べて分類精度が30%程度向上することも明らかになった（Nakaji et al. 2008）（図3）。まだ実験環境で得られた結果ではあるが、従来の画像撮影への分光測定の導入が利点を発揮することを示した最初の研究例である（Pierret 2008）。

4. 今後の展望

分光画像情報は、使用する波長帯を適切に設定することができれば、従来見えてこなかつた動態や化学成分の検出といった新たな可能性を根圏の研究にもたらすかもしれない。ここで紹介したいいくつかの研究事例がそうであるように、まだ実験環境での検証や経験的な事例報告がほとんどであるが、たとえば、地中における根の種判別や分解過程、機能面も考慮した生死判定や、菌根菌の観察など、応用できそうな課題、チャレンジできる課題はまだまだ残っている。今後、実験系とともにフィールドにおける検証を重ね、その普遍性を的確に評価することができれば、根圏研究におけるブレークスルーが得られると期待される。

引用文献

- Asner, G.P., and Martin, R.E. 2008. Canopy phylogenetic, chemical and spectral assembly in a lowland Amazonian forest. *New Phytol.* 189: 999-1012.
- Asrar, G. 1989. Theory and applications of optical remote sensing, John Wiley and Sons, New York.
- Dannoura, M., Kominami, Y., Oguma, H., and Kanazawa, Y. 2008. The development of an optical scanner method for observation of plant root dynamics. *Plant Root* 2: 14-18.
- Daughtry, C.S.T. 2001. Discriminating crop residues from soil by shortwave infrared reflectance. *Agronomy Journal* 93: 125-131.
- De Kroon H., and Visser, E.J.W. 2003. Root Ecology, Springer-Verlag, New York.
- Delbart, N., Kerfoot, L., Le Toan, T., Lhermitte, J., and Picard, G. 2005. Determination of phenological dates in boreal regions using normalized difference water index. *Remote Sens. Environ.* 97: 26-38.
- Gasch C.K., Collier, T.R., Enloe, S.F., and Prager, S.D. 2011. A GIS-based method for the analysis of digital rhizotron images. *Plant Root* 5: 69-78.
- Gill, R.A., and Jackson, R.B. 2000. Global patterns of root turnover for terrestrial ecosystems. *New Phytol.* 147: 13-31.
- Gill, R.A., Burke, I.C., Lauenroth, W.K., and Milchunas, D.G. 2002. Longevity and turnover of roots in the short grass steppe: influence of diameter and depth. *Plant Ecol.* 159: 241–251.
- Heeraman, D.A., Crown, P.H., and Juma, N.G. 1993. A color composite technique for detecting root dynamics of barley (*Hordeum vulgare* L.) from minirhizotron images. *Plant Soil* 157: 275-287.

- Hendrick, R.L, and Pregitzer, K.S. 1992. The demography of fine roots in a northern hardwood forest. *Ecology* 73: 1094-1104.
- Hendrick, R.L., and Pregitzer, K.S. 1993. Patterns of fine root mortality in two sugar maple forests. *Nature* 361: 59-61.
- Jackson, RB, Mooney, H.A., and Schulze. E.-D. 1997. A global budget for fine root biomass, surface area, and nutrient contents. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 7362-7366.
- Janssens, I.A., Sampson, D.A., Curiel-Yuste, J., Carrara, A., and Ceulemans, R. 2002. The carbon cost of fine root turnover in a Scots pine forest, *For. Ecol. Manage.* 168: 231-240.
- Jones, H.G., and Vaughan, R.A. 2010. Remote Sensing of Vegetation, Oxford University Press, New York.
- Kajimoto, T., Matsuura, Y., Sofronov, M.A., Volokitina,A.V., Mori, S., Osawa, A., and 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.
- Keyes, M.R., and Grier, C.C. 1981. Above- and below-ground net production in 40-year-old Douglas fir stands on low and high productivity sites. *Can. J. For. Res.* 11: 599-605.
- Larcher, W. 1995. Physiological Plant Ecology. Springer-Verlag, New York, pp. 450.
- Majdi, H., and Öhrvik. J. 2004. Interactive effects of soil warming and fertilization on root production, mortality, and longevity in a Norway spruce stand in northern Sweden. *Global Change Biol.* 10: 182-188.
- Nagler, P.L, Inoue, Y., Glenn, E.P, Russ, A.L, and Daughtry. C.S.T. 2003. Cellulose absorption index (CAI) to quantify mixed soil-plant litter scenes. *Remote Sens. Environ.* . 87: 310-325.
- Nakaji, T., Noguchi, K., and Oguma, H. 2008. Classification of rhizosphere components using visible–near infrared spectral images, *Plant Soil* 310: 245-261.
- Nakano, A., Ikeno, H., Kimura, T., Sakamoto, H., Dannoura, M., Hirano, Y., Makita, N., Finer, L., and Ohashi, M. 2012. Automated analysis of fine-root dynamics using a series of digital images, *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 10.1002/jpln.201100316.
- Neumann, G., George, T. S., and Plassard, C. 2009. Strategies and methods for studying the rhizosphere—the plant science toolbox. *Plant Soil* 321: 431-456.
- Noguchi, K., Sakata, T., Mizoguchi, T., and Takahashi, M. 2004. Estimation of the fine root biomass in a Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) plantation using minirhizotrons. *J. For. Res.* 9: 261-264.
- Ono, K., Hiraide, M., and Amari, M. 2003. Determination of lignin, holocellulose, and organic solvent extractives in fresh leaf, litterfall, and organic material on forest floor using near-infrared reflectance spectroscopy. *J. For. Res.* 8: 191-198.
- Picon-Cochard, C., Pilon, R., Revaillot, S., Jestin, M., and Dawson, L. 2009. Use of near-infrared reflectance spectroscopy to predict the percentage of dead versus living grass roots. *Plant Soil* 317: 309-320.
- Pierret, A. 2008. Multi-spectral imaging of rhizobox systems: New perspectives for the observation

- and discrimination of rhizosphere components. *Plant Soil* 310: 263-268.
- Pritchard, S.G., and Rogers, H.H. 2000. Spatial and temporal deployment of crop roots in CO₂-enriched environments. *New Phytol.* 147: 55–71.
- Roumet, C., Picon-Cochard C., Dawson, L.A., Joffre, R., Mayes, R., Blanchard, A., and Brewer, M.J. 2006. Quantifying species composition in root mixtures using two methods: near-infrared reflectance spectroscopy and plant wax markers. *New Phytol* 170: 631-638.
- Ruess, R.W., Hendrick, R.L., Burton, A.J., Pregitzer, K.S., Sveinbjornsson, B., Allen, M. F., and Maurer, G.E. 2003. Coupling fine root dynamics with ecosystem carbon cycling in black spruce forests of interior Alaska. *Ecol. Monogr.* 73: 643-662.
- Satomura, T., Fukuzawa, C., and Horikoshi, T. 2007. Considerations in the study of tree fine-root turnover with minirhizotrons. *Plant Root* 1: 34-45.
- Serrano, L., Penuelas, J., and Ustin, S. 2002. Remote sensing of nitrogen and lignin in Mediterranean vegetation from AVIRIS data: Decomposing biochemical from structural signals. *Remote Sens. Environ.* 81: 355-364.
- Smit, A.L., and Zuin, A. 1996. Root growth dynamics of Brussels sprouts (*Brassica oleracea* var. *gemmifera*) and leeks (*Allium porrum* L.) as reflected by root length, root colour and UV fluorescence. *Plant Soil* 185: 271-280.
- Smit, A.L., Bengough, A.G., Engels, C., Van Noordwijk, M., Pellerin, S., Van De Geijn, S.C. 2000. Root Methods A Handbook, Springer-Verlag, New York.
- Soukupova, J. Rock, B.N., and Albrechtova, J. 2002. Spectral characteristics of lignin and soluble phenolics in the near infrared- a comparative study. *Int. J. Remote Sens.* 23: 3039-3055.
- Wang, Z., Burch, W.H., Mou, P., Jones, R.H, and Mitchell, R.J. 1995. Accuracy of visible and ultraviolet light for estimating live root proportions with minirhizotrons. *Ecology* 76: 2330-2334.
- Wells, C.E., and Eissenstat, D.M. 2001. Marked differences in survivorship among apple roots of different diameters. *Ecology* 82: 882-892.
- Vogt, K.A., Grier, C.C., Meier, C.A., and Edmonds, R.L. 1982. Mycorrhizal role in net primary production and nutrient cycling in *Abies amabilis* ecosystems in western Washington. *Ecology* 63: 370-380.
- Xiao, C.-W., Yuste, J.C., Janssens, I.A., Roskams, P., Nachtergale, L., Carrara, A., Sanchez, B.Y., and Ceulemans, R. 2003. Above- and belowground biomass and net primary production in a 73-year-old Scots pine forest. *Tree Physiol.* 23: 505-516.
- Zeng, G. Birchfield, S.T., Wells, C.E. 2008. Automatic discrimination of fine roots in minirhizotron images. *New Phytol.* 177: 549–557.