

機関番号：82105

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20380095

研究課題名（和文） 白色・褐色腐朽等の腐朽様式を考慮した枯死木成分別分解モデルの開発

研究課題名（英文） Development of an in-situ decay model of dead wood in light of rotting type of white- and brown-rot

研究代表者

石塚 成宏（Ishizuka Shigehiro）

独立行政法人森林総合研究所・九州支所・グループ長

研究者番号：30353577

研究成果の概要（和文）：京都議定書報告において算定が必要な枯死木中の炭素動態推定の精度向上のため、近赤外分光法を用いた迅速・簡便なリグニン・ホロセルロース定量法を開発した。これを全国から集めた枯死木試料に適用し、気候、枯死後年数、材密度及び成分を変数とするデータベースを完成させた。成分毎の分解に大きな選択性がなく、アルカリ抽出成分の増加が大きくないことから、腐朽様式は白色腐朽型が多いと考えられた。これらの結果をもとに成分別分解モデルを開発した。

研究成果の概要（英文）：To improve the accuracy of the estimation of the carbon stock in deadwood pool, which is obligatory accounting for Kyoto Protocol under United Nation Framework Convention on Climate Change, we developed the quantifying method to measure the lignin and holocellulose content using near-infrared spectroscopy. To adapt this method for the samples which had been previously gathered from north to south in Japan, we have obtained deadwood database with the information about climate, years after death, density of wood, lignin, and holocellulose content. According to this database, the decomposition rate of lignin does not remarkably differ from that of holocellulose. The alkali-extractable component does not markedly increase with the increase in the years after death, indicating that the white rot type is more frequent in the decay of dead wood in Japanese coniferous species. Using these results, we constructed the in-situ decay model of dead wood in light of rotting type.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	3,300,000	990,000	4,290,000
2009年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
年度			
年度			
総計	7,900,000	2,370,000	10,270,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：森林学、森林科学

キーワード：地球温暖化、枯死木、京都議定書、リグニン、ホロセルロース、近赤外分光法、アルカリ抽出成分

## 1. 研究開始当初の背景

地球温暖化防止条約における京都議定書の履行のために、森林における炭素蓄積量と施

業にともなう変化量の国レベルでの算定が必要とされている。枯死木プールは、地上部、地下部、リター、土壌炭素と並んで、報告す

る必要がある森林の炭素プールの1つである (Good Practice Guidance for LULUCF, 2003)。日本の森林では CENTURY モデルの改良版 (CENTURY-jfos) によって枯死木プールを算定する。しかし、モデル予測と対比可能なデータが少なく、枯死木プールの大きな割合を占めると考えられる切り捨て間伐による林地残材については調査事例がほとんどない。従って、議定書報告の中でも実態がわかっていない不確実性の高いプールである。

こうした背景から、林野庁・森林総合研究所は、2006年から2010年にかけて全国的な枯死木材積の調査を行っている。これにより、枯死木プールに蓄積している炭素量データの整備が飛躍的に進展する。しかし、枯死木中の有機物はリグニン・セルロースといった成分毎に分解速度が異なり (例えば Berg & Matzner, Environ. Rev., 1997)、これら成分構成の推定とそれぞれの成分の分解速度の推定が今後の分解予測にとって重要である。

また、枯死木中の有機物は、分解によってCO<sub>2</sub>として失われるものを除き土壌中に残留する。この有機物の一部は土壌微生物によって分解されるが、残りの部分は難分解性有機物として土壌中に蓄積していく。特に、リグニンやその低分子化した化合物は微生物によって分解されにくいと考えられており、申請者らの実験結果からも土壌中のリグニン様物質の含有率は植物体のリグニン含有率の数倍に達しているという結果が得られている (Ishizuka et al., Ann. Forest Sci., 2006)。従って、土壌有機物動態にとってどのような特性を持つ有機物が枯死木から供給されるかは非常に重要な意味を持つと考えられる。

## 2. 研究の目的

枯死木中のリグニン・ホロセルロース含量を近赤外分光分析法によって定量する簡易測定法を開発する。また、アルカリ抽出量とリグニン・ホロセルロース量から、腐朽様式を推定する。これらから、リグニン・セルロース量と腐朽様式の全国規模のデータベースを作成し、成分毎の分解が予測できる枯死木分解モデルを作成する。

## 3. 研究の方法

### (1) 木材成分の簡易測定法の開発

近赤外分光光度計 (NIR) を利用し、木材のリグニン、ホロセルロースの成分分析を迅速に定量出来る方法を開発する。

#### ①標準試料の作成

近赤外分光法による標準試料とするため、従来法によりリグニン・ホロセルロースの定量を行う。スギ、ヒノキ、カラマツ、トドマツ、アカエゾマツそれぞれの樹種について、

採取した県毎に5個以上のサンプルを抽出した。それぞれについてソックスレー抽出器を用いてエタノール1:ベンゼン2の有機溶媒により溶媒抽出成分を抽出し、溶媒を蒸発乾固させて重量を測定し、溶媒抽出成分の重量とした。溶媒抽出後の試料をクラソン法により硫酸分解し、残渣の重量から蛋白量を引いたものをリグニン量とした。蛋白量は残渣の窒素含量に6.25倍したものをを用いた。別途灰分を測定し、全体の量からリグニン量、灰分量、溶媒抽出成分量を減算したものをホロセルロース量とした。また、1%NaOH溶液により1時間煮沸後、ガラス濾過器によって濾過した残渣の重量を測定し、試料の重量で割った値 (%) を100から減算した値をアルカリ抽出成分の比率 (%) とした。

#### ②近赤外スペクトルの採取

①により諸分析値を測定したサンプルについて、近赤外分光分析計 (Nicolet FT-IR 6700、サーモフィッシャーサイエンティフィック、以降NIRと呼ぶ) により反射スペクトルを測定した。本機はFT-IR用の機器であるが、オプションのアップドリフトを装備することにより近赤外の反射スペクトルを測定することができる。測定条件は、下記の通り設定した。

波数: 10000~4000 cm<sup>-1</sup>

スキャン回数: 100回

スペクトル取得回数: 3回

以上の条件で、1サンプルあたり約3分のペースでスペクトル取得が可能であった。

#### ③検量線の作成

PLS (Partial Least Squares) 回帰により、各スペクトルの二次微分成分から各成分を推定する方法を開発した。PLS回帰にはTQ Analyst (Thermo Electron社) を使用した。回帰の条件は下記の通り。

使用波数: 6800~5800 cm<sup>-1</sup> および 5000~4050 cm<sup>-1</sup>

スムージング: Savitzky and Golay法 (19データ、3次補完)

各検量線の作成の際には、スペクトルの外れ値を除去した後、Studentized Residualが3を越えるものを除去した。各検量線の評価にはCross-validation (leave-one-out法) を使用した。

#### (2) NIRによる定量

標準試料として分析を行わなかった試料については、NIRにより反射スペクトルを採取し、(1)で作成した検量線により定量した。

#### (3) 腐朽様式寄与率推定法の開発

枯死木の腐朽過程では、重量減少に伴って構

成分比が変化する。セルロースとリグニンを同時に分解する白色腐朽菌、リグニン分解能力の低い褐色腐朽菌、水分含量が高い材を分解できる軟腐朽菌があり、それらの分解の比率によって分解残存物の性質が大きく異なる。さらにこれらの腐朽様式の違いは、腐朽にかかる時間にも影響していると考えられる。アルカリ抽出成分によってこれら腐朽タイプが分別できるとされており、これらの寄与率をリグニン・ホロセルロース含有率とアルカリ抽出成分の関係から推定する方法を開発する。

#### (4) 枯死木分解モデルの作成

(1) および (2) によって定量されたリグニン、ホロセルロース含有率と (3) によって明らかになった各腐朽の寄与率をデータベース化し、それぞれの枯死後の年数と採取地点情報から得られる気候情報を結合する。これによって、枯死してからの重量減少速度を成分別、腐朽様式別に解析することが可能になる。このデータを用いて、成分別・腐朽様式別の分解速度を表現できる枯死木分解モデルを作成する。

### 4. 研究成果

#### (1) 木材成分の簡易測定法の開発

##### ① 検量線数の検討

まず、全樹種全地域に対して PLS 回帰を試みたところ、決定係数が 95.7% (リグニン)、95.1% (ホロセルロース)、70.8% (溶媒抽出成分)、65.4% (アルカリ抽出成分) と、リグニン、ホロセルロースについては良好な結果が得られたが、溶媒抽出成分、アルカリ抽出成分、灰分、蛋白については精度が良くなかった。スペクトルの第一主成分 (PC1) を X 軸、第二主成分 (PC2) を Y 軸にした散布図を樹種別に分けて図化したのが図-1 である。

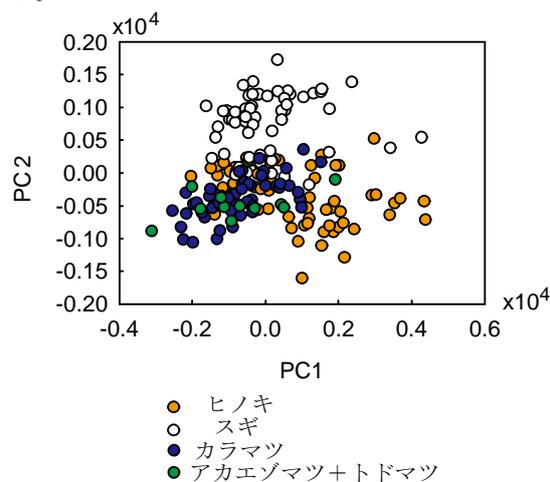


図-1 全樹種・全地点を PLS 回帰した場合のスコアプロット

この図から、スギは PC2 軸において他の樹種と違う分光学的性質を持つことが分かった。ヒノキとその他樹種にも PC1 軸で差が認められることなどから、樹種毎に検量線を分けた方がよいと判断した。

#### ② 各樹種毎の検量線の作成

①の結果を受けて、各樹種毎に検量線を作成した。アカエゾマツとトドマツは単独では試料数が少なすぎて回帰が行えないため、両者を一緒にして検量線を作成した。各樹種、各成分の検量線の結果を表-1 に示す。

表-1. 各樹種、各成分の検量線の決定係数、RMSEC、RMSECV

樹種	成分	決定係数	RMSEC	RMSECV
スギ	リグニン	0.977	0.294	0.515
	ホロセルロース	0.982	0.325	0.592
	溶媒抽出成分	0.706	0.400	0.511
	アルカリ抽出成分	0.837	2.140	2.950
	灰分	0.728	0.175	0.287
ヒノキ	蛋白	0.736	0.273	0.410
	リグニン	0.961	0.358	0.645
	ホロセルロース	0.953	0.496	0.753
	溶媒抽出成分	0.803	0.446	0.580
	アルカリ抽出成分	0.792	0.302	2.740
カラマツ	灰分	0.066	0.134	0.138
	蛋白	0.015	0.321	0.329
	リグニン	0.957	0.378	0.465
	ホロセルロース	0.972	0.378	0.502
	溶媒抽出成分	0.842	0.241	0.358
アカエゾマツ+トドマツ	アルカリ抽出成分	0.714	2.800	4.230
	灰分	0.279	0.096	0.102
	蛋白	0.817	0.137	0.203
	リグニン	0.999	0.094	0.539
	ホロセルロース	0.999	0.107	0.563
ツ+トドマ	溶媒抽出成分	0.949	0.203	0.619
	アルカリ抽出成分	0.944	1.210	3.430
	灰分	0.875	0.030	0.082
	蛋白	0.109	0.153	0.211

表-1 における RMSEC は検量線の二乗平均平方根誤差、RMSECV は Cross-validation の二乗平均平方根誤差である。表-1 によると、決定係数は各成分とも全樹種で作成したものよりも樹種毎に分けたものの方が高く、樹種毎に分けて検量線を作成した方が精度が高いことが示唆された。リグニンとホロセルロースの検量線の決定係数はいずれも 0.95 以上と高く、相対誤差 (RMSEC ÷ 平均値) も最大で 1.2% ほどであり、RMSECV も極端に大きくなっておらず、この検量線で未知試料の定量を行っても十分な精度を確保できると考えられた。一方、溶媒抽出成分とアルカリ抽出成分については成分量に対する RMSEC が高い上に RMSECV もかなり大きくなっており、これらの未知試料への適用には問題がある。但し、ヒノキ及びアカエゾマツ+トドマツのアルカリ抽出成分の相対誤差はそれぞれ 2.3%、8.9% であり、これらは大まかな傾向を把握するには問題ない水準であると考えられる。

これらの結果の一例として、図-2 にスギのリグニン含有率の実測値と推定値の関係を示す。

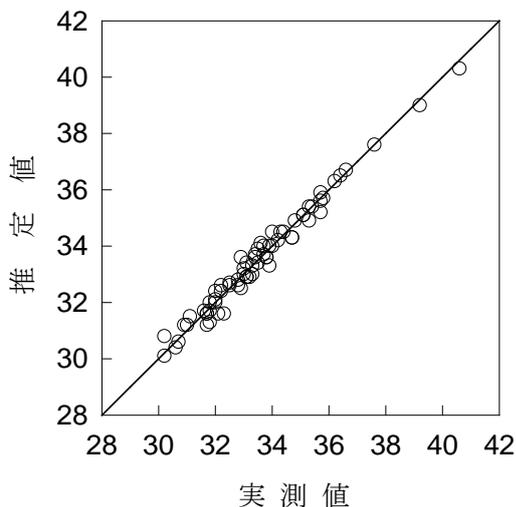


図-2 スギのリグニン含有率(%)の実測値(X軸)とPLSモデル推定値(Y軸)

(2) NIRによる定量

(1)で得られた検量線を用いて、従来法による定量を行っていない試料の近赤外反射スペクトルから、リグニン、ホロセルロースの含有率の定量を行った。また、ヒノキ及びアカエゾマツ、トドマツについては、アルカリ抽出成分の定量を行った。また、全体の傾向を知るために、スギ、カラマツについてもアルカリ抽出成分の定量を行ったが、これらのデータは精度が他のデータよりも著しく劣ると考えられるため、注釈付きで参考値とした。最終的には精度の観点から、高精度(相対誤差で1.5%以下のもの)、中精度(相対誤差で10%以下のもの)、低精度(相対誤差で10~30%のもの)と分類してデータベース化した。

(3) アルカリ抽出成分と腐朽様式について

図-3は枯死後の経過年数とリグニン含有率、アルカリ抽出成分の関係である。この図から、

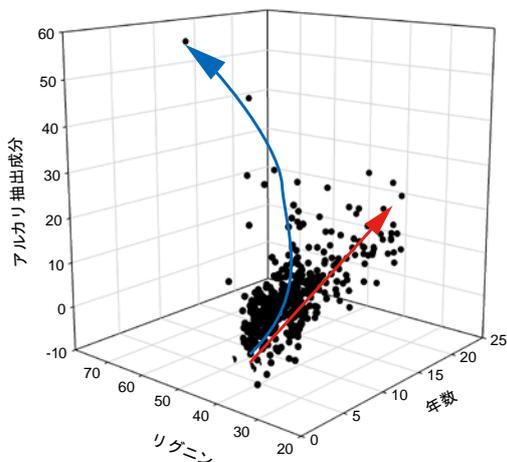


図-3 枯死後の経過年数とリグニン含有率、アルカリ抽出成分量の関係

枯死後10年程度を境に、一部はリグニン含有率とアルカリ抽出成分が増加し(図中の青矢印)、その他の大部分はリグニン含有率があまり増加せず、アルカリ抽出成分も大きく上昇しない(図中の赤矢印)ことが明らかになった。前者は褐色腐朽型、後者は白色腐朽型と考えられ、その閾値を以下のように設定した。

① リグニン (%) > 35 + 0.25 × 枯死後年数

② リグニン (%) > アルカリ抽出成分 (%) ÷ 4 + 30

①かつ②を満たすものは褐色腐朽型、それ以外は白色腐朽型と判定した。この結果を適用すると、全体の7%が褐色腐朽型、残りの93%が白色腐朽型となり、白色腐朽型が優占していた。

ここで、重量残存率を変数に使用していない理由について説明する。今回の調査がクロノーシークエンス法を用いているために、各材サンプルの分解前初期密度が不明である。文献によると初期材密度は地域によって違いがあるとは言えない(藤原ら、2004)が、本研究で用いた試料の材密度は非常にばらついており、初期材密度がかなり林分によって異なっていたと想定せざるを得ない。従って、初期材密度に大きく依存する重量残存率を指標とすると傾向がはっきりせず、解析に適さないと判断した。今回の指標①②は初期材密度に関係なく伐採情報と成分分析値から決定できるため、応用範囲は広いと考えられる。

(4) 枯死木分解モデルの作成

(3)において分けられた白色腐朽型と褐色腐朽型それぞれについて、リグニン、ホロセルロースの分解について解析した。解析は重量残存率に各成分濃度を積算した相対重量残存率(初期材密度を100%とした時の各成分の残存重量を%で表したもの)について行った。図-4~7に、それぞれ白色腐朽型および

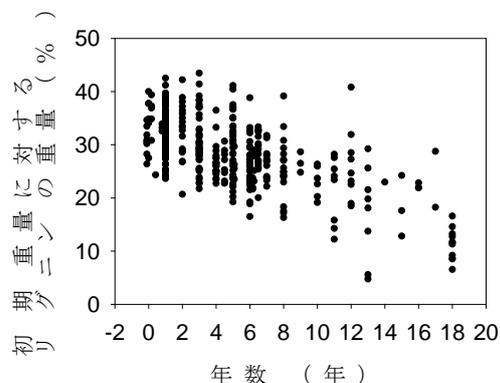


図-4 白色腐朽型の枯死後年数とリグニンの相対重量残存率

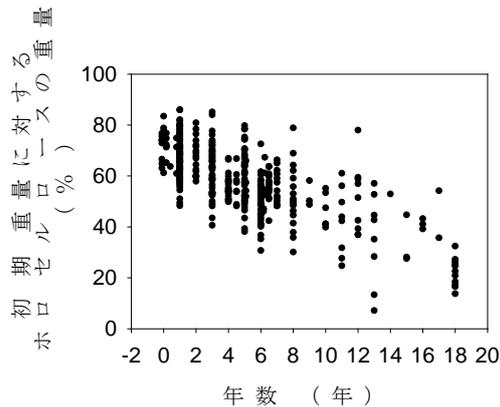


図-5 白色腐朽型の枯死後年数とホロセルロースの相対重量残存率

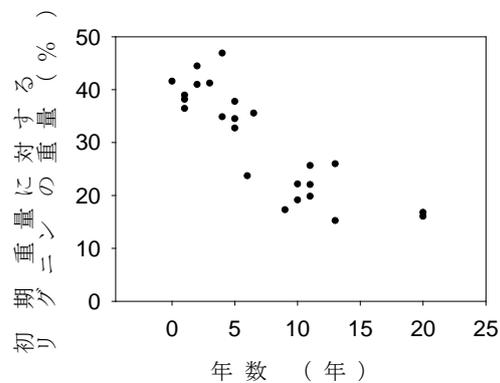


図-6 褐色腐朽型の枯死後年数とリグニンの相対重量残存率

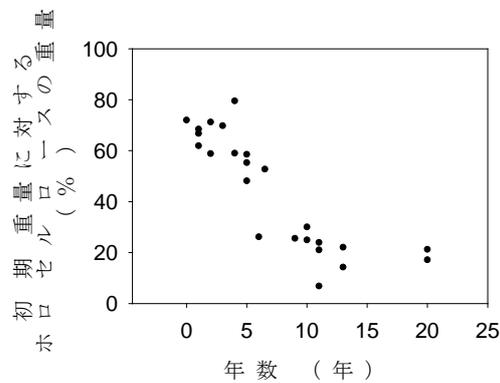


図-7 褐色腐朽型の枯死後年数とホロセルロースの相対重量残存率

び褐色腐朽型におけるリグニンとホロセルロースの相対重量残存率と枯死後の年数の関係を示した。

これらの図から、各成分に対して時間を変数とした指数関数回帰モデルを適用することが妥当と考えられたので、各成分を以下の式で回帰した。

$$W = e^{(at+b)}$$

但し、W:相対重量残存率(%)、t:時間(年)、

a、b:定数 である。

その結果、各成分は次の回帰モデルで表すことができた。

白色腐朽型リグニン

$$W = e^{(-0.029t+3.546)}$$

白色腐朽型ホロセルロース

$$W = e^{(-0.031t+8.418)}$$

褐色腐朽型リグニン

$$W = e^{(-0.056t+3.757)}$$

褐色腐朽型ホロセルロース

$$W = e^{(-0.093t+5.752)}$$

#### (5) 残された問題点と今後の課題

本研究ではNIRを用いた簡易分析法の開発と成分分析を元にした腐朽型の判別法の提案、そして腐朽型によって異なる成分分解モデルの開発を行った。このモデルでは、成分分析によって腐朽型を決定しているが、腐朽型を決定している要因は推定できていないため、現状では確率的に腐朽タイプを推定してやる必要がある。今後データベースをより詳細に解析することによって、気候値などを回帰モデルや腐朽タイプの出現確率などに反映させることが可能となれば、より精度の高い腐朽モデルとなり、枯死木炭素ストック量の精度向上に資すると考えられる。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計1件)

①酒井佳美、高橋正通、石塚成宏ほか19名(1番目と3番目)、材密度変化による主要な針葉樹人工林における枯死木の分解速度推定、森林立地、査読有、50巻、2008、153-165

〔学会発表〕(計4件)

①酒井佳美、石塚成宏、スギとヒノキの枯死木の木材成分別分解速度、日本森林学会、2011年3月、静岡大学(静岡市)

②酒井佳美、石塚成宏ら、スギとヒノキの間伐放置材の分解にともなう木材成分変化、日本木材学会、2011年3月、京都大学

③酒井佳美、石塚成宏、針葉樹種の倒木の分解に伴う化学成分組成の変化、日本森林学会、2010年4月、筑波大学(つくば市)

④酒井佳美、石塚成宏、針葉樹間伐放置材の分解にともなう化学成分変化、日本木材学会、2010年3月、宮崎大学(宮崎市)

〔図書〕(計1件)

①酒井佳美、3.有機物の分解、森林総合研究所編 森林大百科事典、朝倉書店、2009、86-87

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

石塚 成宏 (Ishizuka Shigehiro)  
独立行政法人森林総合研究所・九州支所・  
グループ長  
研究者番号：30353577

(2) 研究分担者

酒井 佳美 (Sakai Yoshimi)  
独立行政法人森林総合研究所・立地環境研  
究領域・主任研究員  
研究者番号：40353700