

雑草研究における埋土種子調査法

(独)農業・食品産業技術総合研究機構 東北農業研究センター福島研究拠点 小林浩幸
(独)農業・食品産業技術総合研究機構 中央農業総合研究センター 渡邊寛明

はじめに

地域性が強いことが農業技術の特色の一つと言われるが、雑草防除では隣り合った圃場間でさえも結果に違いが生じうる。ところが、戦後、急速に発達・普及した除草剤と関連技術は、こうした圃場間差を強く意識しなくてもよい風潮をもたらした。しかし、近年の食品の安全・安心や環境問題に対する意識の高まりは、雑草防除技術を除草剤だけでなく耕種の防除技術なども組み合わせた総合的雑草管理 (IWM; Shaw 1982) の方向に向かわせている。耕種の防除技術は概して効果が弱いものが多く、圃場によって効果がばらつくことが多い。これは、埋土種子の量や種構成の違いによることが多いように思われる。どのような雑草がどの圃場にどれだけ発生するのか。細かな観察が必要な時代が再び訪れつつあるといえるかもしれない。

さて、埋土種子の調査の目的は、潜在的な雑草量を明らかにすることに他ならないが、それには次のようないくつかの実用的な意味がある。第一に、作付け前に潜在的な雑草発生量が推定できれば、適切な防除法の選択に役立つ。雑草発生量の推定精度は高いほど良いが、そのためには、今後のデータ蓄積が必要である。

また、新しい防除技術を評価するとき、潜在的な雑草量が違っては正しい判断が難しい。圃場試験では無除草区が設けられるのが通例だ

が、雑草発生量はさまざまな条件で変動する。埋土種子の情報があれば、別の場所や異なる年次の試験結果も参照でき、より合理的な評価が可能になる。このように、雑草防除効果の正しい評価の指標とすることが第二の目的である。

雑草量の長期的な増減の把握が第三の目的である。毎回の雑草防除の成否は残草量や収量から評価できるが、雑草量は気象条件などで毎年変動するため、前後で雑草が増えたのか減ったのかの判断は難しい。その点、埋土種子なら時を超えて同一の尺度で比べられる。

埋土種子調査の第四の目的として、雑草個体群動態の予測モデルに用いる埋土種子の減耗率などのパラメータ取得があげられる。IWMでは雑草個体群の動態予測が有用なツールとされ (Swanton and Weise 1991)、埋土種子の情報は、長期的な個体群動態予測にも用いられる (Rahman et al. 1998) と考えられている。

農業・食品産業技術総合研究機構では、2007年から4年間、総合的雑草管理技術を開発する研究プロジェクトを推進した。プロジェクトでは、埋土種子の調査手法の確立を主要なテーマの一つに据えた。これは、上述したようにIWMの普及には、作付け前の雑草発生や減収程度の予測、新たに開発された農法の正当な評価の必要があると考えたからである。私たちは手始めに、簡便な埋土種子調査のためのマニュアル作

成を進め、「雑草研究」誌に数報の総説として公表した。本稿は、それらのうち総論部分（小林・渡邊 2010）にその後の知見をいくらか加筆し、若干の修正を加えたものである。

埋土種子調査の概要と手順

埋土種子を調べる方法には幾通りかがあって、どれが優れるかの議論が延々と続いている（Gross 1990; Cardina & Sparrow 1996; Mesgaran et al. 2007）。こうした議論を通じて、それぞれの長所、短所が明らかになってきているので、私たちは、その時々で適切な方法を選択することができる。

埋土種子の調査法には、採取土壌を調べる方法と、圃場での出芽などの観察から推定する方法がある（図-1）。観察に基づく発生予測は、篤農家なら特に意識せずに行ってきたに違いない。しかし、近年の担い手への農地集積の進行は、圃場の栽培履歴を知らない農業者の耕作を増やし、圃場の子細な観察も困難にしている。IWMの前提としての埋土種子調査は、当面、採取土壌を調べる方法が中心となるだろう。

この場合、埋土種子調査は土壌の採取から始まることになる（図-1）。採取土壌中の種子を調べる方法には、「分離同定法」（佐合 1995; 高柳 2004）と、「発芽法」（渡辺 1978）がある（表-1）。

分離同定法では土壌から取り出した種子を調べる。種子の抽出に装置が必要だが、結果がすぐに出る。また、休眠性の季節変動（Baskin & Baskin 1985）や気象条件によるぶれもない。このようなことから、分離同定法は、①雑草の発生量の事前予測や、②埋土種子量の季節変動や長期的変化の把握に適当な方法と言える。

一方、発芽法では土壌中の種子を発芽させ、その実生を調べる。「播き出し法」、「実生発生法」、「出芽法」、「発芽試験法」などとも表現されるが、いずれも同義である。作業は比較的簡単で、同定も種子より容易なことが多いが、時間がかかる（佐合 1995, Mesgaran et al. 2007）。検出種子数は分離同定法より少ないのが普通で、特に広葉雑草の検出率は劣る（Cardina & Sparrow 1996; Rahman et al. 1998, 2001）。ただ、作物の栽培開始に近い時期に採った土壌を用いると、当作での発生量とよく一致する。発芽法は、当作における雑草発生量の正確な評価に適当な方法である（Forcella 1992）。

発芽法はBrenchley (1912)、分離同定法は赤座 (1940) までさかのぼることができるが、これらが改良されつつ使われてきた（栗野・飯泉 1956; Malone 1967）。例えば、渡辺 (1978) による北海道の畑地の調査では、目的によって発芽法や篩と水洗を組み合わせた分離同定法が使分けられた。

その後、埋土種子調査は遠心分離機、水流による洗い出しシステムなど特別な装置で高精度化、効率化が目指されている（Kovach et al.

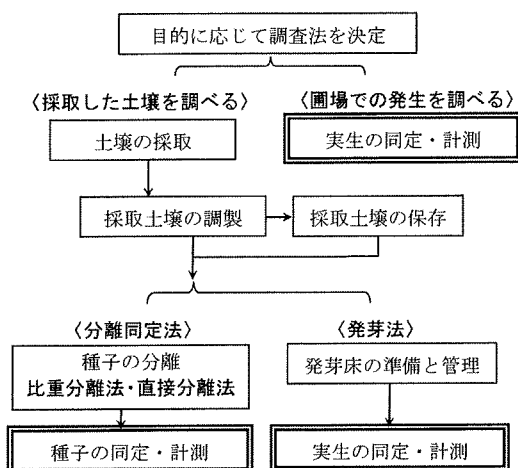


図-1 埋土種子調査の手順

表-1 採取した土壌から埋土種子を調べる方法の比較

名 前	方法の概要	特 徴*		適応例**
		作業性・コスト	データの正確さ	
分離同定法	種子を数える	×塩類溶液や特別な装置が必要 ○結果がすぐに出る	○種子の回収率が高い ×圃場での発芽数と必ずしも一致しない	
比重分離法	比重の大きい溶液で浮かせて回収	○作業は比較的簡単で、短時間で回収可能 ×ランニングコストがやや高い	×発芽性が変化する可能性 ○小さな種子でも回収可能	・コナギ、ヒユ類など 種子の小さな草種 ・粒径の大きな土壌
直接分離法	メッシュや水流を用いて直接回収	×作業に時間がかかる ×粒径の大きな土壌で特に多労 ○ランニングコストが低い	○発芽性の変化が小さい ×小さな種子の回収は困難	・タイヌビエ、アサガオ類など種子の大きな草種
発芽法	発芽させた実生を数える	○試薬や特別な装置が不要 ×長期間の作業、観察が必要 ×結果が出るのに数週間～数か月かかる	×埋土種子数が過小評価される傾向がある ○実際の発芽時期に合わせて行えば、圃場での発芽数をよく再現 ×季節により結果が異なるなど再現性に課題	・メヒシバなど種子休眠の浅い草種 ・アゼナ類など種子が極めて小さな草種 ・水田雑草の湛水状態での調査

*：利点と考えられる特徴には○を、欠点と考えられる特徴には×を付した。

**：例示した適応例は、必ずしも他の方法は適応しないことを意味するわけではなく、目的に応じた選択が望ましい。例えば、メヒシバの種子休眠は浅いので発芽法は適応するが、事前に発生量を予測する必要があるなら、分離同定法が望ましい。

1988; Gross & Renner 1989; Buhler & Maxwell 1993; Wiles et al. 1996)。こうした装置は施設の整った研究機関でなければ導入が困難で、手軽にだれでも、というものではない。

将来のIWMの担い手は、農業者自身であり、農協、普及指導センターだろう。また、IWMの確立には、各地の埋土種子データの蓄積が必須である。それらのためには、誰でも分析できる簡便な手法が求められる。

そこで私たちは、データの正確さは許容範囲にとどめ、少ない費用で簡単に試すことができる手法の開発を目指している。以下に記す調査法の記述は原理を中心としたものではあるが、言外には、私たちが検討してきた簡易な方法を想定している。

埋土種子調査の実際

1. 土壌の採取

埋土種子調査では、普通、面積を決めて土壌を採取する。農学上の多くの統計量と同様、雑草個体群の量的な把握も、面積当たりの換算が好都合だからである（シルバータウン 1998）。採取の深さは作土（例えば15cm）とするのが普通である。

採取器具と採取量

土壌の採取には、市販の円筒形の採土器などが用いられるが、化学分析よりも多くの土壌が必要なので、大きめなものが良い。乾土200gを分析する場合、含水率30%、仮比重0.9なら約320mlの土壌が必要で、15cmの深さまでなら採取面積は約21cm²となる。土壌の仮比重のデー

タがあれば (Albrecht & Pilgram 1997; Smuntný & Křen 2002), 採取面積と深さから面積当たりの埋土種子量を推定できる。すなわち,

深さ d (m) の土層中の種子数 (m^{-2})

= 土壌サンプル中の種子数 / 採取面積 (m^2)

= 土壌サンプル中の種子数 / (仮比重 ($g\ m^{-3}$)

× d (m) / 土壌サンプルの乾燥重 (g))

サンプル数と精度

圃場内, 特に畑圃場では雑草の分布は不均一で, 風散布型の草種を除けば, 種子の大半は親個体の近傍に散布される (Cousens & Mortimer 1995) ので, 埋土種子の分布も不均一である (Thompson 1986)。このように分布がばらつく埋土種子の平均値は, 圃場内の多地点から少しずつ採る方が精度よく推定できる (例えば Roberts 1958; Benoit et al. 1989)。ばらつきも同時に知るにはサンプルを別々に分析する必要があるが, 平均値だけで足るなら混合 (コンポジット) しても構わない (Froud-Williams et al. 1983; Forcella 1992; Ter Heerdt et al. 1996; Hutchings & Booth 1996; Teasdale 2004)。混合されたサンプルの一部だけ分析されることもある。採取土壌の一部の計り取りは, 重量ベースで行うのが普通だが, 波板状の器具 (リッフル) も用いられる (Ball & Miller 1989)。この方法は, 種子が土壌中で均一になりづらい場合に有効だが, 重量は一定にはならない。

得られるデータの信頼性は分析土壌の量や採取箇所数に依存するので, その適切な設定は重要である。しかし, 最終的なデータの信頼性は, 種子密度にも依存するため, 事後的にしか決まらない。種子の密度の見当がついている場合にはそれに応じて, また, 未知の場合には多めに

採取し, とりあえずその一部について分析を行い, 必要に応じて追加で分析をするのが妥当だろう (逐次法)。この時, どこまでの精度でよしとするかの基準については, 中山ら (2011a,b) が次のように整理している。精度の指標として, 推定精度 (相対標準誤差) D を定義する。

$$D = (s / \sqrt{q}) / m \cdots \cdots (1)$$

ここで, s : 標準偏差の標本推定値, q : サンプル数, m : 種子数の平均値の標本推定値である。定義から, D は値が大きいくほど精度が低く, 小さいほど精度が高い。やや大まかな鳥瞰的研究では D を 0.3-0.4 とするのが目安という。さて, 埋土種子が圃場中でランダム分布すると仮定すれば (最もゆるい仮定である), 採取された土壌サンプル中の種子数はポアソン分布に従うと推定される。ポアソン分布では $m = s^2$ となるので, (1) 式は,

$$D = 1 / \sqrt{q \cdot m} \cdots \cdots (1')$$

となり, 検出する種子の総数を $N = q \cdot m$ とすれば,

$N = 1/D^2$ と表される。つまり, 目標精度を定めさえすれば検出すべき種子数が計算でき, 例えば $D = 0.3$ を目標とするなら 11 粒, $D = 0.4$ なら 7 粒である。合計 11 粒ないし 7 粒出てきたところで分析をやめれば良いということである。圃場間の比較で, この程度の D で, どれほどの差を検出できるかについては中山ら (2011a,b) を参照されたいが, IWM を目的とする埋土種子分析では, 10 粒程度を一つの目安と考えてよい。

採取時期

雑草埋土種子の量や種構成は, 季節的に変動するので (例えば Kobayashi & Oyanagi 2005), 土壌の採取時期の選定は重要である。作付け前に埋土種子量を知り, 栽培に活かすのが目的なら, 分析に必要な日数を考慮して早い時期に設定すべきだが, 前年の秋に採取するなら,

その後の埋土種子の量や種構成の変化を考慮すべきである。同じ理由から、埋土種子の増減を知るには、栽培の前後ではなく、1年のうちの同じ時期に土壌を採取する必要がある。

2. 採取土壌の調製と保存

採取後、種子以外の粗大な残さを除いておくとの作業が容易になる。この作業には目の粗い篩が用いられることもある (Thompson & Grime 1979)。

土壌を乾燥させずに室内または冷蔵庫で長時間保存するべきではない。冷蔵庫内の3~5℃程度では冬雑草の種子は発芽する可能性があり (例えば Miura et al. 1995), 発芽しなくても種子の死亡が早まる可能性があるからである。長期間保存する場合には、乾燥させるか凍結保存するのが原則である。

採取土壌の乾燥には、長期保存を可能にするほか、軽量化、後述する比重分離法で塩類溶液の比重を低下させず、塩類溶液の害作用を低減させる (Tsuyuzaki 1993) などの利点がある。一方、欠点としては乾燥途中の種子の発芽・死亡や、土壌の硬化で扱いが面倒になる可能性があげられる。土壌ごと乾燥貯蔵した種子の失活速度は、単独で保存する場合と大差ないと考えれば、多くの草種で1~2年の保存は可能だろう。

土壌は、薄く広げれば天日乾燥も可能だが (Thompson & Grime 1979), 乾燥機によるのが確実である。土壌は紙袋に入れてスペースを広く取り、速やかに乾燥させる。含水率が30%程度なら、湿土で1.4kg程度 (乾土で1kg程度) を紙袋に入れて40℃で乾燥させると、4~5日でほぼ完全に乾燥する (小林ら 2008)。30℃では乾燥に時間がかかり、発芽の恐れがある。60℃では種子は死亡するが、2日程で乾燥できる。

乾燥中の発芽の心配がないので、発芽試験やTTC検定を行わないなら、むしろ好都合である (Rahman et al. 2006)

土壌サンプルは、しばしば湿土のまま凍結保存される (Johnson & Anderson 1986)。凍結保存は雑草種子の生存に影響を及ぼさないことが多いようだが (例えば Miura et al. 1995), 対象草種が決まっている場合、影響がないことを確認しておくべきである。乾燥や冷凍保存が難しいなら、採取後すぐに種子の抽出を行う。

3. 分離同定法による埋土種子の調査

分離同定法には、比重の高い塩類溶液を用いて埋土種子を浮かせて取り出す方法と、メッシュや水流などを用いて直接取り出す方法がある (表-1)。

前者は、横井(1897)の開発した作物種子の比重選 (塩水選) を赤座 (1940) が雑草の埋土種子の検出に応用したのが始まりで、「比重選」と呼ばれてきたが (栗野・飯泉 1956; 荒井 1961), 後世「比重選別法」という用語があてられた (渡辺 1978)。一方、同じ種類の種子から良いものを選びとることを意味する「選別」に対し、土粒子という異質なものを種子を「分離」する点に着目した「比重分離法」という用語もよく使われており (高柳 2004), 本稿ではこれを用いる。

後者は、高柳ら (2004) により「直接法」とされたが、本稿では「比重分離法」とよく対をなし、より説明的な「直接分離法」という用語を用いる。直接分離法には、手やピンセットで直接ひろい出す方法も含まれ、ハンドソーティング法 (津田・西廣 2008) と呼ばれる。これは、動物にも共通して使われる用語である (伊藤 2007)。水流を用いる方法は洗い出し法、篩を

用いる方法は篩選別法 (露崎 2004) などとも呼ばれる。

比重分離法、直接分離法にはそれぞれ固有の利点、欠点があるが、目的とする雑草種子の比重と大きさが方法選定の参考になる (付表)。一般に、大きな種子を直接分離するのは容易だが、小さな種子では難しい。一方、比重分離法では種子の比重を考慮する必要がある。また、土壌の性質も選択の基準になる (表-1)。

比重分離法

比重分離法は、採取した土壌に比重の高い塩類溶液を加え、埋土種子を浮かせて取りだすもので、種子のサイズにかかわらずいろいろな草種で使え、簡便で結果がすぐに分かる (高柳 2004)。

ある種の雑草の種子は水でも浮き上がるが、比重を相当高めなければ浮き上がらない草種もあり、比重選定の難しさが比重分離法の欠点の一つとされる (Gross 1990)。しかし、実際には、ほとんどの雑草種子の比重は1.0~1.4の範囲に収まるので (付表)、理論的には、比重1.4以上の塩類溶液を用意すれば種構成が未知の場合でも対応できる。

実際の研究場面では比重1.5以上の溶液が多用されるが (例えば高柳ら 1990; Tsuyuzaki 1993)、土壌水分による比重低下を見込んでいたためだろう。ただ、比重が高いと種子以外の微細な粒子の沈降が悪く、固液分離がしづらいので、比重は必要最小限とする方がよい。比重の低い溶液を用いる場合でも、沈降した土粒子の層と溶液の層の界面付近に種子が集中する傾向があるので (小林ら 未発表)、それらの種子をていねいに回収すれば、回収率は高まる。

効率化のため、遠心分離が組み合わされることがある (Buhler & Maxwell 1993;

Tsuyuzaki 1994; Buhler 1999; Mesgaran et al. 2007) が、1回で分析できるサンプル量が少ないのが難点である。

塩類の種類としては、比重を高めやすく、比較的安価な (25kgで10,000円程度)、炭酸カリウム (K_2CO_3) がよく用いられる (高柳ら 1990; Buhler & Maxwell 1993; Buhler 1999; Ishikawa-Goto & Tsuyuzaki 2004; Mesgaran et al. 2007)。種子発芽に対する害作用が少ない (Tsuyuzaki 1993) のも利点である。ただし、溶液は強アルカリ性なので作業や廃液の処理に気を使う。融雪剤として用いられる $CaCl_2$ は K_2CO_3 よりも安価で、また、溶液が中性で扱いやすい。日本ではアサガオ類の種子の回収に用いられた例がある (小出ら 2008)。ただし、低温では溶解度が低く、比重を十分に高められない。 $MgSO_4$ が用いられた例もあるが (Mesgaran et al. 2007)、これも比重を高めづらい。Malone (1967) が考案した、水200mlに $(NaPO_3)_6$ を10g、 $NaHCO_3$ を5g、 $MgSO_4$ を25g溶かした溶液もまれに用いられる。比重が1.1程度と低い割には種子を良く回収できるが、 K_2CO_3 などの高濃度溶液には及ばず、攪拌と上澄みの分離が何度か繰り返して行われる (Ball & Miller 1990)。

塩類溶液の水面に浮き上がった種子の回収法としては、スプーンなどですくい取って回収する方法 (すくい取り法) とアスピレータを用いて吸い取る方法 (吸引ろ過法) が考えられる (小林ら 2008; 高柳ら 1990)。

図-2に、比重分離による埋土種子の抽出手順と必要な器具の例を示した。この方法では、1回当たりの土壌サンプルは乾土で200gとし、500mlのビーカーに300ml程度の塩類溶液を用いるのが標準である。

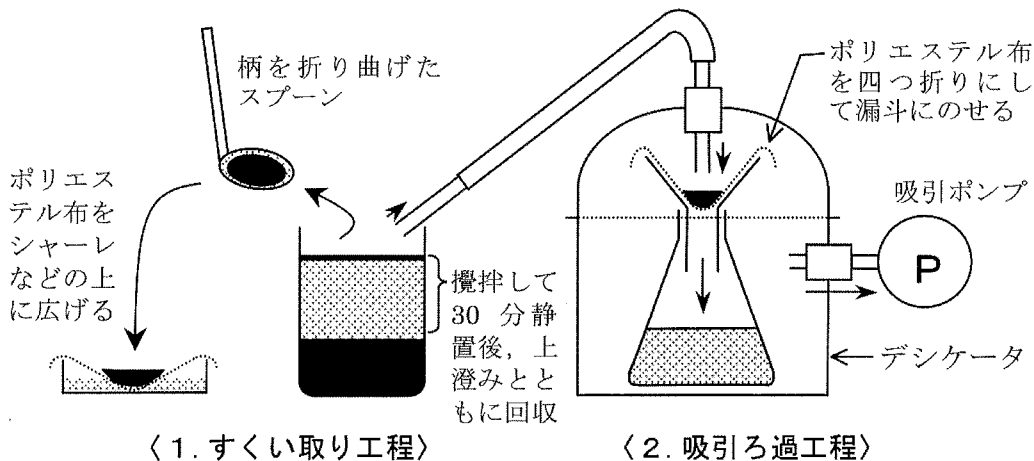


図-2 比重分離法による埋土種子の分離例

一般に、比重分離法は有機物が多い土壌では非効率である (Gross 1990)。これは抽出作業が面倒なことで、抽出物に有機物が多く混ざり、種子の選別に時間がかかることによる。前者については、大きな残さをあらかじめ取り除いておくことである程度解決できる。

第2図に示したすくい取り工程には特別の装置は不要で、これだけで最終的な回収種子数の95%程度を回収できる。より正確なデータが必要な場合にはすくい取りに続いて吸引ろ過も行うべきだが、埋土種子数の大まかな把握にはすくい取りだけで十分である。

直接分離法

大きな種子ではハンドソーティング法が用いられることもあるが、耕地雑草の種子は小さいので、篩やポリエステルなどの化学繊維のメッシュを用い、水流で種子を分離するのが現実的である。最も簡単には、正方形に切ったメッシュに土壌を入れ、巾着のように紐で口をしぼる (小林ら 未発表)。水洗後、紐をほどけば布に残さが乗った状態になるので、扱いが容易である。メッシュの袋も用いられる (Mesgaran et al. 2007;

市原ら 2010)。大がかりな調査では水流と篩を利用した特殊な装置が用いられるが (Kovach et al. 1988; Gross & Renner 1989; Yenish et al. 1992; Wiles et al. 1996)、原理は手作業による方法と変わらない。

メッシュの目は大きいほど抽出作業が短時間で済み、夾雑物や土粒子を大きく減量できるので種子の選別も容易だが、対象草種の種子の確実な回収のためには、一定未満の細かさが必要になる。

メッシュを用いる場合、角目 (目開き) を a 、種子の長径を x 、長径と直行する最大の断面での長径を y 、短径を z とすると ($z \leq y \leq x$; 図-3)、角目が z よりも小さければ種子を通すことはない (基準1)。

しかし、オオイヌタデ、イヌホオズキのように扁平な種子の回収には z では角目が細かすぎる。このような種子を、金属製の篩など、角目の形が正方形で変形しないものを用いて分離する場合には角目の対角線、すなわち $a\sqrt{2}$ が y よりも小さければよい (基準2)。 $z \leq y < z\sqrt{2}$ であるような種子では基準1、 $z\sqrt{2} < y$ であるよ

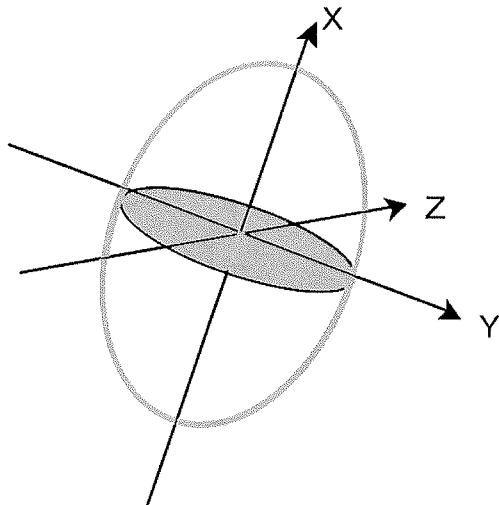


図-3 図-3 雑草種子の模式図

xの方向が、メッシュを最も通り抜けやすい。したがって、直接分離法で必要になるメッシュの角目を決める場合には、xと直交する最大の断面のサイズと形態、すなわちy,zの値が重要になる。

うな扁平な種子では基準2の方が値が大きくなるので、それぞれ角目がz, $y/\sqrt{2}$ かそれより少々小さめの篩を選定する。

付表に示した草種について、0.212mmから2mmの11段階の角目の篩を用いて、篩の目を通らない最大の角目を調べたところ、上述した理論上の値と良く一致した(小林ら 未発表)。ポリエステルメッシュなど角目の形がひし形に変形するものでは、三平方の定理により、 $(y/2)^2 + (z/2)^2 \leq a^2$ を満たす必要がある(基準3)。

基準2は基準3の特殊な場合であり、 $y=z$ となる種子では両者は一致するが、扁平な種子では基準3は基準2よりも小さい(厳しい)値となる。付表に示した草種について、基準3により最大限の角目を求めると、アゼナ類などごく少数を除き、0.2mm以上と試算される。種構成が未知であっても0.2mm角目のメッシュで大半の草種の種子が回収可能ということである。

一般的には、直接分離法は比重分離法よりも手間がかかるので、種子が大きく、目の粗いメッシュを使える草種に適当な手法と言える。ただ、作業能率は土壌の粒径組成にも大きく依存し、粘土質の土壌の場合、0.2mm角目のメッシュでも短時間で種子を分離できる。逆に、砂土が50%を超えるような土壌では、0.2mm角目での分離は事実上不可能である(小林ら 未発表)。

4. 種子の選別・同定

ハンドソーティング法を除き、土壌からの抽出物には種子以外の夾雑物が含まれており、そこから種子を取り出す必要がある。この作業は特に効率化が難しい。

選別・同定は、こうした夾雑物が多いほど時間がかかる。また、土壌中の砂土の含有率が高いと、土粒子が多く残り、作業に長時間を要する(Wiles & Schweizer 1999)。比重分離法は砂土をよく分離できるので(Mesgaran et al. 2007)、砂土の比率が高い土壌に向いている。当然、種子の数や種数が多ければ時間がかかる(Gross & Renner 1989)。

また、目の細かさが異なる複数の篩を連続して用いることで草種をある程度分別する方法が工夫されている(Wilson et al. 1985; Gross & Renner 1989; Dessaint et al. 1991; Dorado et al. 1999; Smuntný & Křen 2002)。この方法は、しばしば比重分離法と組み合わせられる(Benoit et al. 1989; Dorado et al. 1999)。森林土壌では埋土種子の大きさの範囲が広いので、目の細かさをおおざっぱに組み合わせても分別効果が得られるが(津田・西廣 2008)、耕地土壌では微妙に異なる細かな目の篩の組み合わせが必要である。

作業の効率化のため、写真の解析による効率

化が試されているが(Buhler & Maxwell 1993; 高柳 2002), 種子の形態が似通った草種の同定や生死判別に難があることなどから, 普及には至っていない。

同定法として最も確実なのは現物との見比べであり, 重要な草種の種子の標本を持っておくことは, 同定作業の基本である。現物がない場合には, 中山ら(2000)や浅野(1995), 石川(1994)の種子図鑑を用いる。しかし, これらには重要な耕地雑草, 特に比較的新しい侵入雑草が掲載されていない場合がある。侵入雑草については, 草種は限られるが, 清水ら(2001)の図鑑に種子や果実の写真集が掲載されている。Davis(1993)やMartin & Barkley(2000)の種子図鑑は北米の植物を対象としたもので, 新しい侵入雑草の同定に役立つほか, 日本と共通の草種も多い。Bryson & DeFelice(2009, 2010)の雑草図鑑も北米の雑草が対象だが, 掲載されたほぼ全ての草種で種子の写真が付されている。草種によっては大井(1983), Iwatsuki et al.(1993, 1995, 1999, 2001, 2006), 長田(1993), 笠原(1968), 清水ら(2001)などの植物誌, 図鑑類も同定の参考になる。ダイズ作, ムギ作, 水稻作における重要な雑草については, 澁谷ら(2010), 浅井ら(2010), 住吉ら(2011)にも種子と幼植物の形態に関する記述がある。

前年までの発生雑草の種構成は, 候補草種を絞り込むための決定的な情報だが, 圃場履歴の情報だけでも価値がある。例えば, 同じダイズ栽培でも, 畑圃場ならタイヌビエの種子の存在はあり得ないし, 逆に, 前年に水稻を栽培した転作田の埋土種子の多くは水田雑草である可能性が高い(小林 2007)。

IWMの前提としての埋土種子分析のためには, 重要な雑草を網羅し, それらの生態や分布

情報も盛り込まれた雑草種子の図鑑の整備が必要かもしれない。

5. 生死判別

種子の生死判別の最も簡単な方法は, 形態観察と押しつぶし法(高柳 2004)の組み合わせである。欠損があったり, ピンセットで押しつぶれる種子は死亡, 内容物が固く, 充実しているものを生存とみなす(Baskin & Baskin 1998)。果皮や種皮をむき, 種子, 特に胚を直接観察すればより確実である。

広く行われている種子の生死判別法に, TTC検定(Cottrell 1947)がある。胚の断面が露出するように切断した種子を, TTC試薬(TTC(2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride)の0.1%水溶液)に浸漬して数時間から一昼夜, 発芽適温の暗所に置き, 胚が赤く染まった種子を生存種子とみなす(山末 2001)。胚を切断しない場合は1.0%のTTC試薬を用いる(Baskin & Baskin 1998)。この方法は, 種子の休眠状態によらず適用可能とされる。重要な耕地雑草の種子への適用法は, 澁谷ら(2010), 浅井ら(2010), 住吉ら(2011)が参考になる。

押しつぶし法とTTC検定による生死判別はほぼ一致する草種も多く(Borza et al. 2007), 一度確認をして問題ないなら, あとは押しつぶし法によることも考えられる。実際, 多くの学術論文で押しつぶし法が採用されている(Baskin & Baskin 1998; Dorado et al. 1999)。

なお, 比重分離法における1時間程度の高濃度の塩類溶液への浸漬は, 乾燥種子の場合, 事後に良く洗浄すればTTC検定に影響を与えないようだが(小林ら 未発表), あらかじめ確認をしておく必要があるだろう。

生死は発芽試験で判別されることもある。こ

の場合、好適な発芽条件で発芽したものを生存種子とみなす。発芽適温は、多くの夏雑草で20～30℃、冬雑草で10～20℃とされる（伊藤1993）が、夏雑草、冬雑草ともに低温では発芽に時間がかかるので、発芽適温の範囲で高めの温度設定が有利である。また、多くの雑草種子は光で発芽が促進され（Wesson & Wareing 1967）、昼夜の変温（Thompson & Grime 1983）も発芽を促進することが多い。ただし、発芽に好適な条件を与えても種子が休眠していれば発芽はみられず、特に、散布直後の雑草種子は強い休眠状態にあって、ほとんど発芽しない草種も多い。あらかじめ湿潤暗条件にしばらく静置するなどで休眠を打破することが対側として想定されるが、全ての種子が覚醒するとは限らない。

発芽試験で発芽した種子の生存は疑いないが、未発芽種子が死亡しているとは限らない。一方、TTC検定には手間がかかる。押しつぶし法は簡単だが、信頼性に疑念がないではない。このように、生死判別法はどれも一長一短なので、調査の目的やどの程度手間をかけられるかにより、適当なものを選ぶことになる。

なお、信頼性を損なわず、手間を省く手段として、これらの方法の組み合わせが考えられる。例えば、発芽試験の後、未発芽種子をTTC検定に供する（Wilson et al. 1985）。発芽試験で発芽した種子を休眠覚醒種子とみなせば、休眠状態の検定も合わせて行えることになる。ただし、比重分離法で用いる塩類溶液は発芽に影響を与えることがあり（Tsuyuzaki 1993）、直接分離法でも種子の吸水・乾燥の繰り返しや、吸水状態での露光で発芽性が変化する可能性があるので、休眠状態や発芽性のデータは参考値と考えた方が無難である。

6. 発芽法による埋土種子の調査

発芽法は、採取した土壌に定期的に灌水するなど、発芽に好適な条件を与え、発芽した幼植物を同定する方法である。可能な限り多くの個体を速やかに発芽させ、同定可能になるまで枯らさずに生育させることが重要で、そのための様々な工夫が試されている。

発芽床の準備と管理

土壌は、出芽可能深度を超えないように深さ1～3cm程度（Leck & Graveline 1979; Thompson & Grime 1979; Hutchings & Booth 1996; Thompson 1986; Mulugeta & Stoltenberg 1997b）に薄く広げて容器に入れる。容器の設置面積の節約を主目的として、直接分離法で土壌を除いた後、残さを培地の上ののせて発芽させることもある（Ter Heerdt et al. 1996; Travnicek et al. 2005）。

供試土壌は、普通、試験の途中で定期的に攪拌して発芽を促す（Thompson 1986; Cardina et al. 1991; Clements et al. 1996; Hutchings & Booth 1996; Teasdale et al. 2004）。土壌を乾燥させると実生が枯死したり、未発芽種子の休眠性が変わる危険性があるので下面給水が行われる（Thompson 1986）。水田雑草が対象なら、湛水状態とする（佐合・小松崎 1995）。湛水状態の保持は、畑条件で土壌水分を一定に保つよりも容易なので、発芽法は水田雑草により適した方法と言える。

容器は雨よけハウスやファイトロン内に置く。温度制御ができる場合には、上述の発芽試験による生死判別に準じて設定を行う。

夏雑草と冬雑草など、休眠・発芽生態が大きく異なる草種を同時に対象とする場合は、容器を複数用意して異なる条件を与えるか、同じ土壌サンプルに対して異なる条件を連続して与え

る(鷺谷 1989)。転作田を対象として水田雑草と畑雑草の両方を検出したい場合には、複数の水分条件を用意する必要があるだろう。

いずれにしても調査は長期間の継続が必要で、種子休眠が浅い草種でも数週間(小林ら 2000)、通常は数ヶ月で(Leck & Graveline 1979; Ball & Miller 1989; Hill et al. 1989; 佐合・小松崎 1995; Cardina & Sparrow 1996; Clements et al. 1996)、2年間継続した例もある(Froud-Williams et al. 1983)。また、発芽法による調査の後、さらに分離同定法で未発芽の種子が回収される場合もある(Cardina et al. 1991; Mulugeta & Stoltenberg 1997a,b)。ただし、調査期間が長いと、種子の寿命の短い草種では未発芽のまま死亡する種子が増える可能性がある。

幼植物の同定

実生は、同定できるまでその場で、または移植して生育させる。しかし、一般的な図鑑類には幼植物の形態の記述はほとんどない。浅野(1995)や笠原(1968)の図鑑は幼植物の同定に役立つが、網羅的でない。北米の雑草を対象だが、Bryson & DeFelice (2009, 2010)の雑草図鑑には幼植物の写真が載っている。重要な耕地雑草については濫谷ら(2010)、浅井ら(2010)、住吉ら(2011)の総説にも記述がある。一部の広葉雑草では、出芽直後には子葉に種皮が付着していることがある。種皮や穎が土中に残る草種でも静かに引き抜けば回収できることがあり、同定の手がかりになる。

幼植物による同定が難しく、実生を長期間生育させざるを得ないことも多い。種子と同様、幼植物同定のための資料の整備も大きな課題である。

発芽法に基づく簡易調査手法の可能性

以上は、埋土種子の数をある程度正確に推定するために必要な操作で、特定の年次だけを対象として、圃場間の違いを相対的に評価するだけなら、作付前に採取した土壌をしばらくハウス内に置くだけでも、それなりの情報を得ることができる(古原 私信)。特に、水田雑草が対象で、湛水管理が可能なら、調査を飛躍的に簡便化できる可能性がある。分離同定法についてもさらに簡便化を進める必要があるが、将来、現場レベルの技術として埋土種子分析が広く普及するとすれば、それは発芽法に基づく簡易調査手法かもしれない。

おわりに

私たちは、埋土種子調査は研究者が自らの研究のためだけに行うべきものとは思っていない。IWMが実用技術として広く普及するためには、埋土種子調査の手法が、いずれ農業者自らの栽培計画の策定に役立つような実践的手法にまで高められる必要がある。それには、単に埋土種子の数や種構成が分かるだけでは不十分で、得られたデータから生じうる雑草害の程度や、将来的な雑草個体群の動態が推定できるものでなければならない。そのためには、とりもなおさずデータのより一層の蓄積が必要である。本稿では調査手法の記述に終始したが、これは雑草害や個体群動態の予測手法については将来の課題とし、読者各位が今後埋土種子の調査を日本各地で実施され、それによってデータの蓄積が飛躍的に進むことを期待してのことである。

「土壌診断」という言葉は既に一般的な用語になっている。肥培管理の合理化や新しい技術の開発の前提としての土壌調査はすでに広く普及しているということである。それと同様に、近い将来、雑草防除の合理化や新技術の開発の前

提として埋土種子の調査が広く行われるようになり、「埋土種子診断」あるいは「雑草診断」なる言葉が一般的な用語として定着することを期待したい。

参考文献

- 赤座光市 1940. 農及園 15, 987-990.
- Albrecht, H. and M. Pilgram 1997. *Plant Ecol.* 131, 31-43.
- 浅井元朗・大段秀記・市原実・石田義樹 2010. 雑草研究 55, 218-227.
- 浅野貞夫 1995. 「原色図鑑 芽ばえとたね-植物 3 態 / 芽ばえ・種子・成植物」. 全国農村教育協会, 東京.
- 栗野仁・飯泉茂 1956. 日生態会誌 5, 140-144.
- Ball, D. A. and S. D. Miller 1989. *Weed Res.* 29, 365-373.
- Ball, D. A. and S. D. Miller 1990. *Weed Sci.* 38, 511-517.
- Baskin, J. M. and C. C. Baskin 1985. *BioScience* 35, 492-498.
- Baskin, C. C. and J. M. Baskin 1998. Germination ecology of seeds with physical dormancy. In: *Seeds*. Academic Press, London, p.19.
- Benoit, D. L., N. C. D. Kenkel and P. B. Cavers 1989. *Can. J. Bot.* 67, 2833-2840.
- Borza, J. K., P. R. Westerman and M. Liebman 2007. *Weed Technol.* 21, 518-522.
- Brenchley, W. E. 1912. *Ann. Bot.* 26, 95-109.
- Bryson, C. T. and M. S. DeFelice 2009. *Weeds of the South*. The University of Georgia Press, Athens.
- Bryson, C. T. and M. S. DeFelice 2010. *Weeds of the Midwestern United States and Central Canada*. The University of Georgia Press, Athens.
- Buhler, D. D. 1999. *Weed Sci.* 47, 416-422.
- Buhler, D. D. and B. D. Maxwell 1993. *Weed Sci.* 41, 298-302.
- Cardina, J., E. Regnier and K. Harrison 1991. *Weed Sci.* 39, 186-194.
- Cardina, J. and D. H. Sparrow 1996. *Weed Sci.* 44, 46-51.
- Clements, D. R., D. L. Benott, S. D. Murphy and C. J. Swanton 1996. *Weed Sci.* 44, 314-322.
- Cottrell, H. J. 1947. *Nature* 159, 748.
- Cousens, R. and M. Mortimer 1995. *Dynamics of weed populations*. Cambridge Univ. Press, Cambridge, pp.64-65.
- Davis, L. W. 1993. *Weed Seeds of the Great Plains: a Handbook for Identification*. University Press of Kansas, Lawrence.
- Dessaint, F., R. Chadoeuf and G. Barralis 1991. *J. Appl. Ecol.* 28, 721-730.
- Dorado, J., J. P. Del Monte and C. López-Fando 1999. *Weed Sci.* 47, 67-73.
- Forcella, F. 1992. *Weed Res.* 32, 29-38.
- Froud-Williams, R. J., R. J. Chancellor and D. S. H. Drennan 1983. *J. Appl. Ecol.* 20, 199-208.
- Gross, K. L. 1990. *J. Ecol.* 78, 1079-1093.
- Gross, K. L. and K. A. Renner 1989. *Weed Sci.* 37, 836-839.
- Hill, N. M., D. G. Patriquin and S. P. Vander Kloet 1989. *J. Appl. Ecol.* 26, 233-246.
- Hutchings, M. J. and K. D. Booth 1996. *J. Appl. Ecol.* 33, 1171-1181.
- 市原実・山下雅幸・澤田均・石田義樹・稲垣栄洋・木田揚一・浅井元朗 2010. 雑草研究 55, 16-25.
- 石川茂雄 1994. 「原色日本植物種子写真図鑑」. 石川茂雄図書刊行委員会, 東京.

- Ishikawa-Goto, M. and S. Tsuyuzaki 2004. J. Plant Res. 117, 245-248.
- 伊藤雅道 2007. ハンドソーティング. 日本土壤動物学会編「土壤動物学への招待～採集からデータ解析まで」. 東海大学出版会, 秦野, pp.31-33.
- 伊藤操子 1993. 「雑草学総論」. 養賢堂, 東京, p.58.
- Iwatsuki, K., D. E. Bufford and H. Ohba (eds) 1993, 1995, 1999, 2001, 2006. Flora of Japan Volume 1, 2a, 2b, 2c, 3a, 3b, Kodansha, Tokyo.
- Johnson, R. G. and R. C. Anderson 1986. American Midland Naturalist 115, 123-130.
- 小出直哉・野村有美・谷俊男・林元樹・遠藤征馬 2008. 土壌中から帰化アサガオ類の種子を効率的に回収する方法. 平成19年度「関東東海北陸農業」研究成果情報.
http://narc.naro.affrc.go.jp/chousei/shiryou/kankou/seika/kanto19/10/19_10_36.html
(2011年12月に確認)
- 笠原安夫 1968. 「日本雑草図説」. 養賢堂, 東京.
- 小林浩幸 2007. 農及園 82, 457-462.
- 小林浩幸・中村好男・渡邊好昭 2000. 45(別), 114-115.
- Kobayashi, H. and A. Oyanagi 2005. Weed Biol. Manage. 5, 53-61.
- 小林浩幸・好野奈美子・内田智子 2008. 雑草研究 53(別), 108.
- Kovach, D. A., D. C. Thill and F. L. Young 1988. Weed Technol. 2, 338-341.
- Leck, M. A. and K. J. Graveline 1979. Amer. J. Bot. 66, 1006-1015.
- Malone, C. R. 1967. Weeds 15, 3891-3892.
- Mesgaran, M. B., H. R. Mashhadi, E. Zand and H. M. Alizadeh 2007. Weed Res. 47, 472-478.
- Miura, R., H. Kobayashi and T. Kusanagi 1995. Weed Res., Japan 40, 271-278.
- Mulugeta, D. and D. E. Stoltenberg 1997a. Weed Sci. 45, 54-60.
- Mulugeta, D. and D. E. Stoltenberg 1997b. Weed Sci. 45, 234-241.
- 中山壮一・柴田泰宙・浅井元朗 2011. 雑草研究

付表 主要雑草の種子の比重と大きさ

科名	和名	比重 (g/cm³)*		大きさ(mm)**		
		乾燥種子	吸水種子	x	y	z
キク	トキンソウ	1.00	1.12	1.10 ± 0.15	0.21 ± 0.03	***
	アメリカセンダングサ	1.20	1.12	5.63 ± 1.06	2.08 ± 0.18	0.73 ± 0.14
	タウコギ	1.15	1.12	6.80 ± 0.67	1.8 ± 0.1	0.67 ± 0.12
	タカサブロウ	1.12	1.17	3.02 ± 0.16	1.72 ± 0.11	0.92 ± 0.07
アカネ	ヤエムグラ	1.09	1.26	1.86 ± 0.12	1.56 ± 0.09	1.25 ± 0.12
ゴマノハグサ	アブノメ	1.34	1.18	0.40 ± 0.03	0.19 ± 0.02	***
	アゼナ	1.31	1.18	0.36 ± 0.02	0.17 ± 0.01	***
	アメリカアゼナ	1.29	1.24	0.38 ± 0.03	0.16 ± 0.01	***
	アゼトウガラシ	1.21	1.18	0.38 ± 0.03	0.25 ± 0.03	***
ヒルガオ	マルバハコウ	1.27	1.29	3.31 ± 0.17	3.06 ± 0.15	2.31 ± 0.13
	マメアサガオ	1.27	1.29	4.23 ± 0.26	3.84 ± 0.16	3.49 ± 0.30
	ホシアサガオ	1.33	1.34	3.79 ± 0.30	3.01 ± 0.12	2.26 ± 0.12
	マルバアサガオ	1.30	1.32	4.45 ± 0.21	3.42 ± 0.38	3.02 ± 0.28
	マルバアメリカアサガオ	1.27	1.32	4.51 ± 0.21	3.42 ± 0.31	3.46 ± 0.38
ナス	イヌホオズキ	1.11	1.14	1.88 ± 0.30	1.47 ± 0.08	0.58 ± 0.05
	オオイヌホオズキ	1.12	1.14	1.51 ± 0.09	1.10 ± 0.04	0.49 ± 0.04
	デリミノイヌホオズキ	1.08	1.16	1.35 ± 0.06	1.04 ± 0.05	0.37 ± 0.03
	ヒロハフウリンホオズキ	1.21	1.17	1.43 ± 0.10	1.16 ± 0.08	0.49 ± 0.04
トウダイグサ	エノキグサ	1.00	1.14	1.72 ± 0.18	1.34 ± 0.08	1.34 ± 0.08
アカバナ	チョウジタデ	1.03	1.19	0.92 ± 0.06	0.32 ± 0.02	***
ミソハギ	ヒメミソハギ	1.17	1.14	0.36 ± 0.03	0.30 ± 0.03	***
	ホンバヒメミソハギ	1.21	1.26	0.42 ± 0.03	0.33 ± 0.02	***
	キシシギサ	1.16	1.26	0.68 ± 0.02	0.22 ± 0.02	***
マメ	カラスノエンドウ	1.38	1.39	2.66 ± 0.23	2.48 ± 0.21	2.37 ± 0.21
	クサネム	1.31	1.15	3.66 ± 0.28	2.67 ± 0.09	1.68 ± 0.11
アブラナ	ナズナ	1.21	1.32	0.89 ± 0.06	0.43 ± 0.04	0.43 ± 0.04
	スカシタゴボウ	1.00	1.02	0.75 ± 0.03	0.59 ± 0.08	0.59 ± 0.08
ウリ	アレチウリ	1.11	1.12	8.01 ± 0.23	6.20 ± 0.21	2.98 ± 0.09
タデ	オオイヌタデ	1.27	1.33	2.10 ± 0.17	1.67 ± 0.19	0.65 ± 0.11
	サナエタデ	1.24	1.32	2.38 ± 0.10	1.96 ± 0.10	0.72 ± 0.07
	ハルタデ	1.26	1.34	1.96 ± 0.13	1.55 ± 0.10	0.84 ± 0.05
	オオハルタデ	1.26	1.34	1.84 ± 0.11	1.36 ± 0.08	0.68 ± 0.05
	イヌタデ	1.29	1.33	1.78 ± 0.04	1.27 ± 0.05	1.08 ± 0.06
	ヤナギタデ	1.26	1.34	1.91 ± 0.15	1.55 ± 0.14	0.96 ± 0.08
スベリヒユ	スベリヒユ	1.03	1.25	0.75 ± 0.06	0.69 ± 0.08	0.38 ± 0.04
ヒユ	アオグイトウ	1.38	1.31	1.06 ± 0.05	0.96 ± 0.04	0.62 ± 0.02
	ホソアオグイトウ	1.38	1.32	1.03 ± 0.06	0.91 ± 0.05	0.57 ± 0.05
	イガホビユ	1.39	1.36	1.00 ± 0.03	0.86 ± 0.06	0.56 ± 0.02
	イヌビユ	1.31	1.28	1.14 ± 0.04	1.04 ± 0.05	0.60 ± 0.08
	ホナガイヌビユ	1.37	1.34	1.03 ± 0.05	0.98 ± 0.04	0.69 ± 0.03
アカザ	シロザ	1.25	1.33	1.20 ± 0.07	1.10 ± 0.07	0.63 ± 0.10
	コアカザ	1.27	1.31	1.04 ± 0.06	0.98 ± 0.05	0.50 ± 0.02
ミズアオイ	コナギ	1.25	1.30	1.01 ± 0.06	0.56 ± 0.04	***
イネ	イヌビユ	1.17	1.32	2.67 ± 0.24	1.62 ± 0.13	1.04 ± 0.07
	ヒメイヌビユ	1.18	1.33	2.59 ± 0.18	1.44 ± 0.08	0.93 ± 0.04
	ヒメタイヌビユ	1.16	1.32	2.94 ± 0.10	1.77 ± 0.06	1.16 ± 0.04
	タイヌビユ	1.12	1.3	3.78 ± 0.19	1.78 ± 0.05	1.16 ± 0.06
	メヒシバ	1.19	1.33	2.10 ± 0.11	0.77 ± 0.05	0.43 ± 0.03
	アキメヒシバ	1.13	1.31	1.53 ± 0.08	0.69 ± 0.04	0.38 ± 0.04
	オオクサキビ	1.22	1.27	1.99 ± 0.06	0.85 ± 0.02	0.55 ± 0.01
	アゼガヤ	1.36	1.27	0.71 ± 0.06	0.43 ± 0.04	0.35 ± 0.09
	カラスムギ	1.26	1.23	8.66 ± 0.38	2.22 ± 0.13	1.75 ± 0.07
	ネズミムギ	1.37	1.25	3.59 ± 0.44	1.32 ± 0.13	0.88 ± 0.13
	スズメノテッポウ	1.35	1.26	1.65 ± 0.12	0.89 ± 0.05	0.49 ± 0.05
	ノハラスズメノテッポウ	1.32	1.26	1.34 ± 0.12	0.67 ± 0.04	0.26 ± 0.04
	カズノコグサ	1.29	1.27	1.98 ± 0.18	0.71 ± 0.07	***
	スズメノカタビラ	1.37	1.31	1.42 ± 0.13	0.58 ± 0.05	***
	イヌホタルイ	1.24	1.36	1.93 ± 0.14	1.70 ± 0.11	0.91 ± 0.07
	タイワンヤマイ	1.23	1.36	1.85 ± 0.07	1.50 ± 0.07	0.70 ± 0.04
カヤツリグサ	ヒデリコ	1.20	1.36	0.64 ± 0.03	0.41 ± 0.02	***
	カヤツリグサ	1.16	1.31	1.34 ± 0.05	0.60 ± 0.05	***
	コゴメガヤツリ	1.21	1.33	1.21 ± 0.04	0.56 ± 0.03	***
	ヒナガヤツリ	1.22	1.32	0.64 ± 0.03	0.38 ± 0.02	***
	タマガヤツリ	1.11	1.26	0.60 ± 0.03	0.35 ± 0.02	***
	イボクサ****	1.40	1.37	1.57 ± 0.16	1.36 ± 0.10	0.64 ± 0.06
ツクサ	ツクサ	1.36	1.39	2.42 ± 0.11	2.44 ± 0.15	1.49 ± 0.13

* : 供試種子 (n≥3) の全てが水面に浮き上がった水溶液の比重であり、種子の真の比重よりも高い可能性がある。

** : 最も長い径をx, xに垂直な最大断面の長径をy, 短径をzとし、実体顕微鏡にて計測した (n=10)。

*** : 種子がごく小さく、かつ、yとzの値に大きな違いが認められない草種についてはzの測定を省略した。

**** : 大きさについては、小種子だけを計測対象とした。