

ボランティア活動で維持されている棚田を活用した、特殊な生態を持つ絶滅危惧シダ植物の保全

神戸大学理学部生物学科  
山名 航平

## 1. はじめに、研究背景

神戸市は京阪神大都市圏の一角をなす瀬戸内の港町であるが、中央区の都市部の他に、六甲山地や丹生山地など緑にも恵まれた自然豊かな都市である。そうした多様な環境を擁する市内では 8000 種もの生物種が確認されている<sup>1</sup>。特に北区に広がる田園地帯では里地里山環境が残されており、生物多様性が維持されているホットスポットでもある。しかし、市のレッドデータ (LD) 2020 にて「二次林、水田、ため池などの里地里山においては、人の手入れ不足によりこれまでの自然環境が維持できなくなり、植生が変化しつつあります。」と指摘されているように<sup>1</sup>、農業従事者の高齢化や過疎化など人口上の問題から耕作放棄地が拡大しており、草原性植物や湿生植物、またそうした植物が織りなす植生に支えられた動物の生息環境は危機的状況に瀕しているといつて過言ではない。このような状況にあって、「里地・里山の保全推進協議会」をはじめとした市民ボランティア団体が耕作者に代わって畦畔等の草刈りや水路の整備作業を行うことで、そこに生育する多様な生物種の保全活動を推進している。

同団体が 2011 年より棚田環境の保全を行っている耕作放棄地のある神戸市北区山田町西下地域の水田畦畔草地は、草地植生がよく保存されていることを理由に、地域として市の LD 2020 の植物群落 B ランクに指定されており、そこには多くのレッドデータブック掲載種が生育している。今回実験材料としたヒロハハナヤスリ (*Ophioglossum vulgatum*; 市 LD 2020 A ランク、県 LD 2020 B ランク) もその一つである。ヒロハハナヤスリはハナヤスリ科ハナヤスリ属のシダ植物であり、環境省の LD 指定こそなされていないものの、兵庫県含む 26 都道府県の LD で何らかのランクに指定されている、絶滅の危機に瀕した希少なシダ植物である。ハナヤスリ科の植物は前葉体世代を地中で完結させることが知られており、またその間アーバスキュラー菌根菌と共生関係を形成する (Winther and Friedman 2007)<sup>2</sup>。そもそもアーバスキュラー菌根菌と植物との相利共生関係は苔類からシダ植物、被子植物など幅広い分類群の陸上植物の約 8 割で見られるものであり、植物が光合成産物を、菌が土壌中の無機塩類等を提供するという、菌糸ネットワークを通じた多対多の相利共生関係を結んでいる (Smith and Read 2008)<sup>3</sup>。一方でハナヤスリ科植物は微小な孢子から塊状の配偶体を形成するまでの発達には、葉緑体を持たず、また他のシダ植物と異なり地中で成長するため、その成長のための炭素源として菌類を搾取していると考えられてきた (Bruchmann 1904)<sup>4</sup>。しかしその土中で配偶体が発達するという生態から、孢子を播種し管理環境下でその発達を経時的に観察したり、菌類との共生関係の形成を観察したりすることが困難であった。そこで本研究ではラン科植物で既に実績のある自生地播種法 (辻

田、湯川 2008)<sup>5</sup>を初めてシダ植物に応用し、孢子から配偶体形成までの発達過程にあるヒロハハナヤスリを観察しようと試みた。

## 2. 実験の方法および結果

### ・自生地の確認

2021年4月6日、神戸市北区山田町西下における里地・里山の保全推進協議会の草刈りボランティア活動に参加し、ヒロハハナヤスリの群生を確認した

(図1)。ヒロハハナヤスリは3パッチで見られ、北に面した棚田斜面一帯に最大のパッチで約10m四方の群生が見られた。周囲にはススキが優占し、イタドリやセイタカアワダチソウ、ヨモギ、ドクダミ、スギナなど多年草草本を中心とした典型的な畦畔に好発する植物が芽を出していた(図2)。この規模の群生は兵庫県下では最大の規模である。また、群生地は図1で見られるように草焼きを行った場所を中心に広がっており、同団体の大嶋範行氏へのヒアリングで



図1 ヒロハハナヤスリの群生



図2 ヒロハハナヤスリの自生地

は「ヒロハハナヤスリの自生パッチ付近で草焼きを行ったところ、群生の規模が大きくなっていったため、意図的に草刈りによって出た枯れ草をパッチ周辺で草焼きしている」とのことであった。この際、孢子嚢は成熟していなかったため自生地播種キット作成のためのサンプリングは行わなかったものの、菌根形態観察とトレーサー実験のために成熟孢子体10個体をサンプリングした。

・自生地播種

胞子の成熟を待って6月8日にヒロハハナヤスリ10個体から胞子囊穂を採取した。採取した胞子囊穂を50ml遠沈管に入れ、そこに50mlの蒸留水を加えて混和することで胞子懸濁液を作成した。この胞子懸濁液200 $\mu$ lを採取し、その中に含まれる胞子数を計測したところ、約200個の胞子が含まれていた



ため、15 $\mu$ m目空きのナイロンメッシュ1枚当たり1000個の胞子が含まれるよう1mlの胞子懸濁液をナイロンメッシュに滴下し、ナイロンメッシュを2つ折りにして胞子を内包する面を内側にした後、プラスチック製のスライドマウントで固定した。なお、1胞子の直径は約35 $\mu$ mであり奇形胞子が混じらないことから雑種ではないと判断した(図3)。このパッケージを1列3段になるよう3つ連結し、針金とテープを用いて固定することで自生地播種キットを作成した。自生地播種キットを30個作成し、6月30日に埋設を行った。埋設にあたってはヒロハハナヤスリが存在する区画に5プロット、存在しない区画に5プロットを設定し、それぞれのプロットに3キットずつ埋設した。埋設時は周囲の菌糸ネットワークや植生への影響を最小限に抑えるため、鉄板をハンマーで打ち付け溝を作り、その溝に自生地播種キットを挿入することで土壌の攪乱の軽減を図った。この時点ではヒロハハナヤスリは既に茂ったススキに覆われており、裸葉は黄色く変色して休眠に入ろうとしていた(図4)。



自生地播種キット埋設から約3ヶ月が経過した9月27日にそれぞれのプロットからキットを1つずつ回収し、ナイロンメッシュを開封して顕微鏡下で観察したところ、孢子はおよそ35  $\mu\text{m}$  のままであり、配偶体形成は認められなかった。また、どの段のパケットにおいても円形の孢子に亀裂が入ったり、表面の網目模様に変化が生じたりといった徴候も見られなかった(図5)。

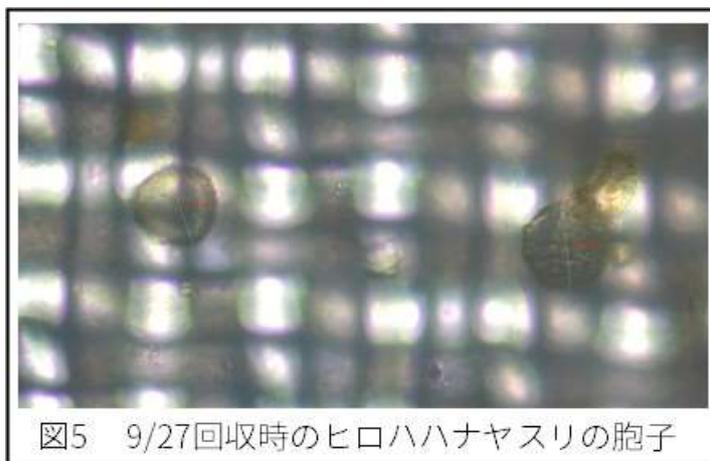


図5 9/27回収時のヒロハハナヤスリの孢子

埋設から7ヶ月が経過した2022年1月30日に冬季の草刈りと同時に2回目の回収を行ったところ、イノシシによるプロットの攪乱や畦畔の崩壊が激しく、ほとんどのプロットでキットが土砂の下に埋没してしまっていた。そのため辛うじて回収

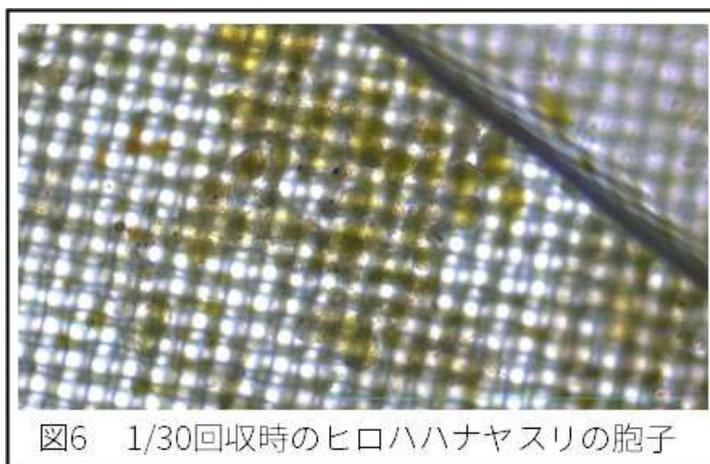


図6 1/30回収時のヒロハハナヤスリの孢子

できたヒロハハナヤスリ存在下の1プロットと、ヒロハハナヤスリ非存在下の1プロットの計2キットを確認したところ、今回も孢子に変化は見られなかった(図6)。

#### ・菌根形態観察

成熟孢子体の根から徒手切片を作成し顕微鏡下で観察したところ、無隔壁の菌糸が皮層細胞内を貫通しながら分岐・伸長しており、嚢状体も観察できたことから *Paris* 型のアーバスキュラー菌根菌が菌根形成していることが確認できた。また、分岐した菌糸の先端に不定形で房状の構造物が確認できた(図7)。

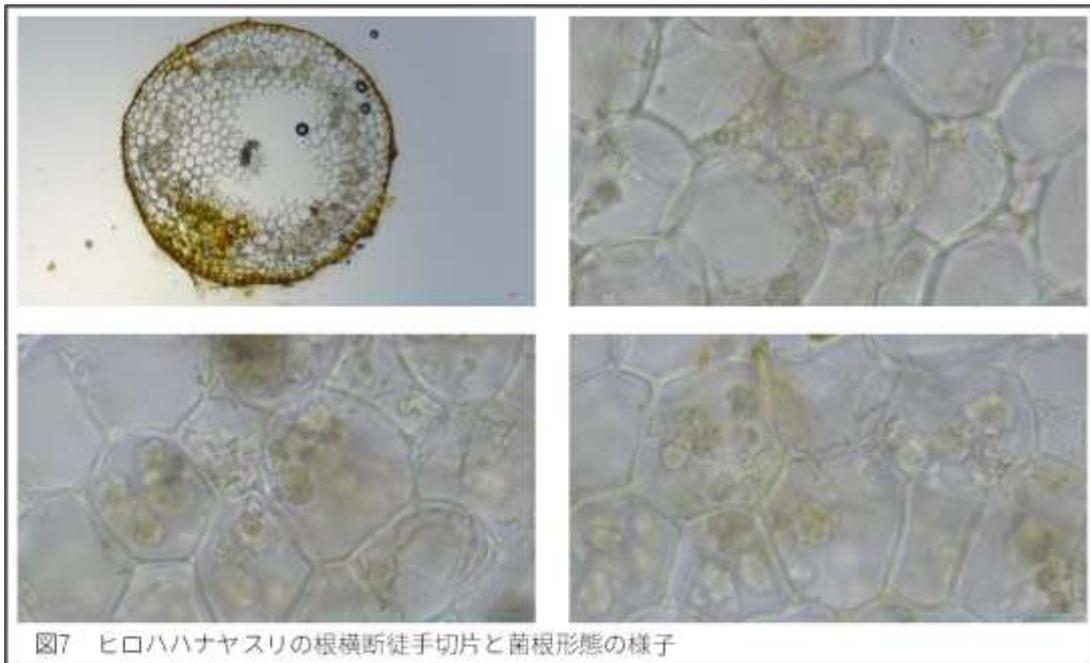


図7 ヒロハハナヤスリの根横断徒手切片と菌根形態の様子

### 3. 実験の考察

自生地播種実験ではヒロハハナヤスリの胞子が長期間土中で腐敗せず残存し、また配偶体形成まで長期間を要することが示唆された。地上で発芽・成長する大部分のシダ植物は一定の温度を上回れば直ちに前葉体を形成することを踏まえると、今回の実験期間である7か月の間胞子に変化が見られなかったことは特徴的である。同属の *O. crotalophoroides* を用いた *in vitro* における、8日間で配偶体形成を行った先行研究 (whittier 2011) の結果とは大きく異なっているものの、これが培地上と自然環境下の違いによるものなのか、あるいは自生地播種という実験操作に依存しているのかは不明である。自生地では群生の規模自体は大きいものの、いずれも密集して生育しており、棚田全体からすると北面の斜面に3パッチ見られるのみである。胞子は非常に細かく、また大量に散布されることを考えると、ヒロハハナヤスリは胞子によって個体群を拡大させているというよりは、地下深くを横走る根によって栄養繁殖しているものと思われる。特にイノシシによる掘り返しが激しかったため、その攪乱により定期的に根が切断され、その根断片からシュートが再生していると考えられる。実際、サンプリング時に生じた根の断片から新たな地上部が形成されることが確認できた (図8)。仮に西下で



図8 根断片から再生するヒロハハナヤスリ

見られる個体群が栄養繁殖を中心に増殖しているのであれば、その遺伝的多様性は低く、環境の変化や病害虫に脆弱である可能性も考えられるため、保全にあたっては環境の変化に対し慎重を期すべきであろう。また、草焼きを行った場所を中心に分布を拡大させていることは、競合する他種や病原菌等が草焼きによって一掃される効果が大いと考えられる。ヒロハハナヤスリは他のハナヤスリ属植物と比較し根が地中深くを伸長する特徴があるため、おそらく棚田のよく水分を保持した粘土質の土中であっては、地表での草焼きによる熱の影響をほとんど受けないものと思われる。一方で一年生草本の種子や地表浅くに根を張る草本は熱によって死滅するため、地表を被覆するものが無くなる。それにより地下深くからヒロハハナヤスリが芽を伸ばすことが出来、低い背丈でも十分に日照を享受できるのであろう。ヒロハハナヤスリと同様に地中深くに根を伸ばす近縁種のトネハナヤスリもやはり野焼きされるヨシ原等に生育する。現在の個体群を維持するためには、定期的な草刈りは勿論、草焼きによって地表の被覆を取り除くことも有効と考える。

菌根形態観察においては、アーバスキュラー菌根菌の菌糸の先端に不定形の構造物が見られたが、これはラン科植物におけるペロトンと類似する。ペロトンは植物による根細胞内の共生菌消化によって形成されるものであり、ヒロハハナヤスリの胞子体においてもアーバスキュラー菌根菌を消化して炭素を獲得している可能性がある。今後、今回実施できなかった同位体トレーサー実験等でその菌糸消化能力について検証していきたい。

#### **4. 付記**

本研究計画において実施を予定していた同位体トレーサー実験は、培養系の構築をはじめ準備を進めていたものの、実験実施地の東京において新型コロナウイルスオミクロン株の爆発的な流行を受けて中止した。

#### **5. 参考文献**

- 1: 神戸版レッドデータ (2020) 神戸市
- 2: Arbuscular mycorrhizal symbionts in *Botrychium* (Ophioglossaceae). (2007) Winther JL, Friedman WE, Am J Bot 94:1248–1255
- 3: Mycorrhizal symbiosis, 3rd edn. (2008) Smith SE, Read DJ, Academic, London, UK
- 4: Über das Prothallium und die Keimpflanze von *Ophioglossum vulgatum* L. (1904) Bruchmann H, Botanische Zeitung 62: 227–248.
- 5: ラン科植物の野外播種試験法 (2008) 辻田有紀、遊川知久, 保全生態学研究 (Japanese Journal of Conservation Ecology) 13 : 121–127