

## 2. 埋土種子調査法の概要

### 2-1 調査手順

埋土種子を調べる方法としては、採取した土壌を調べる方法と、圃場での出芽を調べて、そこから推定する方法の2つが考えられます(図2-1-1)。さらに、採取した土壌を調べる方法には、後述するように、土から種子を分離する方法(分離同定法)と、発芽させて実生を調べる方法(発芽法)があります。一般に、分離同定法は、①次作での雑草の発生量を事前に予測することで栽培管理に役立てたり、②埋土種子量の季節変動や長期的な変化を知るのに適当な方法です。一方、発芽法は、当季における雑草発生量を正確に予測するのに適当な方法です。当季における雑草発生量の予測は、新しい防除技術の効果を慣行技術との比較の上で正当に評価するための圃場試験などで必要になるでしょう。

土壌を採取してから、あるいは圃場で出芽が始まってからでは後戻りができない場合がありますので、調査の目的に応じて、あらかじめ調査方法や時期、採取する量のある程度決めておく必要があります。この項では埋土種子調査法のうち、採取した土壌を調べる方法の概要を説明します。圃場での出芽を調べる方法については、2-4を参照してください。

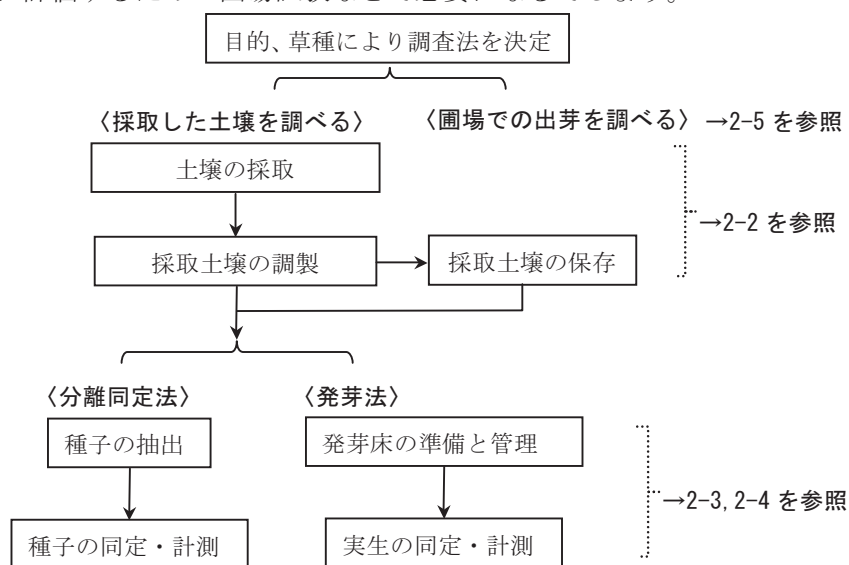


図2-1-1 埋土種子の調査手順の概要

#### 土壌の採取、調製と保存(詳細は2-2)

圃場内の埋土種子の分布は均一ではないので、複数の箇所から、可能な限り多く採取するのが原則です。信頼できるデータを得るためには、一般に、埋土種子の量が少ないほど多くの土壌が必要で、分布が不均一であるほど圃場内の多数の箇所から採取する必要があります。ただ、現実には土壌中に種子がどれだけ含まれているか分からないことが多いでしょうから、多めに採取しておき、十分に均一に混ぜ合わせた後、一定量を計りとして調査に用いるのが合理的です。

採取した土壌は、その後の作業をやりやすくするため、ある程度ほぐし、また、目で見ても明らかな種子以外の粗大有機物などを除いておきます。すぐに調査しない場合には、土壌中の雑草の種子が発芽しないようにすぐに乾燥させるか、冷凍庫で保存します。

#### 採取した土壌を調べる(詳細は2-3、2-4)

前処理が終われば、土壌中の埋土種子の種類や量を調べることになりますが、その方法には、土壌から種子を何らかの方法で取り出して数える方法(分離同定法)と、種子を発芽させ、実生を数える方法(発芽法)があります(表2-1-1)。分離同定法の方が時間がかからず、多くの種子を検出できますが、発芽させる方法にも固有のメリットがあるので、目的に応じて方法を決めます。

分離同定法では種子を同定し、数を調べます。取り出された種子には種子以外の粗大有機物、小石や大きな土粒子がなお大量に混ざっており、そこから種子だけを取り出す必要があります。また、通常問題になるのは生きている種子だけなので、種子の生死の判別もあわせて行う必要があります。一連の作業は、目的とする種子の大きさに応じて、実体顕微鏡かルーペの下で行うのが普通です。

発芽法では発芽した実生を同定し、数を調べます。発芽床を定期的に観察し、出芽した幼植物の数を記録したうえで順に抜き取っていきます。同定ができなかった個体は次の調査まで残しておくか他の場所に移植して、同定できるようになるまで育てます。

表 2-1-1 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 <sup>注1)</sup>		適応草種例 <sup>注2)</sup>
		作業性	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	○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	×発芽性が変化する可能性がある ○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
直接法	篩や水流などにより直接回収	×作業が難しく、時間がかかる	○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する ×季節により結果が異なるなど再現性に問題	・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

注1) 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。

注2) 例示した草種は、他の方法が適応しないことを意味するわけではなく、目的に応じて方法を選択することが望ましい。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ことを目的とするなら、分離同定法が望ましい。

いずれの場合でも、形態だけをたよりに同定を行うこととなりますが、土壌を採取した圃場の情報(例えば前年の発生雑草の種構成、作目など)から候補となる草種の範囲を狭めることができます。同定にあたっては、この冊子の「3. 種子の特徴と調査法」と「4. 雑草種子の写真集」を参考にしてください。また、冊子の末尾には参考文献リストを付してあります。必要に応じて、これらの文献にもあたってください。

[小林浩幸]

## 2-2 土壌の採取と保存

### ①土壌の採取

土壌は、面積を決めて採取します。これは、収量や作物体の量など、農学上の多くの統計量と同様に、雑草個体群を量的に把握する場合も普通、面積当たりに換算するからです。採取する深さは、作土の深さ（例えば15cm）までとするのが普通で、採取する土の体積は面積×深さとなります。

土壌の採取には、市販の円筒形の採土器などを用いるのが普通ですが、塩ビや鉄製の管を打ち込んでも採取できます。一般に、土壌の化学分析のために用いるよりも土壌の量は多く必要ですから、大きめなものを用います。大まかな調査では、園芸用のマルチの穴空け機（ホーラー）が便利です。これを用いると1回あたり、1200cm<sup>3</sup>ほどの土が一度に採取できます。仮に1回の分析に200gの乾土を用いるとすると、採取時の土壌の含水率が20%、仮比重が1.1とすれば約230mlの土壌が必要で、15cmの深さまで採取するなら相当する面積は約15cm<sup>2</sup>、円筒形の採土器であれば、直径は4.4cm以上のものが必要と計算されます。用いる器具の大きさが分析する土の量と一致している必要はありません。大きめの器具を用いて多めに採取し、十分に混合してから重量ベースで一定量を計りとって分析を行えば埋土種子数の推定は可能で、残った土は予備として取っておくこともできます。なお、別途土壌の仮比重を測定しておけば、分析用の土壌は面積や容積を決めずに採取しても、後日、単位面積当たりの埋土種子量を推定することができます。

圃場内の雑草の分布は不均一ですから、当然埋土種子の分布も不均一です。したがって、その圃場に存在する平均的な埋土種子の量を知るためには、同じ場所からたくさんの土壌を採るのではなく、圃場内のいろいろな場所から少しずつ採った方が、分析する土壌の量は同じでも、より確からしいデータを得ることができます。平均値だけでなく、ばらつき具合も知るためには、サンプルを別々に分析する必要がありますが、平均的な値を知るだけで足る場合には混合（コンポジット）したものの一部だけを分析します。なお、あらかじめ圃場をていねいに耕起、砕土、整地しておくことができれば、埋土種子の分布がより均一になってサンプル間のばらつきが減り、採取作業も容易になることが期待されます。農家圃場での実施は難しいですが、所内の実験では、調査の精度を高めるために取りうる工夫の一つと考えられます（コラム「イヌビエの埋土種子数の直接計数法」（12ページ）を参照）。

得られるデータの信頼性は、分析する土壌の量や採取する箇所数で決まるので、それを適切に設定することは極めて重要です。しかし、データの信頼性は、調べようとする草種の種子密度にも依存するため、結局、事後的にしか決まらないものです。具体的には、コラム「サンプリング計画」（5ページ）に、採取する土壌の量や方法についての理論が説明されています。種子の密度の見当がおおよそついている場合にはそれに応じて、未知の場合には多めに採取しておいて、とりあえずその一部について分析を行い、足りなければ追加で分析をするのが原則です。分析の労力や保管場所の制限などを考え合わせると、圃場当たりの土壌採取量は、乾土で2kg程度までとするのがよいでしょう（この場合でも、1箇所から全てを取るのではなく、5～10箇所程度から採取した土壌をよく混合し、一定割合をサンプルとして、他は圃場に戻します）。

除草剤による防除を主体とした通常の水稲作では、1m<sup>2</sup>あたり数粒といった極めて低い密度のノビエ



図 2-2 土壌採取には園芸用のホーラーも使える

類種子が問題となることがあります。このような値の極めて小さな領域で精度の高い推定を行おうとすると、莫大な量の土壌が必要になる可能性があります。こうした分析には、この冊子で解説する調査法はなじまないかも知れません。あくまでも、総合的雑草管理のための埋土種子量のおおまかな把握、つまり、1 m<sup>2</sup> 当たりの種子数が2であるか5であるかを突き止めるのではなく、10未満なのか、100なのか、1000なのか、といった程度の把握を目的とした調査と考えてください。

土壌を採取する時期の選定も重要です。雑草埋土種子の量や種構成は、季節的に大きな変動が見られることが多いからです。まず、事前に埋土種子量を知り、それを栽培に活かすことを目的とするなら、分析結果が遅くとも作物の播種前にわかっていなければいけません。したがって、例えば6月上旬播種の夏畑作物なら、遅くとも5月中に採取する必要があるでしょう。ただし、前年の秋など、非常に早い時期の採取は、その後、埋土種子の量や種構成が大きく変化することがありますので、その予測がある程度可能であることが前提になります。次に、ある栽培法のもとで雑草の埋土種子が増えたのか減ったのかを知るためには、作物の播種時と収穫時に、2年以上続けて採取するのが普通です。2年以上続けるのは、上述したように、収穫から次の播種までに埋土種子の量や種構成が変化するため、播種時と収穫時の比較だけでは判断ができないからです。また、年間を通じた消長を調べる必要があることもあるでしょう。この場合には、年間に何度も採取する必要がありますが、機械的に1か月ごとなどとするよりも、作物、雑草の生育ステージや栽培暦に応じて採取時期を決める方が合理的です。重要な時期としては、例えば作物の播種前、耕起の前後、新たな雑草種子散布の直前、種子散布終了直後、作物の収穫時があげられます。

[小林浩幸]

## サンプリング計画

### 〈サンプル数と推定精度〉

土壌サンプリングの方法、特に必要なサンプル数は対象圃場における対象草種の種子密度とその分布型によって、また密度推定の要求精度によって大きく変わります。もちろん、どのような場合でもサンプル数を多く取るほど推定精度は向上するわけですが、現状埋土種子の調査には多くの人手と時間を要するケースが多く、調査可能なサンプル数はそうした要因によって決まることが多いと考えられます。以下、サンプル数と推定精度の関係について述べ、ついで実際のサンプリング法について提案します。なお、以下の記述は全て対象圃場がサンプリングの総面積に対して十分大きい場合、すなわち無限母集団とみなせる場合についてのものです。

よく知られているように、 $q$  個のデータの平均値  $m$  の分散は、個々のデータの分散が  $\sigma^2$  だとすると  $\sigma^2/q$  となります。この関係を式で表すと(1)式のようになります。

$$V(m) = \sigma^2/q \quad \dots\dots (1)$$

埋土種子調査の推定精度  $D$  を相対標準誤差  $\sqrt{V(m)}/m$  で表し (久野、1986)、(1)式を代入すると、

$$D = \sqrt{V(m)}/m = (\sigma/\sqrt{q})/m \quad \dots\dots (2)$$

精度  $D$  とサンプル数  $q$  の関係式が得られます。(2)式の右辺を見ると、[精度] = [標準誤差] / [平均]

の関係になっていることが判ります。また精度Dは、サンプル数 $q$ が一定の場合、 $\sigma/m$ 、即ち変動係数に比例することがわかります。

精度Dは相対標準誤差として定義されているので、値が大きいほど精度が低く、値が小さいほど精度が高い点に注意が必要です。だいたいの目安として、一般的な動態研究で0.2~0.3、詳細な生命表解析を主眼とする集約的な研究で0.1~0.2、やや大まかな鳥瞰的研究で0.3~0.4とされています(久野1986)。

(2)式を変形すると目標精度Dに対する必要サンプリング数が、

$$q = \sigma^2 / D^2 m^2 \quad \dots\dots\dots (3)$$

で得られます。(3)式からは、必要サンプル数 $q$ は、精度Dを一定に保つとすると、 $(\sigma/m)^2$ に比例することがわかります。

ここで、対象とする雑草種の種子がランダムに分布している1枚の圃場を考えます。このとき土壌コアサンプルに含まれる種子数はポアソン分布に従うと想定されます。ポアソン分布では平均と分散が等しい、 $m = \sigma^2$ という性質があるので(2)式は、

$$D = (\sigma / \sqrt{q}) / m = (\sqrt{m} / \sqrt{q}) / m = 1 / \sqrt{qm} \quad \dots\dots\dots (2)'$$

となります。例えば処理可能サンプル数 $q$ が16、コアサンプル中の平均種子数 $m$ が9の場合、精度 $D = 0.083$ でかなり高精度の推定ができることとなります。式を変形すると必要サンプル数が、

$$q = 1 / D^2 m \quad \dots\dots\dots (3)'$$

で得られます。図1は $D = 0.1, 0.2, 0.4$ の場合の必要サンプル数と種子密度の関係を示したものです。

これは種子がランダムに分布するという理想的状況下での必要サンプル数です。実際の圃場では、前年の雑草の不均一な発生などが原因で、 $m < \sigma^2$ となるのが普通です(集中分布と呼びます)。したがって図1は、これより増えることはあっても減ることはない最低限のサンプル数と考えるべきでしょう。

#### 〈サンプリング計画の実際〉

通常、圃場の埋土種子の様子は(特に現地では)予備知識が全くないのが普通です。調査を始めてみて目標精度にはるか及ばないことが明らかになった場合、改めて追加サンプルを取ることは、多数の

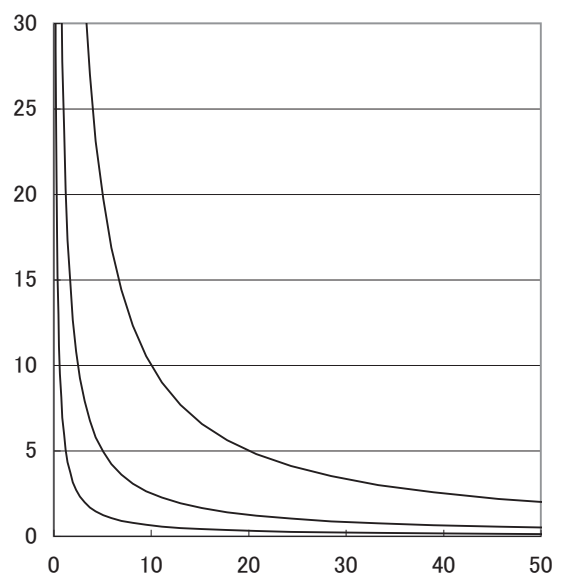


図1 ランダム分布する埋土種子の密度推定における必要推定精度 $D = 0.1, 0.2$ および $0.4$ の場合の種子密度と必要サンプル数との関係

圃場を相手にする場合には事実上不可能となるでしょう。そのような事態を避けるためには、以下のよう  
なサンプリング計画が有効です。

0. 労力などの制限要因から調査可能上限数  $Q$  と下限調査数  $q_0$  を決める ( $q_0$  の決定の際、検出す  
べき種子密度の下限値が決まっている場合、またはおおよっぱにでも種子密度が想定できる場合  
には図 1 が参考となる)。

1. 対象圃場を調査可能上限数の  $Q$  区画に分割する。

2.  $Q$  区画から土壌サンプルを無作為 (完全無作為抽出または系統抽出) に採取する。

3.  $Q$  個の土壌サンプルから無作為に予め決めておいた最低調査数  $q_0$  個のサンプルを選び種子数  
を調査する。

4. 得られた  $q$  個 (最初は  $q_0$ ) のデータをもとに、平均  $m$  と分散  $\sigma^2$  を推定し、(3)式で必要サン  
プル数  $q_D$  を求める。

5.  $q_D < q$  の場合：調査終了。

$q_D > q$  の場合：1 個の追加サンプルを残ったサンプルから無作為に選び種子数を調査する。4  
へ戻る。

当然のことながら、この方法でも最終的に  $q_D > Q$  の場合には、目標精度は達成できません。調査可  
能上限数  $Q$  を増やすことなく推定精度  $D$  を上げるためには、前段で述べたことから明らかなように、平  
均値  $m$  を大きくするか、標準偏差  $\sigma$  を小さくすることが必要です。

平均値  $m$  を大きくする方法は、現実的には 2 のプロセスで、採取する土の量を増やすしかありません。  
例えば、1 区画から  $n$  個の土壌コアを取り、それらを合わせて 1 サンプルとした場合には、平均は  $n$  倍、  
標準偏差は  $\sqrt{n}$  倍になるので、一定の  $Q$  に対する精度  $D$  は  $1/\sqrt{n}$  倍に向上します。しかしこの方法では、  
調査すべき土の量も  $n$  倍になってしまい、労力的にサンプル数を  $n$  倍に増やしたのと大差がない場合も  
多いと思われます。ちなみに土壌コアを  $n$  個取る代わりに容積が  $n$  倍のコアサンブラを用いることも考  
えられますが、区画内の種子の分布がランダムな場合を除いては、 $n$  倍容積のコアサンブラで 1 個取る  
方法は、基準容積のコアサンブラで  $n$  個を取る方よりも精度は劣ります。

一方、調査する土の量を増やさずに標準偏差を小さくする方法としては、1 区画から  $n$  個のサンプル  
を採取し、それを十分に混合してその  $1/n$  を調査するという方法があります。今、 $Q$  区画からそれぞれ  $n$   
個のサンプルを無作為に採取したとします。個々のサンプルに含まれる種子数の圃場全体の分散  $\sigma^2$  は、  
 $Q$  個の区画内それぞれにおける分散  $\sigma_n^2$  と  $Q$  個の区画間の分散  $\sigma_i^2$  に分割できます。この内  $\sigma_n^2$  は  $n$  個の  
サンプルを十分に混合・攪拌することにより小さくすることができます。ある区画の  $n$  個のコアサンプ  
ル内の種子数の平均が  $m'$  ( $m' < \sigma_n^2$ ) とすると、十分な混合・攪拌により内部の種子の分布はランダム  
に近くなることが期待されます。ここから  $1/n$  (元のコアサンブラの容量相当) を 2 次サンプリングす  
ると、そこに含まれる種子数は平均  $m'$  のポアソン分布に従うと仮定できることから、全体の分散  $\sigma^2$   
は、 $\sigma_n^2 - m'$  だけ減少させることができます。この方法は  $m'$  に比べて  $\sigma_n^2$  が大きいほど有効性が増しま  
す。

以上、サンプリング計画について述べましたが、ここでは  $m > \sigma^2$  となるような、均一性の高い種子  
分布は想定しませんでした。それは、そうした分布が自然界ではまれなことによります。もちろん、種  
によってはそういった分布をすることがないとは言えませんが、その場合の埋土種子調査はここで述べ  
た集中分布の場合よりも容易なものになるはずです。

[中山壮一]

## ② 採取後の処理と保存

湿土のまま室内または冷蔵庫で長期間保存するのは望ましくありません。通常の冷蔵庫の設定温度である4~5℃程度では雑草の種子は発芽する可能性があり、また、発芽しなくても齢が進行し、種子の寿命を短くする可能性があるからです。湿土のまま長期間保存する必要がある場合には、乾燥させるか冷凍保存する必要があります。サンプルを乾燥させることにはいろいろな利点がありますが、一方、欠点も考えられます（表 2-2-2）。

表 2-2-2 サンプルを乾燥させる利点と欠点

利点	サンプルを軽量化できる。 室内で長期間保存ができる。 比重分離に用いる塩類溶液の比重を低下させない。 塩類溶液浸漬の害作用を低減させる(Tsuyuzaki 1993)。
欠点	設定温度によっては乾燥中に種子が発芽または死亡する可能性がある。 土壌の硬化によりその後の取り扱いが面倒になることがある。

乾燥後に土塊を崩して細かくするには労力がかかるので、採取直後に手で簡単に崩しておきます。またその際、ついでに石、木片などの明らかに種子とは異なる粗大な残さを取り除きます。水田から採取した含水率の高い土壌は、湿土の状態ではほぐすのは容易でなく、かといってそのまま乾燥させると硬化が著しいので、少し乾燥させてからあらためてほぐすなどの工夫が必要です。乾燥がうまくできないようなら、湿土のまま、種子の抽出作業を行ってしまうことも検討します。この場合、短期間なら冷蔵庫に保存しておくことができますが、その間も種子の死滅は進行し、冬雑草は発芽する場合があることも知っておく必要があります。なお、湿土でもマイナス30℃程度の冷凍庫に入れれば相当長期間、保存できますが、凍結が埋土種子の生存に影響を及ぼさないことを草種ごとに確認しておく必要があります。

土壌サンプルを乾燥させる場合には、紙袋に入れて、乾燥機で40℃程度の温度で乾燥させるのがよいと思われます。乾燥機の中で紙袋が相互に接触しないようにして、できるだけ早く乾燥が進むように心がけます。含水率が30%程度であれば、湿土で1.4kg程度（乾土で1kg程度）を紙袋に入れて40℃で乾燥させた場合、4~5日でほぼ完全に乾燥します。30℃では十分に乾燥することができず、乾燥中に雑草の種子が発芽し、その後乾燥により死亡する場合があります（図 2-3）。60℃なら2日程度で乾燥できますが、種子は死亡する可能性があります。いずれの場合でも、熱の種子への影響を最小限に留めるため、乾燥が終われば速やかに取り出し、その後は室内にて乾燥貯蔵します。土ごと乾燥貯蔵した種子の失活速度は、採取種子を単独で保存する場合と大差ないと考えれば、通常1~2年の保存は問題ないと考えられます。



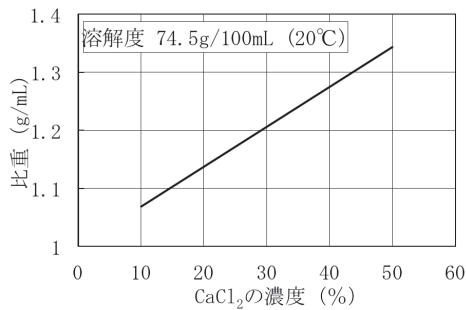
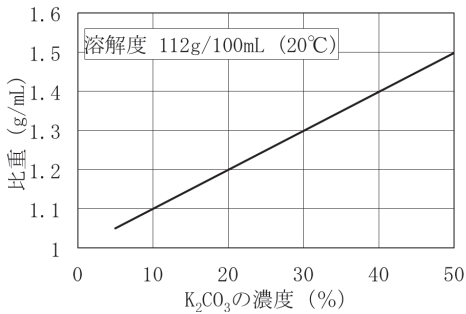
図 2-3 土壌の乾燥中に発芽し、死亡したメヒシバの種子  
胚の部分が肥大し、発芽が不可逆的に進行した状態が認められる。このような種子は、圃場から採取した時には生存していたとする解釈も成り立つ。

【小林浩幸】

## 2-3 分離同定法による埋土種子の調査

### 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出すもので、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唯一の方法です。塩類としては、比重を容易に高くでき（表 2-3-1）、比較的安く大量に入手できることから（15kg で 10,000 円程度）、炭酸カリウム（ $K_2CO_3$ ）がよく用いられます。溶液は強アルカリ性を示すので、作業にはゴム手袋を着用するのが無難です。また、廃液の処理は、研究所などで定められた方法で行ってください。融雪剤として用いられる  $CaCl_2$  は安価で、溶液が中性で扱いやすいという利点があります。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場合がある（表 2-3-1）ので注意が必要です。また、Malone（1967）が考案した、水 200ml に  $(NaPO_3)_6$  を 10g、 $NaHCO_3$  を 5g、 $MgSO_4$  を 25g 溶かした溶液が用いられることもあります。比重が 1.1 程度と低い割には種子を良く回収できますが、 $K_2CO_3$  などの高濃度溶液には及びません。



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）が考えられます（小林ら 2008；高柳ら 1990）。すくい取り法は吸引ろ過法の半分程度の作業時間で種子を取り出せ、特別な装置も不要ですが、吸引ろ過法による回収種子数の 95% 程度を回収できます。より正確なデータが必要な場合には吸引ろ過法が望ましいですが、雑草埋土種子による圃場の汚染程度を大まかに把握するにはすくい取り法で十分と考えられます。下のコラムに、50%炭酸カリウム溶液を用いた比重分離法の例を示しました。用いる塩類などが違っていても基本的な操作には変わりがないので、必要に応じて適宜変更を加えて試行してください。

小林ら 2008；高柳ら 1990）。すくい取り法は吸引ろ過法の半分程度の作業時間で種子を取り出せ、特別な装置も不要ですが、吸引ろ過法による回収種子数の 95% 程度を回収できます。より正確なデータが必要な場合には吸引ろ過法が望ましいですが、雑草埋土種子による圃場の汚染程度を大まかに把握するにはすくい取り法で十分と考えられます。下のコラムに、50%炭酸カリウム溶液を用いた比重分離法の例を示しました。用いる塩類などが違っていても基本的な操作には変わりがないので、必要に応じて適宜変更を加えて試行してください。

小林ら 2008；高柳ら 1990）。すくい取り法は吸引ろ過法の半分程度の作業時間で種子を取り出せ、特別な装置も不要ですが、吸引ろ過法による回収種子数の 95% 程度を回収できます。より正確なデータが必要な場合には吸引ろ過法が望ましいですが、雑草埋土種子による圃場の汚染程度を大まかに把握するにはすくい取り法で十分と考えられます。下のコラムに、50%炭酸カリウム溶液を用いた比重分離法の例を示しました。用いる塩類などが違っていても基本的な操作には変わりがないので、必要に応じて適宜変更を加えて試行してください。

【小林浩幸】

#### 【具体例】50%炭酸カリウム溶液を用いた簡便な比重分離法

##### 〈用意するもの（図 1）〉

- ・ 50%炭酸カリウム溶液（1 サンプルにつき 350ml；下の〈50%炭酸カリウム溶液の作成〉を参照）
- ・ 500ml ビーカー（1 サンプルにつき 1 個）
- ・ 0.2mm 角目のポリエステル布（1 サンプルにつき 1 枚〈すくい取り法〉または 2 枚〈吸引法〉）
- ・ シャーレ（直径 9cm×深さ 2cm）またはそれ以上の容量の容器
- ・ ダブルクリップなどポリエステル布を漏斗に固定するもの 2 個
- ・ 柄をまげたスプーン（すくう部分が 5～6cm 程度のもの）



図 1 比重分離法に必要な器具

これだけですくい取り法による分離が可能。



- ・ 500ml の洗浄瓶 2 本（1 本には 50%の  $K_2CO_3$  溶液を、もう 1 本には水道水を入れておく）
- ・ 500ml 程度のビーカー（水道水を入れておく）
- ・ 吸引ろ過装置一式（（吸引ろ過装置の製作）を参照）

### 〈50%炭酸カリウム溶液の作成〉

水道水 1000ml に対して炭酸カリウムを 1kg 溶かす。発熱反応なので、時間をかければ自然に溶けるが、しっかりとした棒で時々攪拌すると早く溶かすことができる。入り口が大きく開き、下部にコックのついたポリタンクに作り置きをしておく作業がしやすい。

### 〈吸引ろ過装置の製作（図 2）〉

**材料：** 高さ 25～30cm 程度で上と横に口のあるデシケータ、デシケータに適合した穴付シリコン栓 2 個、

内径 5mm のガラス管または樹脂製の管（長さ 10cm のものを 3 本）、真空用ホース（長さ 50cm 程度のものを 2 本）、アスピレータ（30l/分程度；吸引口が 2 本ついているものであれば 2 本をあわせて用い、真空度を高める）、直径 9cm 程度の漏斗、500ml 程度の広口瓶かフラスコ（漏斗や広口瓶は、デシケータのサイズや形状により適切なサイズを選ぶ）



図 2 吸引ろ過装置の製作例

装置の右側のホースの先に吸引ポンプをつなぐ（左）。デシケータは、真空での使用が可能なものを用いる。ろ液の回収には、使用済みの試薬の容器なども使うことができる（右）。

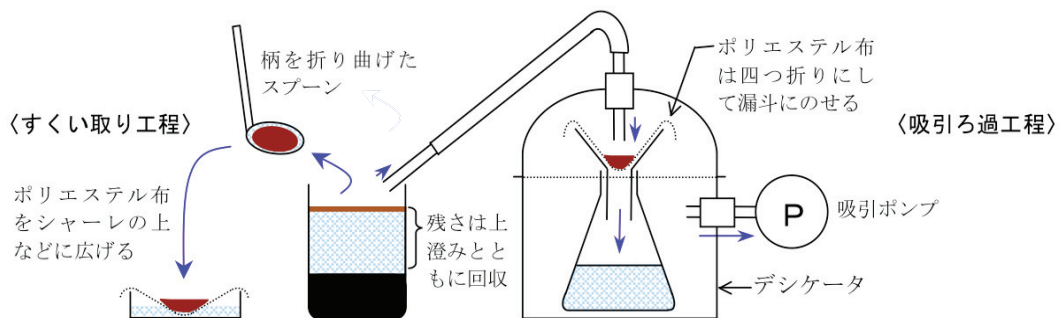


図 3 比重分離による埋土種子の抽出手順

手順：（図 2, 3 を参照）

- (1) デシケータの横の口と吸引ポンプを穴付シリコン栓、ガラスか樹脂製の管、真空用ホースでつなぐ。
- (2) デシケータの上の口と穴付シリコン栓、ガラス管を用いて真空用ホースをつなぐ。ガラス管は、デシケータ内にやや長く突き出るように差し込む。ホースのもう一方の口にはガラス管をつなぐ。このガラス管が吸引口になる。
- (3) デシケータの中に漏斗を差し込んだ広口瓶またはフラスコを入れる。デシケータのふたを閉め、上の口に取り付けられたガラス管の先端が、漏斗の上端よりも若干下になるように取り付け位置を調整する。

## 〈埋土種子の抽出手順 (図3)〉

### 1 比重分離

- (1) 土壌サンプルを改めてよく攪拌してから 200g (乾土相当) を計り取り、500ml ビーカーに入れる。
- (2) 50% $K_2CO_3$  溶液を 350ml 程度加え、しっかりとした棒またはハンドミキサーで、溶液が土壌に完全に行き渡り、こなれるまで攪拌する (図4 (左))。2分程度がめやす。終わればミキサーなどについた残さを塩類溶液でよく洗い流す (図4 (右))。そのまま約 30 分静置すると、下から順に土壌、上澄み、雑草種子を含む残さの 3 層に分かれる (図5)。分離が悪い場合もあるが、30 分以上静置しても状況はそれほど改善しないので、時間がたてば次のプロセスへ。



図4 ハンドミキサーによる攪拌 (左) と洗浄 (右)



図5 攪拌後、概ね 10 分 (左)、20 分 (中)、30 分 (右) 経過した土壌サンプル

### 2-1 すくい取りによる残さの回収

- (1) ポリエステル布を直径 9cm、深さ 2cm のシャーレまたはそれ以上の容量の容器の上に広げる (図6 (右))。ポリエステル中央部分はへこませておく (液が外にこぼれ出ないようにするため)。

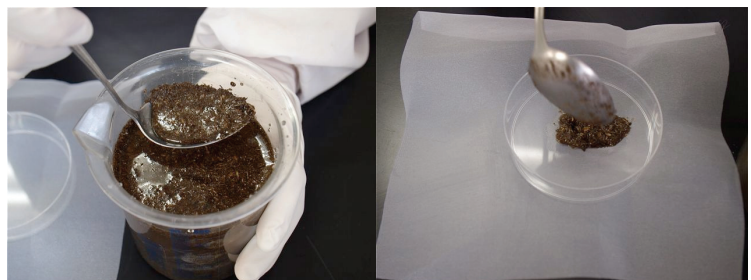


図6 残さをスプーンですくい取り (左)、ポリエステル布の上にあける (右)

- (2) 液面に浮かんだ残さをスプーンですくって (図6 (左))、ポリエステル布の上にあける (図6 (右))。ビーカーの壁面に付着した残さは、ビーカーを傾げるか、洗浄瓶に入れた  $K_2CO_3$  溶液をかけて一旦洗い落とす。目で見ても種子らしいものがなくなるまで続ける。
- (3) すくい終わればスプーンについた残さを洗浄瓶の水道水で良く洗い流し、ポリエステル布の上に落とす。
- (4) ポリエステル布の端々を指でしっかり持って袋状にして、残さが外に出ないように持ち上げ、布の上に残った溶液を絞り出す。→ 〈残さの洗浄と乾燥〉の項へ



図7 すくい取り法で取りきれなかった残さの吸引による回収

### 2-2 吸引ろ過による残さの回収

- (1)~(4)はすくい取り法と共通

(5) もう 1 枚のポリエステル布を四つ折りにして広げ、漏斗に設置する（残さが少ない場合にはすくい取り工程で使った、残さが上についた布を再度利用すればよい）。水圧で布がずれないように 1～2 個のクリップで漏斗に固定しておく（図 2（右））。アスピレータのふたを閉め、すくい取り法でとりきれなかった残さをすべて吸い取る（図 7）。ビーカーの壁面に付着した残さは、ビーカーを静かに傾げるか、洗浄瓶に入れた  $K_2CO_3$  溶液をかけて一旦洗い落とす。上澄みのすべてを吸い取るのが望ましいが、目で見て種子らしいものがなくなればその時点でやめてもかまわない。残さの吸い取りが終わればあらかじめ洗浄用に用意しておいたビーカーの水道水を吸いとして、管内を洗浄する。  
→〈3 残さの洗浄と乾燥〉の項へ

### 3 残さの洗浄と乾燥

- (1) 布の端を持ったまま水道水で十分に洗浄する（図 8（左））。洗浄が終われば再度絞って水分を落としてから実験室内など風のない場所に設置した机の上に広げ、貼り付ける（図 8（右））。
- (2) ポリエステル布上の残さは 1～2 日で乾燥するので、布の上の残さのすべてを保存用の容器か子袋に入れて、検鏡用のサンプルとする。[小林浩幸・好野奈美子]



図 8 ポリエステル布の端々を持って袋状にして、流水中で洗浄（左）した後、実験台に広げて乾燥（右）

## ② 直接法

直接法は、採取した土壌から目的の埋土種子を直接洗い出して取り出すもので、比較的種子のサイズが大きな草種に使える方法です。操作は単純ですが、比較的労力と時間がかかります。必要な資材は、土壌を採取するための塩ビ管、洗い出すための篩とザル、種子をより分けるためのピンセットなどで、消耗品にかかる経費はほとんどありません。洗い出しのために水道が使える、泥水を流してもよい場所が必要です。[牛木純]

### [具体例] イヌビエの埋土種子数の直接計数法

#### 〈用意するもの〉

以下、資材の大きさなどは全て目安であり、必要に応じて変更してもよい。次項の写真を参照、  
〈土壌採取〉

- ・ 塩ビ管（直径 7.5cm×長さ 13cm、容積約 300ml）
- ・ ポリ袋（塩ビ管を入れて結べる程度の大きさ）
- ・ 移植ゴテ

- ・ 油性ペン

#### <洗い出し>

- ・ プラ船（内寸：850×548×187cm、容積約 80L）
- ・ ビール瓶ケース
- ・ 篩（試験用、ステンレス製、直径 20cm、深さ 4.5cm、目開きは 1mm と 2mm の 2 種類、金網と枠のつなぎ目に隙間がある場合には、バスボンドなどの接着剤で隙間を埋めておくと洗い易い）
- ・ すくい網（目開きは 1mm 以下、直径 15cm 程度、あまり深さが浅いもの）
- ・ プラスチックケース（塩ビ管を水に浸すことができる程度の大きさ）
- ・ 洗面器（直径 25cm 程度、篩より一回り大きい）
- ・ 散水設備（シャワーで散水できるノズルを付けたホース）
- ・ ビニール手袋、プラスチックラベル。

#### <拾い出し>

- ・ ピンセット（ステンレス製、歯科用）
- ・ 拡大鏡（円形の蛍光管付き）
- ・ カルトン（直径約 16cm、白色）
- ・ ガラスシャーレ（直径約 9cm）
- ・ ろ紙（直径約 9cm、安価なものでもよい）
- ・ 洗浄瓶（プラスチック製）
- ・ 油性ペン



図 1 土壌サンプル

#### <土壌採取>

調査点数（別項参照）分の塩ビ管を圃場に配置する（例：1a の圃場に約 3m 間隔でメッシュ状に 9 点採取）。塩ビ管を土壌に垂直に踏み込み、塩ビ管の容積分の土壌が詰まったら、移植ゴテなどで掘り出す。土壌が崩れないように塩ビ管ごとビニール袋に入れて、地点名などを記載する（図 1）。採取した土壌はできるだけ速やかに以下の洗い出しを行うことが望ましい。数日保存する場合には、冷蔵庫に入れる。

#### <洗い出し>

あらかじめ図 2 のようにプラ船、ビール瓶ケース、篩（二段重ね、上：2mm、下：1mm）、散水ホースなどをセットする。

手順：

- (1) 塩ビ管ごと土壌をプラスチックケースに入れて、数時間程度水につけておく（図 2）。急ぐ場合には、塩ビ管から土壌を取り出し、水中で土塊を崩してもよい。プラスチックラベルに地点番号を記載してケースに入れておく。
- (2) プラスチックケース内の土壌を 2 段にした篩の上から流し入れる（図 3）。
- (3) シャワーで洗い流しながら土壌を篩に通す（図 4）。この時、篩から水があふれないように注意する。残った根なども



図 2 準備



図 3 2mm 篩へ

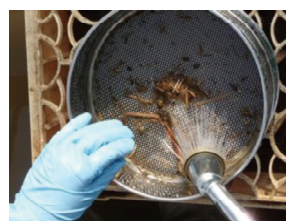


図 4 土壌の洗い流し

できるだけ土壌を洗い流す。この行程でほとんどのイヌビエ種子は2mmの篩を通過するが、大型の種子や芒のある種子が残りに引っかかり残る場合があるので、以下の手順で回収する。

(4)全ての土壌が目を通りしたら、上段の2mmの篩をはずし、洗面器にひっくり返して入れる(図5)。2mmの篩の底面からシャワーを流し、篩の上の残りを洗面器に洗い流す。この時、洗面器から水と残りがあふれないように水量に注意する。

(5)洗面器に洗い流した残りを、すくい網の上に流し移す(図6)。

(6)すくい網の上に移した残りを少量の水でプラスチックケースに洗い流す(図7)。以上で2mmの篩からの回収を終える。

(7)次に、1mmの篩上に残った土壌をシャワーで洗いながら篩に通す(図8)。強くこすりつけると種子が潰れる可能性があるため、軽く撫でて洗うが、土はできるだけ洗い流す。ほとんどのイヌビエ種子は1mmの目を通りせずに残る。

(8)上記と同様に1mmの篩を洗面器にひっくり返して入れる(図5参照)。1mmの篩の底面からシャワーを流し、篩の上の残りを洗面器に洗い流す。この時、洗面器から水と残りがあふれないように水量に注意する。

(9)洗面器に洗い流した残りを、すくい網の上に流し移す(図6)。

(10)すくい網の上に移した残りを少量の水でプラスチックケースに洗い流す(図7)。以上で1mmの篩からの回収を終える(図9)。



図5 洗面器へ



図6 すくい網へ



図7 ケースへ



図8 1mm 篩



図9 回収した種子と残さ

### 〈拾い出し〉

事前に拡大鏡、カルトン、ピンセット、シャーレなどを図10、図11、図12のように準備しておく。

(11)プラスチックケースから水に浮いた残りの一部をカルトンに流し入れる(図10)。

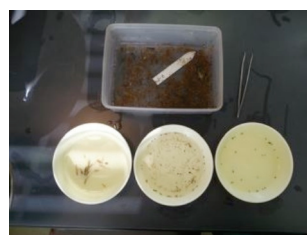


図10 分別前の状態



図11 種子の分別

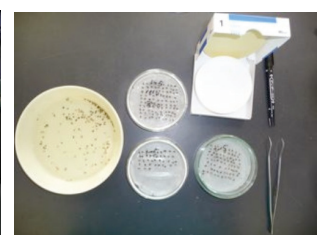


図12 分別した種子

(12)拡大鏡(肉眼でも可)で残さの中からイヌビエの種子をピンセットで拾い出す(図11)。水を薄く張った別のカルトンに種子を入れるとピンセットから離れやすい。種子は水中で浮くものと沈むものがある。沈んでいる種子は小石と見分けが付きにくいので、注意して拾い出す。

(13)拾い終わった残りはトレーにためて置く。上記を繰り返し、全ての残さから種子を回収する。最後にトレーにためた残さに取りこぼしがないかチェックする。

(14)全ての種子を拾い出したら、ピンセットでシャーレに種子を並べ(図12)、押しつぶし法により生死判別を行う。

[牛木純]

### ③ 種子の同定と生死判別

#### 〈種子の選別〉

取り出された残さには、種子以外の有機物残さや粒径の大きな土粒子などの夾雑物が大量に含まれています。簡単に除ける夾雑物はあらかじめ除いておくべきですが、それでもまだたくさんの夾雑物が含まれているはずですから、そこから種子を取り出していく作業が必要になります（残さを除いて種子だけにするのではなく、種子を拾い出す方がずっと効率的です）。ノビエ類など比較的大きな種子だけが目的の場合には、実体顕微鏡か拡大鏡（ルーペ）を用いますが、肉眼でも作業が可能なこともあります（コラム「イヌビエの種子の直接計測法」（21 ページ）を参考にしてください）。目的の草種の種子がコナギなどのように小さい場合や、草種が定まっていない場合には、実体顕微鏡を用います（図 2-3-1（上））。同定に不安がない場合には総合倍率で 5～10 程度の低い倍率の方が観察しやすいですが、確実な同定のために数 10 倍～100 倍程度の倍率が必要になることもありますので、低い倍率から観察ができ、ズーム比が高い実体顕微鏡があると便利です。

残さは、薄いプレートに重なりがないように広げます（図 2-3-1（下））。拡大鏡や実体顕微鏡で観察するとき、残さが層をなしてうずたかく積まれていると、その中に埋没した種子を見逃してしまいますし、残さをいちいち崩しながらの作業は大変だからです。プレートは端から順番に、もれがないように視野に入れ、鋭利なピンセットを用いて取り出していきます。視野の広さと合致する大きさのマス目が書かれているプレートを用いると、観察の重複やもれを防ぐことができます。目的の草種が定まっていない場合、全ての草種を一度に拾い上げるのは慣れないと難しいものです（人間の目は、一度イヌビエの種子を探し始めると、すぐ隣にあるシロザの種子には目がいかないようにできているようです）。この場合、草種を一つだけ決めて拾い出し、ひととおり終わってから始めに戻って次の草種を拾い出すようにした方が、かえって効率が高まり、見落としも減ります。

#### 〈同定〉

最も確実な同定方法は、現物と見比べることです。種子の形態には場所場所ではばらつきがある可能性を考えると、調査対象圃場から採取しておいた散布前の種子を用いるのが確実です。他の場所で採った種子でも、印刷物と比較すればずっと情報量が多いですから、基本的な草種の種子については、標本を持っておくと良いと思います。自ら用意することができない場合には、中央農研の雑草バイオタイプ・総合防除研究チームなどに頒布可能な種子がある場合がありますから、御相談ください。現物がない場合には、既存の図鑑類を用います（引用文献末尾のリストを参照のこと）。また、近縁種で、色や形態がよく似た種子の場合には、大きさが決め手になることもありますので、付表「雑草種子の比重と大きさの一覧」（62 ページ）も参考にしてください。



図 2-3-1 種子の選別作業（上）と選別用のプレートにマス目付きのシャーレを使用した例（下）。左手に持っているのは種子回収用のサンプル管。

全ての草種を一度に拾い上げるのは慣れないと難しいものです（人間の目は、一度イヌビエの種子を探し始めると、すぐ隣にあるシロザの種子には目がいかないようにできているようです）。この場合、草種を一つだけ決めて拾い出し、ひととおり終わってから始めに戻って次の草種を拾い出すようにした方が、かえって効率が高まり、見落としも減ります。

### 〈生死判別〉

最も簡単な生死判別の方法は、形態の観察と押しつぶし法（高柳 2004）によるものです。外見上欠損や変色のない種子をピンセットで押したときに内容物が固く、充実しているものを生存しているとみなします。からであったり、内容物が腐敗して発芽力のない種子はこの方法で選別できます。判別になお不安がある場合には、果皮や種皮をむき、種子、特に胚の部分の変形や変色のないことを確かめます。

一般に広く行われている種子の生死判別法に、TTC 検定があります（山末 2001）。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 0.1~1%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いておき、胚の部分が赤く染まった種子を生存種子とみなします。これは、胚の部分では TTC が還元されて赤色のフォルマザンになるためです。適当な浸漬の条件や種子の切り方は、草種によって異なることがあるので、各論 3. 種子の特徴と調査法の記述も参考にして下さい。実際には、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いので（Jaclyn *et al.* 2007）、一度確認をして問題がなければ、あとは押しつぶし法だけによることも考えられます。なお、比重分離法での 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、良く洗浄すれば TTC 検定に影響を与えないようですが、あらかじめ確認しておくべきです。

生死は発芽試験によっても判別することができます。最適な発芽条件で発芽したものを生存種子とみなしますが、最適な発芽条件は草種によって異なりますので、3. 種子の特徴と調査法を参照してください。ただし、雑草の種子には休眠性が見られ、生存種子が全て発芽するとは限りません。湿潤暗条件でしばらく置いておくなどにより休眠を可能な限り覚醒させてから発芽試験を行う必要があります。特に、散布された直後の雑草種子は強い休眠状態にあるのが普通ですから注意が必要です。休眠覚醒条件が分かっている草種については、各論に記載してありますのでそれも参照してください。

発芽試験で発芽すれば、その種子の生存は疑いないですが、発芽しなかった種子が死亡しているとは限りません。一方、現在、もっとも広く受け入れられている生死判別法は TTC 検定と考えられますが、手間がかかります。押しつぶし法は簡単ですが、信頼性に疑念がないではありません。このように、生死判別法はどれも一長一短なので、調査の目的やかけられる手間がどの程度であるかによって、適当なものを選ぶ必要があります。なお、信頼性をあまり損なわず、手間を度省く手段として、これらの方法を組み合わせることが考えられます。例えば、始めに抽出された全ての種子について発芽試験を行い、次いで発芽しなかった種子に押しつぶし法を試み、生存と判定されたものについて TTC 検定を行うことにすれば、手間をある程度省けます。この方法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となりますが、比重分離法で用いる塩類溶液は、発芽に影響を与える可能性がありますので留意が必要です。また、直接法で水を用いて洗い出す場合でも種子が吸水、乾燥を繰り返したり、吸水状態で露光することで発芽性が変化する可能性がありますので、いずれにしても休眠状態についてのデータは参考値と考えた方が無難です。

### 〈埋土種子数の算出法〉

埋土種子数は、一定の深さまでの面積当たりで表記します。雑草の個体数は単位面積当たりで表現するのが普通で、埋土種子数もそれと合わせておいた方が都合が良いからです。例えば、断面積 30cm<sup>2</sup> の採土管で 15cm の深さまで採取した土壌中から、ある雑草の種子が 15 個取り出されたとする、

$$\text{取り出された種子数} / \text{土壌の採取面積} = 15/30 \times 10000 = 5000 \text{ 個/m}^2$$

で、この圃場の深さ 15cm までの土層には、1m<sup>2</sup> 当たり 5000 個の種子が入っていると推定されます。

[小林浩幸・三浦礼・牛木純]

## 2-4 発芽法による埋土種子の調査

発芽法による埋土種子の調査は、土壌から実際に出芽した雑草を抜き取り、その種類と数によって埋土種子量を推定します。この方法は土壌をそのまま使用することができるので、簡便で、種子の分離が困難な雑草が対象の場合に有効ですが、最短でも約1ヶ月の試験期間が必要です。多くの雑草種子は休眠を持っているので、試験の目的によって土壌の採取時期や試験時期を選ぶ必要があります。休眠している種子を調査する場合は、さらに1~2ヶ月試験期間が必要になります。たとえば、夏雑草は秋季に土壌を採取してすぐに発芽法を行うと、新しく生産された雑草種子の多くは休眠しているために発芽してきません。発芽法にかけの前あるいは発芽法の途中で休眠覚醒処理を行います。春季に土壌を採取した場合は、自然条件で休眠が覚醒されているのですぐに発芽してくる種子が多いと考えられます。

発芽法で重要なことは雑草が発芽しやすい環境を設定することです。雑草の発芽適温、水分環境、休眠覚醒条件は、畑雑草（夏雑草、冬雑草）、水田雑草、そして種によって異なります。詳しくは、3. 種子の特徴と調査法を参照し、目的とする雑草に適した発芽条件を設定してください。埋土種子全体を調査したい場合は、採取土壌をよく混合してから、それぞれの発芽条件用に分割して使用します。畑雑草の場合は土壌水分は畑水分とし、土壌を1cm以下の厚さに広げます。発芽に光が必要な種子などは土壌の厚いと発芽が悪くなります。温度は夏畑雑草は25℃程度、冬畑雑草は15℃程度とします。水田雑草の場合は種によって発芽に適する水分条件が異なるので（表2-4-1）、温度を30℃程度とし、土壌水分を畑水分（好気）条件（最大容水量状態が適するので、土壌の表面が乾かないようにする）あるいは湛水（嫌気）条件（土壌の上に1~3cm水をためる）とします。湛水条件での水田雑草の発芽は、土壌の厚みを数mm以下に薄く広げます。

表 2-4-1 主な1年生水田雑草の発芽水分条件

分類	畑水分	湛水
イネ科	イヌビエ ヒメイヌビエ アゼガヤ	タイヌビエ ヒメタイヌビエ
カヤツリグサ科	コゴメガヤツリ ヒデリコ	タマガヤツリ ヒナガヤツリ
広葉	単子葉	イボクサ コナギ ミズアオイ ホシクサ
	双子葉	タカサブロウ タウコギ アメリカセンダングサ ヤナギタデ チョウジタデ クサネム

簡易的には、ガラス室やビニールハウスなどのような場所（雨がかからないで、自然に変温と明暗切り替え条件になる場所）で行うことができますが、温度や光条件が制御できるファイトトロンなどを使用すると試験の繰り返しや比較も容易です。

[渋谷知子]

### [具体例] 畑雑草（夏雑草中心だが冬雑草も含む）の埋土種子数の発芽法による推定

#### 〈温度・光・水分条件〉

温度と光は15℃（暗条件）/25℃（明条件）の変温条件、12時間切り替えを基本とします。  
畑水分になるように適宜灌水して試験します。

#### 〈土壌の採取量が100ml程度の場合〉

100mlの採土器（採土面積20cm<sup>2</sup>、深さ5cm）で採取した土壌は、直径15cm、高さ28mm程度のシャーレに均一に広げると0.5~1cm程度の厚さになるので、そのまま観察できます（図2-4-1）。このシャーレより大きいものは扱いにくく、また高価なので、プラスチックコンテナやスゴ



図 2-4-1 シャーレでの発芽法



ンジを組み合わせた方法を使用するとよいでしょう。灌水は洗ビンや霧吹きで行います。

### 〈土壌の採取量が 1000ml 以上の場合〉

土壌の採取量が多い場合は、そのまま使用すると多大な試験面積が必要になりますので、有機物残さや夾雑物の除去、乾燥、砕土を行なった後、土壌だけを減らす作業を行います。土壌を減らす際に埋土種子を損失しないように、目的とする雑草種子が落ちない目の篩を使用します。ここでは、1000ml の畑土壌（表面積 200cm<sup>2</sup>、深さ 5cm）を採取し、土壌の量を約 1/2 にした例について示します。

(1)目的とする雑草の種子が落ちない篩（ほとんどの種類の雑草の種子を拾うためには 0.212mm の篩を使用）の下に土壌受け皿を組み合わせ、土壌を少しずつ振とう機にかけます（**図 2-4-2**）。土壌の重さを量りながら振とうし、約 1/2 の量にします。篩上の雑草種子を含む土壌を使用しますので、集めてビニール袋に入れます。受け皿に落ちた土壌は捨てます。

(2)土壌を広げる容器を不織布（黒色、遮根シート、土壌は通過せずには水は通過する素材）で作成します。大きさは土壌を広げたときに厚さが約 1cm 以下になるような底面積（たとえば 500~600cm<sup>2</sup>（25~30×20cm））とし、高さは約 3cm とします。四隅をやや内側に折り込んでホチキスで留めると、土壌がこぼれにくく灌水などの作業が容易です。

(3)水管理作業を容易にするため、コンテナとスポンジ（厚さ約 3cm）を利用します。スポンジは、水の中で押し洗いをするようにして十分に水を吸わせます。スポンジの吸水が悪い場合はさらに厚めのペーパータオルや新聞紙をかぶせ、これらにも吸水させます。この上に作成した土壌を広げる容器をセットします。容器の中心あたりに土壌を入れ、土壌が湿ってベタベタにならないうちに速やかに薄い板状のもので約 1cm の厚さに広げます（**図 2-4-3**）。

(4)灌水は適宜行い、畑水分条件に保ちます。コンテナとスポンジの間に水を注いで、吸水させます。シャワーで土壌の上から灌水する時は、細かい水滴にして土壌が流れないように十分注意します。

(5)約 1 週間ごとに発芽した雑草を抜き取りながら、種類と発芽本数を計測します。複数の種が発芽している場合は、まず 1 つ目の種について数え、次に 2 つ目の種について数えていくと効率がよいです。子葉の段階で同定が困難なものは本葉が 1~2 枚位まで生育させて同定します。あまり大きく生育させると抜き取りにくくなります。抜き取る時には根に付いた土壌をできるだけ持ち出さないようにします。種が判別できないもので重要と考えられる種は仮の番号をつけて本数を数え、小さなポットに移植して育成し、後で同定します。

(6)約 1 ヶ月で発芽してくるものが少なくなったら、試験を終了します。土壌中にはまだ休眠種子が残っている可能性があるため、休眠している種子も調査する場合は、土壌をポリエチレン袋に入れ、休眠覚醒処理（畑水分条件で 5~10℃、約 1 ヶ月保存）を行います。

(7)休眠覚醒処理後、(3)~を繰り返し、再度、約 1 ヶ月の発芽試験を行って終了します。 [渋谷知子]



図 2-4-2 土壌の量を減らす前処理

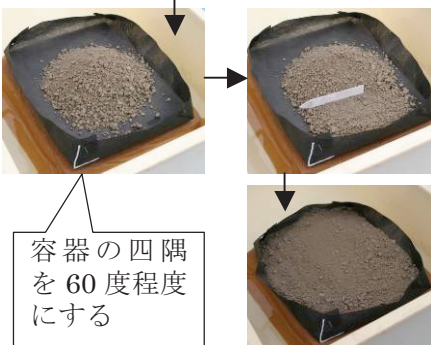


図 2-4-3 コンテナ利用の発芽法