

浅間山高山帯におけるツツジ科小低木の受粉様式
—クロマメノキ・コケモモの人工受粉実験—

Experimental determination of the pollination mode of
ericaceous dwarf shrubs *Vaccinium uliginosum* var. *japonicum*
and *V. vitis-idaea* in the alpine zone of Mt. Asama, Japan

井出 萌* 芳賀 由奈** 高橋 一秋***
Moe IDE Yukina HAGA Kazuaki TAKAHASHI

要旨

本州の高山帯に広く分布するクロマメノキ・コケモモの受粉様式(自家受粉・他家受粉)と花を訪れるマルハナバチ類を特定するため、人工受粉実験とマルハナバチ類の捕獲調査を行った。浅間山高山帯の標高1670m(森林限界付近)に約20m×50mの調査プロットを等高線に沿って1個設置した。プロット内に出現したクロマメノキ10群落、コケモモ15群落を対象に、人工受粉実験を2018年6月～7月、結実調査を同年8月～10月にかけて行った。マルハナバチ類の捕獲調査は同プロット内で、2017年と2018年の6月～9月にかけて行った。クロマメノキの結実率は、「コントロール」より「ネット掛け」「自家受粉」「他家受粉」の処理で有意に高い値を示し、コケモモの結実率と充実種子数は他の処理より「他家受粉」の処理で有意に高い値を示した。したがって、クロマメノキとコケモモの受粉様式は自家受粉と他家受粉のハイブリット型であるが、コケモモのほうがより他家受粉に依存していることが明らかとなった。また、クロマメノキの花では、ミヤママルハナバチ(働きバチ・雄バチ)、オオマルハナバチ(創設女王バチ)、コマルハナバチ(雄バチ)、コケモモでは、オオマルハナバチ(創設女王バチ)が捕獲された。したがって、これらのマルハナバチ類が重要な花粉媒介者となりうることが示唆された。

キーワード: 他家受粉、自家受粉、花粉媒介者、ミヤママルハナバチ、オオマルハナバチ、コマルマルハナバチ

Abstract

To examine pollination mode in *Vaccinium uliginosum* var. *japonicum* and *V. vitis-idaea*, we conducted artificial pollination experiments. We established a study plot (ca. 20 × 50 m) along a contour line at 1,670 m a.s.l., near treeline in the alpine zone of Mt. Asama, Japan. Between June and July 2018, we performed artificial pollination experiments on 10 colonies of *V. uliginosum* var. *japonicum* and 15 colonies of *V. vitis-idaea* within the study plot, and then investigated fruiting conditions between August and October 2018. We also captured bumblebees that visited flowers between June and September 2017 and 2018 in the study plot. For *V. uliginosum* var. *japonicum*, fruiting rates in the “net-covered,” “self-pollination,” and “cross-pollination” treatments were significantly higher than that of the control. For *V. vitis-idaea*, fruiting rate and the number of sound seeds were significantly higher in the “cross-pollination” treatment than in all other treatments. Thus, both *V. uliginosum* var. *japonicum* and *V. vitis-idaea* exhibited a hybrid pollination mode consisting of self-pollination and cross-pollination; however, *V. vitis-idaea* was dependent on cross-pollination. The captured bumblebee species were *Bombus honshuensis honshuensis* (worker and male), *B.*

hypocrita hypocrite (foundress queen), and *B. ardens ardens* (male) among *V. uliginosum* var. *japonicum* flowers and *B. hypocrita hypocrite* among *V. vitis-idaea* flowers, suggesting that those bumblebee species would be important pollinators.

Key words: cross-pollination, self-pollination, pollinator, *Bombus honshuensis honshuensis*, *B. hypocrita hypocrite*, *B. ardens ardens*

はじめに

標高の高い地域に成立する山岳生態系の面積は地球上の全陸域の3%程度と極めて狭い面積であるにもかかわらず、そこには局所的環境に適応した独特の生物群集が形成されていることから、生物多様性ホットスポットの1つとされている (Millenium Ecosystem Assessment 2005)。山岳生態系における生物群集の特徴としては、固有種や希少種の割合が極

めて高いことが挙げられる。一方で、寒冷な気候条件のもとで成り立っている山岳生態系は、地球温暖化による気温上昇の影響を最も受けやすい脆弱な生態系の1つとして近年注目されている。山岳生態系の中でも特に気温上昇による影響が懸念されるのが、最も標高が高いエリアに属する高山帯である。また、高山帯をハビタットとする動物・植物や彼らの生物間相互作用系にも気温上昇による強い影響が及ぶと予測され

(a) クロマメノキ

Vaccinium uliginosum var. *japonicum*



(b) コケモモ

Vaccinium vitis-idaea



図1. クロマメノキ (a) とコケモモ (b) の花

Figure 1. Flowers of *Vaccinium uliginosum* var. *japonicum* (a) and *V. vitis-idaea* (b).

ており、特に、動物・植物の相利共生関係を通じて成り立っている花粉媒介と種子散布でその影響は顕著であると指摘されている (Hughes 2000; Memmott et al. 2007)。これは、主に気温によって制御される植物の発育や開花・結実フェノロジーは気温上昇による影響を直接的に受けやすい (工藤 2014) ことに加えて、植物と相利共生関係を結んでいる動物の行動や分布域にも気温上昇による影響が及ぶためである。

例えば、Kudo (2014) は、北海道の大雪山で高山植物とその花を利用するマルハナバチ類に関するモニタリング調査を行ったところ、例年より気温が高い春を迎えた年には植物の開花フェノロジーが早期化し、開花時期も短縮化したのに対して、それら植物の有力な花粉媒介者であるマルハナバチ類は例年と変わらない季節活性を示したと報告している。すなわち、開花時期とマルハナバチ類が花蜜や花粉を集める時期との間に季節的な不一致が起り、受粉サービスの低下を引き起こしたという。

日本の中部地方の高山帯では、主にマルハナバチ類などの昆虫による花粉媒介に適応したつぼ形・鐘形の花冠と、動物による種子散布に適応した液果をつけるツツジ科小低木 (ガンコウラン、コケモモ、マルバウスゴ、シラタマノキ、クロマメノキ、クロウスゴ、アカモノ、ウラシマツツジ、オオバスノキなど) が優占することが多く、立山ではライチョウ、テン・オコジョ、キツネが主な種子散布者としての役割を果たしている (曾根 2006)。本研究で対象とするツツジ科小低木のクロマメノキ *Vaccinium uliginosum* var. *japonicum* とコケモモ *Vaccinium vitis-idaea* も、つぼ形・鐘形の花冠 (図1) と可食部を持つ液果をつける (高橋・高橋 2019)。これは、昆虫や動物との相利共生関係によって花粉媒介と種子散布が成り立っている樹種の花と果実が持つ形態的特徴である。そのため、これらのツツジ科小低木の開花・結実フェノロジーは地球温暖化による気温上昇の影響を強く受けやすく、共生関係を結ぶ動物・植物との生物間相互作用にも影響が及ぶことが予想される。例えば、もし各樹種の分布が集中する標高域において気温上昇による開花フェノロジーの早期化がすでに始まっている場合には、マルハナバチ類の季節活性との不一致が生じている可能性もある。

変種 (例えば、*Vaccinium uliginosum* L. var. *microphyllum*) を含むクロマメノキ *Vaccinium uliginosum* L. を対象に北ヨーロッパで行われた先行研究のレビュー論文によると、クロマメノキはクロー

ン繁殖もできるが、風や重力による自家受粉 self-pollination と昆虫による他家受粉 cross-pollination によって種子繁殖をする樹種であり、特にマルハナバチ類による他家受粉は種子生産量を促進させる重要な受粉様式であるという (Jacquemart 1996)。また、コケモモ *Vaccinium vitis-idaea* L. を対象にフィンランドで行われた受粉実験では、自家受粉より他家受粉で種子生産が良好で、種子のアブーション (発育停止) も起こりにくいことが明らかにされている (Nuortila et al. 2002)。本研究の対象樹種である日本のクロマメノキとコケモモも基準種クロマメノキ・コケモモと同様のつぼ形と鐘形の花冠の構造を有しているため、マルハナバチ類による他家受粉によって種子繁殖を行っている可能性が高いとの予想が成り立つ。しかしながら、地球温暖化による影響の観点から、高山帯に分布するツツジ科小低木に着目し、これらの樹種が花粉媒介のプロセスでどのような昆虫と共生関係を結んで、どのような受粉様式を経て受粉を達成しているのかを詳細に調査した研究は国内外問わず皆無に等しい。

本研究では、中部地方の高山帯に広く分布するツツジ科小低木のクロマメノキとコケモモを対象に、人工受粉実験を用いて受粉様式 (自家受粉、他家受粉) を特定するとともに、花を訪れるマルハナバチ類を特定することを目的とした。また、花粉媒介のプロセスに及ぼす地球温暖化の影響についても考察する。

方法 調査地

調査は、長野県軽井沢町の浅間山 (標高2568m) 高山帯で行った。調査地の平均気温は8.7°C、年間降水量は1288.4mm、最大積雪深は99.0cmである (なお、これらの気象データは調査地から14km離れた軽井沢特別地域気象観測所 (標高999m) で2014年～2017年の4年間に記録されたデータから求めた)。浅間山の東向き斜面では、亜高山帯と高山帯の境界にある森林限界のラインが約1670mの標高にあり、研究対象のクロマメノキは標高1670m～2100m、コケモモは標高1670m～1780mに分布している (高橋・高橋 2019)。調査を始めるにあたって、両樹種の群落が多数確認された標高1670mに約20m×50mの調査プロットを等高線に沿って1個設置した。

人工受粉実験

標高1670mに設置した調査プロット (約20m×

50m)の中で人工授粉実験を行った。実験の処理は、「コントロール」、「ネット掛け」、「自家受粉」、「他家受粉」の4つとした。実験には、台所用の水切りネット(ポ

リエステル・ポリウレタン製、伸縮性のあるストッキングタイプ、三角コーナー&排水溝兼用)を用いた。ネットの伸縮時のサイズは、クロマメノキで25cm×35cm、コケ

(a) クロマメノキ

Vaccinium uliginosum var. *japonicum*



(b) コケモモ

Vaccinium vitis-idaea



図2. クロマメノキ (a) とコケモモ (b) の「ネット掛け」処理

Figure 2. “Net covered” treatments of *V. uliginosum* var. *japonicum* (a) and *V. vitis-idaea* (b).

表1. 人工授粉実験の処理と状態.

Table 1. Treatments and conditions of artificial pollination experiments.

処理 Treatment	内容 Conditions
コントロール Control	<ul style="list-style-type: none"> ・ 自然状態 Natural conditions.
ネット掛け Net covered	<ul style="list-style-type: none"> ・ 人工的な自家受粉・他家受粉の処理を施さなかった。 No artificial self-pollination or cross-pollination treatment. ・ 花をネットで覆った。 Each flower was covered with a net.
自家受粉 Self-pollination	<ul style="list-style-type: none"> ・ ある花の雄しべから花粉を採集し、同じ花の雌しべの柱頭に人工的に付着させた。 Pollen collected from stamen, artificially attached to one stigma of a pistil on the same flower. ・ 花をネットで覆った。 Each flower was covered with a net.
他家受粉 Cross-pollination	<ul style="list-style-type: none"> ・ ある花の雄しべから花粉を採集し、5m以上離れた別の花の雌しべの柱頭に人工的に付着させた。 Pollen collected from stamen, artificially attached to one stigma of a pistil on a different flower (distance: > 5 m). ・ 花をネットで覆った。 Each flower was covered with a net.

モモで15cm×15cmであった(図2)。ネットの開口部と幹・枝の隙間から昆虫類が侵入しないように、紐(ナイロン製)で縛った。

調査対象とする群落(半径2m程度)として、クロマメノキの場合は10群落×4処理(計40本)、コケモモの場合は15群落×4処理(計60本)を、それぞれ調査プロットの中からランダムに選定した。クロマメノキとコケモモは、いずれもクローン繁殖をするため、各群落が5m以上離れるように選定し、各群落は同一遺伝子を持つクローン個体ではないと仮定した。各幹・枝には、個体識別のための目印(ナンバーテープ)を輪ゴムでくくり付けた。処理の内容は、表1にまとめる。

各調査日にネットの中にある開花中の花全てに人工的に受粉処理を行った。クロマメノキの場合は、処理を加えた花の花柄に油性マジックで目印を付けた。しかし、ネット掛けをした段階でつぼみが多くみられ、調査日と調査日の間にネットの中で新しい花が咲き終わり、人工受粉処理ができなかった花が多くあった。コケモモの場合は、1回目の調査日以降にネットの中で新しい花が咲くことはなかったため、処理を行った花の花柄に油性マジックで目印を付ける必要がなかった。人工受粉処理の手順は、図3と表2にまとめる。

人工受粉実験を2018年の6月～10月(5か月間)、結実調査を同年8月～10月にかけて行った。クロマメノキの場合は、最初のネット掛けを6月7～8日、1回目の人工受粉処理を6月21日、2回目を7月12日、1回目の果実カウントを8月15日、2回目を10月22日に行った。コケモモの場合は、最初のネット掛けを6月7日、1回目の人工受粉処理を6月19日、1回目の果実カウントを10月22日に行った。また、各調査日に、花の数(花冠あり[開花中のもの]、花冠なし[開花終了後のもの]、つぼみ[大、小]、しおれ[アポーション])、果実の数(成熟果実[樹上、落下、そのうち人工受粉で目印が付いているもの]、未成熟果実[樹上、落下、そのうち人工受粉で目印が付いているもの])、ネットの中に侵入していた昆虫類を記録した。発見した昆虫類は調査日ごとにネットの内から取り出した。

なお、ネット掛けを行う処理の「ネット掛け」「自家受粉」「他家受粉」では、結実率が過大評価になってしまう可能性が考えられる。すなわち、ネットで植物体を覆うことで、花や果実を餌として利用する昆虫類の食害や、周囲の温度や日射などの気象害を受けづらくなり、結実率を増加させる一つの要因になることが予想される。一方で、花粉・花蜜を利用する植食性のアリ

類や肉食性のアリ類(エゾアカヤマアリなど)の成虫がネットを噛み切って穴を開け、中に侵入してしまう可能性や、ネット掛けをする前にすでにチョウ類やガ類が卵を枝・葉に産みつけており、孵化した幼虫がネットの中で成長してしまう可能性なども考えられる。この場合、ネット内に侵入した昆虫が動き回ることによって、自家受粉を起こしてしまうことが予想される。このように、ネット掛けによる効果や昆虫による自家受粉は結実率に影響を及ぼす要因となることが予想されるが、本実験では、これらの現象はネット掛けをした3つの処理の中で一定の割合・確率で起こるとみなすこととし、「自家受粉」「他家受粉」間の結実率の違いを抽出できる条件は満たしていると仮定した。

マルハナバチ類の捕獲調査

標高1670mの調査プロット(約20m×50m)の中でクロマメノキとコケモモの花に訪れたマルハナバチ類の捕獲調査を行った。調査は、2017年と2018年の6月～9月(4か月間)にかけて各月の上旬・中旬・下旬に2～3回ずつ行った。なお、調査時間は各回1時間程度とし、朝(9:00～11:00)・昼(11:00～14:00)・夕(14:00～16:00)の3つの調査時間帯が樹種間で平均的になるようにした。マルハナバチ類の同定には、図鑑「日本産マルハナバチ図鑑」(木村田ほか 2013)を用いた。

データ解析

結実率の求め方は、表3にまとめる。クロマメノキの場合は、1回目の人工受粉処理(6月21日)から1回目の果実カウント(8月15日)の間に、コケモモの場合は、1回目の人工受粉処理(6月19日)から1回目の果実カウント(10月22日)の間に、それぞれ得られたデータを用いて結実率を算出した。クロマメノキの2回目の果実カウント(10月22日)のデータは、油性マジックの目印が消えており、人工受粉由来の果実が特定できなかったため、除外した。

果実・種子の充実状況は、充実果実サイズ(長径)、1果実当たりの充実種子数、充実種子1個の湿重量、1果実当たりの非充実種子数の4つの項目で判断した。なお、湿重量が0.1 mg以下の種子を非充実種子とした。これらの値は、コケモモのみで求めることができた。なお、結実が認められず、果実が採集できなかった「コントロール」の処理を除く、3つの処理で解析を行った。クロマメノキは、樹上にある人工受粉由来の未

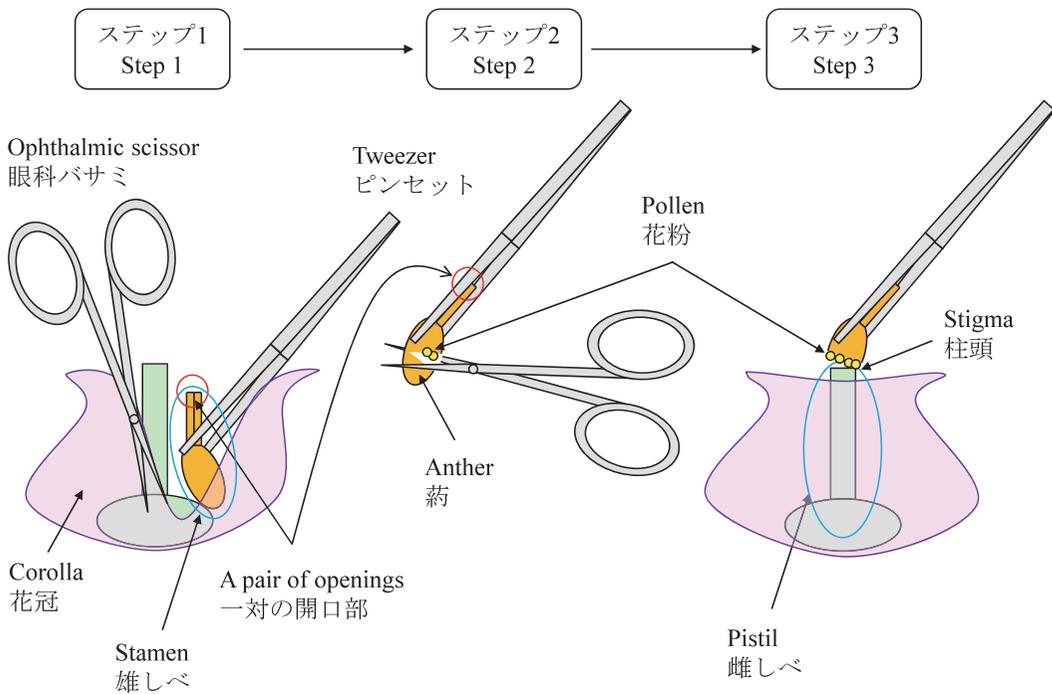


図3. 人工自家受粉と人工他家受粉の手順
 Figure 3. Artificial self-pollination and cross-pollination procedures.

表2. 人工自家受粉と人工他家受粉の手順.
 Table 2. Artificial self-pollination and cross-pollination procedures.

ステップ Step	手順 Procedure
ステップ1 Step 1	<ul style="list-style-type: none"> 花を手で採集した。 Each flower was collected by hand. 収集した花の花冠を眼科バサミで切り開いた。 A corolla of the collected flower was cut open using ophthalmic scissors. 1本の雄しべをピンセットでつまんで取り外した。 One stamen was removed using tweezers.
ステップ2 Step 2	<ul style="list-style-type: none"> 取り外した雄しべの一对の開口部をピンセットでつまんだ。 A pair of openings on the removed stamen was picked up using tweezers. 花粉が入った葯を取り外した雄しべから眼科バサミで切り取った。 An anther containing pollen was cut from the removed stamen using ophthalmic scissors.
ステップ3 Step 3	<ul style="list-style-type: none"> 取り外した雄しべの葯の切断面を雌しべの1本の柱頭に擦り付けた。 A cut surface of the anther of the removed stamen was rubbed on one stigma of a pistil.

表3. 結実率の算出.

Table 3. Calculation of fruiting rate.

処理 Treatment	計算式 Formula
コントロール Control	結実率 (%) = 100 × (未成熟果実数 + 成熟果実数) / 花数
ネット掛け Net covered	Fruiting rate (%) = 100 × (Number of immature fruits + Number of ripe fruits) / Number of flowers
自家受粉 Self-pollination	結実率 (%) = 100 × (受粉処理を行った未成熟果実数 + 受粉処理を行った成熟果実数) / 受粉処理を行った花数
他家受粉 Cross-pollination	Fruiting rate (%) = 100 × (Number of immature fruits from artificial pollination + Number of ripe fruits with artificial pollination) / Number of flowers from artificial pollination

成熟果実は特定できたものの、その後、ネットの中に落下し、人工受粉由来ではない果実と混ざってしまったため、10月22日の調査日に人工受粉由来の果実を特定し、採集することができなかった。

データ解析では、Kruskal-Wallis検定、Bonferroni法あるいはSteel-Dwass法による多重比較検定を用いて、結実率、充実果実サイズ、1果実当たりの充実種子数、充実種子1個の湿重量、1果実当たりの非充実種子数を処理間で比較した。解析には、無料統計ソフトEZR (Easy R) (Ver. 1.37 2018/4/5)を用いた。

結果

クロマメノキとコケモモの結実率

クロマメノキの結実率は、処理間で有意に異なり (Kruskal-Wallis検定, $p < 0.001$)、「コントロール」より「ネット掛け」「自家受粉」「他家受粉」の処理で有意に高い値を示した (図 4a; Bonferroni法による多重比較検定, $p < 0.05$)。クロマメノキの結実率の中央値と最大値は、「コントロール」で0%と5.9%、「ネット掛け」で16.7%と100%、「自家受粉」で46.5%と100%、「他家受粉」で52.3%と100%であった。一方、コケモモの結実率も、処理間で有意に異なっていたが (Kruskal-Wallis検定, $p < 0.05$)、クロマメノキとは異なり、「コントロール」「ネット掛け」「自家受粉」より「他家受粉」の処理で有意に高い値を示した (図4b; Bonferroni法による多重比較検定, $p < 0.05$)。コケモモの結実率の中央値は、いずれの処理も0%であったが、最大値は「コントロール」で0%、「ネット掛け」と「自家受粉」で33.3%、

「他家受粉」で75.0%であった。

コケモモの果実・種子の充実状況

充実果実サイズ、充実種子1個の湿重量、1果実当たりの非充実種子数は処理間で有意な違いが認められなかった (Kruskal-Wallis検定, $p \geq 0.05$) (図5a, c, d)。1果実当たりの充実種子数は処理間で有意に異なり (Kruskal-Wallis検定, $p < 0.01$)、「ネット掛け」「自家受粉」より「他家受粉」の処理で有意に高い値を示した (図5b; Steel-Dwass法による多重比較検定, $p < 0.05$)。

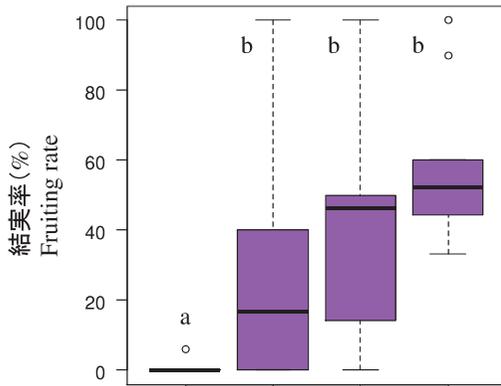
クロマメノキとコケモモの花に訪れたマルハナバチ類

クロマメノキの花で捕獲されたマルハナバチ類はミヤママルハナバチ、オオマルハナバチ、コマルハナバチの3種であったのに対し、コケモモの花ではオオマルハナバチの1種のみであった (表4, 図6)。各種の捕獲個体数は、クロマメノキでミヤママルハナバチ6個体 (働きバチ:4個体、雄バチ:2個体)、オオマルハナバチ5個体 (創設女王バチのみ)、コマルハナバチ4個体 (雄バチのみ) であり、コケモモではオオマルハナバチ1個体 (創設女王バチのみ) であった。

各樹種の花でマルハナバチ類が捕獲された季節は、クロマメノキの場合、ミヤママルハナバチが6月上旬 (働きバチ:1個体)・6月中旬 (働きバチ:3個体、雄バチ:1個体)・7月下旬 (雄バチ:1個体)、オオマルハナバチが6月中旬 (創設女王バチ:2個体)・6月下旬 (創設女王バチ:2個体)、コマルハナバチが6月中旬 (雄バ

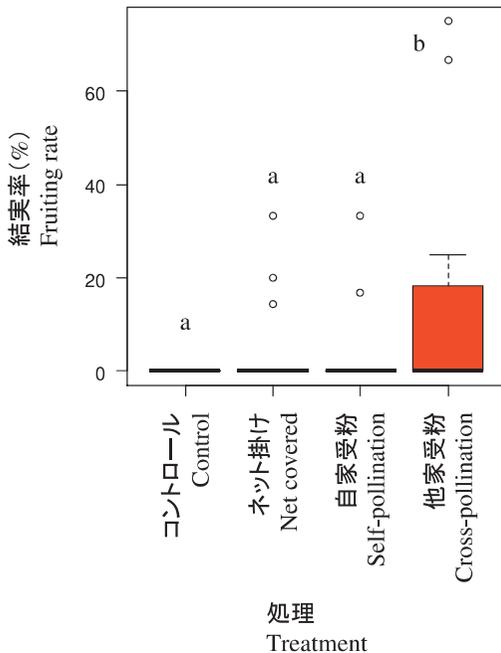
(a) クロマメノキ

Vaccinium uliginosum var. *japonicum*



(b) コケモモ

Vaccinium vitis-idaea



チ:1 個体)・6月下旬(雄バチ:2 個体)・7月下旬(雄バチ:1 個体)であった。コケモモの場合は、オオマルハナバチのみで6月中旬(創設女王バチ:1 個体)であった。

考察

クロマメノキとコケモモの受粉様式について

クロマメノキでは、「ネット掛け」「自家受粉」「他家受粉」の処理で結実率が高かった。このことから、クロマメノキは昆虫による自家受粉や他家受粉、さらには風や重力による自家受粉でも受粉し、結実できる樹種であることが示唆された。Jacquemart (1996)によると、ヨーロッパに分布する基準種クロマメノキ *Vaccinium uliginosum* L. は自家受粉と他家受粉のハイブリット型ではあるが、他家受粉で結実率や種子の充実状況が良好になるという。このような特性と本実験の結果を比較すると、「自家受粉と他家受粉のハイブリット型」という点では一致していたものの、自家受粉と他家受粉の間に違いは認められなかったことから、「他家受粉で結実率が良好になる」という点については一致していなかった。このように、本実験で自家受粉と他家受粉の間に違いが認められなかった理由の一つは、遺伝学的な視点から考えることができるだろう。近親交配が始まった初期の段階で発現した有害遺伝子を持つ個体の中には、有害な形質の発現によって子孫を残すことができなくなる個体が出現するようになるため、それらの有害遺伝子が徐々に淘汰される (Pullin 2004)。その結果、弱い形質を持つ個体が増加し、個体群が縮小していくといった近交弱勢の負の影響は、時間が経つに連れて弱まるとされている (Pullin 2004)。したがって、浅間山山麓のクロマメノキでは、近親交配が繰り返される過程で、発現した有害遺伝子が淘汰されつつあり、開花から結実の過程で近交弱勢の影響が出づらくなっていたという推測が成り立つだろう。一方

図4. クロマメノキ (a) とコケモモ (b) の結実率. 箱中の横線が中央値, 箱の下端が第一四分位 (25%), 箱の上端が第三四分位 (75%), ひげは箱の上下端から箱の長さの1.5倍内にある最大値および最小値, ひげの外の白丸が外れ値を示す. アルファベットの違いは有意差があることを示す ($p < 0.05$, Bonferroni法による多重比較検定).
Figure 4. Fruiting rates of *V. uliginosum* var. *japonicum* (a) and *V. vitis-idaea* (b). Each box represents an interquartile range, and the vertical line inside the box indicates the median. The whiskers extend to the lowest and highest values below and above the first and third quartile, respectively, excluding outliers. Circles represent outliers that are between 1.5 and 3.0 times the interquartile range. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$, Bonferroni's multiple comparison test).

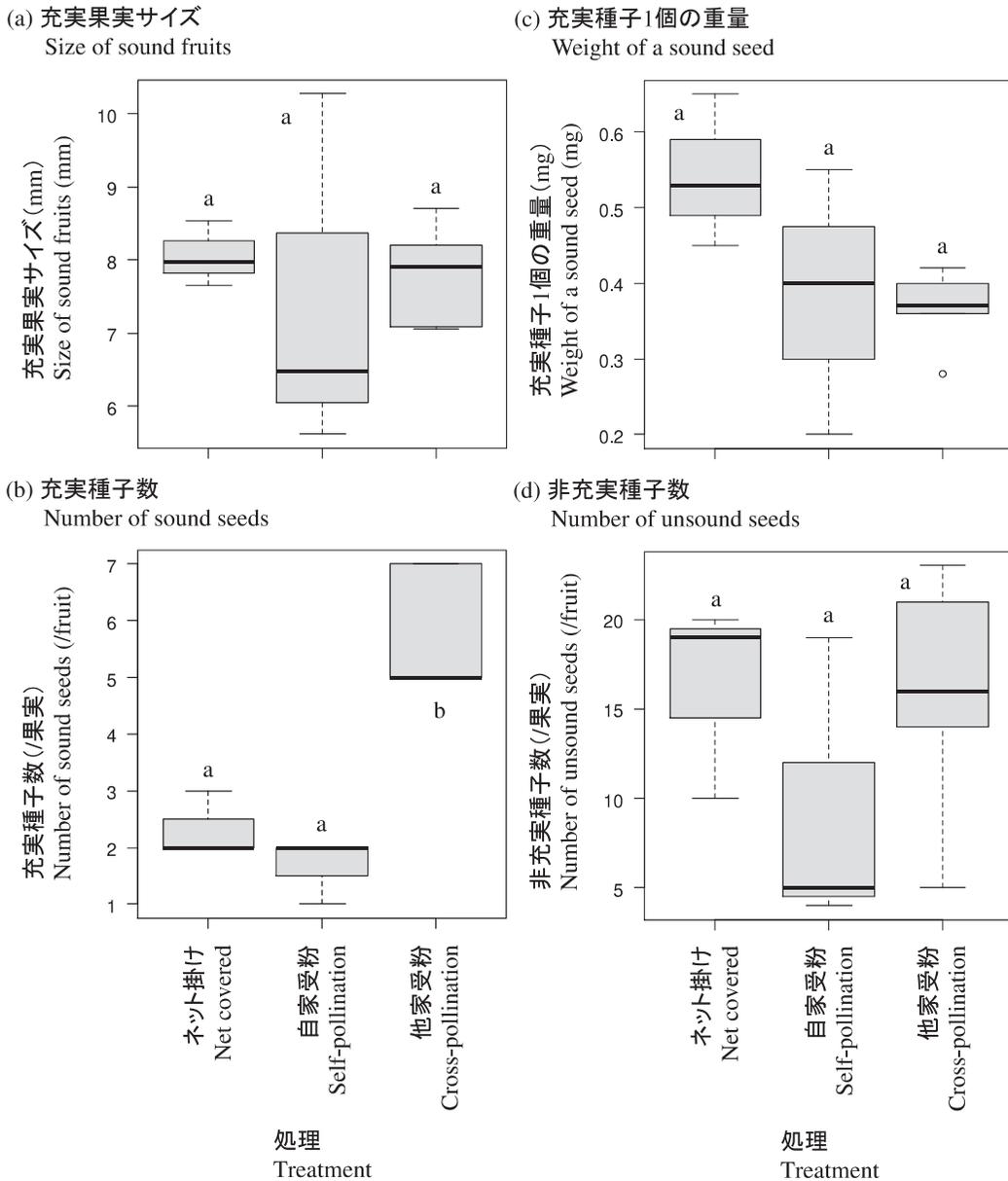


図5. コケモモの充実果実サイズ (a), 充実種子数 (b), 充実種子1個の重量 (c), 非充実種子数 (d). 箱ひげ図の読み方は図4と同じ。アルファベットの違いは有意差があることを示す ($p < 0.05$, Steel-Dwass法による多重比較検定)。

Figure 5. Size of sound fruits (a), number of sound seeds (b), weight of a sound seed (c), and number of unsound seeds (d) in *V. vitis-idaea*. See Figure 4 for an explanation of the statistics indicated by the boxplots. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$, Steel-Dwass's multiple comparison test).

表4. クロマメノキとコケモモの花に訪れたマルハナバチ類の頻度。

Table 4. Frequency of bumblebee visits to *Vaccinium uliginosum* var. *japonicum* and *V. vitis-idaea* flowers.

種名 Species	カースト Caste	クロマメノキ <i>Vaccinium uliginosum var. japonicum</i>	コケモモ <i>Vaccinium vitis-idaea</i>
オオマルハナバチ <i>Bombus hypocrite hypocrita</i>	創設女王バチ Foundress queen 新女王バチ New queen	4 0	1 0
ミヤママルハナバチ <i>Bombus honshuensis honshuensis</i>	働きバチ Worker 雄バチ Male	4 2	0 0
コマルハナバチ <i>Bombus ardens ardensardens</i>	雄バチ Male	4	0

で、本研究では、「5m以上離れた群落は同一遺伝子を持つクローン個体ではない」と仮定したが、クローン個体が含まれていた可能性も否定できない。ただし、本研究では、コケモモと同様の分析ができなかったが、クロマメノキでも他家受粉と自家受粉の間で果実・種子の充実状況が異なる可能性が残されることを指摘しておく必要があるだろう。本研究で疑問点として残された課題は、群落間や受粉様式間(自家受粉・他家受粉)で葉や種子の遺伝子を比較するDNA分析を行うことで解き明かすことができるだろう。

コケモモでは、「他家受粉」の処理で結実率が高く、充実種子数が多かった。このことから、コケモモは昆虫による自家受粉や他家受粉、さらには風や重力による自家受粉でも受粉し、結実することができる樹種ではあるものの、より他家受粉に依存している樹種であることが示唆された。Nuortila et al. (2002)によると、カナダに分布するコケモモ *Vaccinium vitis-idaea* L. は、自家受粉より他家受粉で種子生産が良好であり、種子のアポーション(発育停止)も起こりにくいという。したがって、本実験の結果はカナダのコケモモの特性と一致していた。

一方で、クロマメノキとコケモモは、いずれも1つの果実の中に複数の種子が生産されるため、種子1つず

つ、異なる受粉様式で受粉し、種子が生産される場合も起こりうる。つまり、同じ形状の種子でも、自家受粉による種子と他家受粉による種子が混在している可能性を否定できない。その場合、どちらも充実種子を生産していたとしても、自家受粉由来か他家受粉由来かによって発芽率やその後の生残率、生長量に違いがみられるかもしれない。これを明らかにするためには、発芽実験やDNA分析が必要となる。

花粉媒介者としてのマルハナバチ類について

本研究と同様の調査地(浅間山高山帯、標高1670m~1870m)で行われた開花フェノロジーの調査によると、開花時期と期間は、コケモモで6月上旬~下旬(約30日間)、クロマメノキでは6月中旬~9月下旬(約110日間)であり、両樹種の開花開始時期は標高が上がるに連れて遅れる傾向がみられたという(高橋・高橋 2019)。このような開花フェノロジーの違いは、マルハナバチ類が花蜜や花粉を集める巣外活動に影響を与えていたと考えられる。一般的に、巣外活動はマルハナバチ類のカーストによっても季節的な違いがみられ、春先~夏には創設女王バチ、夏~秋には働きバチ、夏の終わり~秋にかけては雄バチと新女王バチが野外で多く観察される傾向がある。このような季節

(a) オオマルハナバチ・創設女王バチ
Bombus honshuensis honshuensis,
Foundress queen



(c) ミヤママルハナバチ・雄バチ
Bombus hypocrita hypocrite, Male



(b) ミヤママルハナバチ・働きバチ
Bombus hypocrita hypocrite, Worker



(d) コマルマルハナバチ・雄バチ
Bombus ardens ardens, Male



図6. 捕獲されたオオマルハナバチ (a), ミヤママルハナバチ (b, c), コマルマルハナバチ(d).

Figure 6. Captured *Bombus honshuensis honshuensis* (a), *B. hypocrita hypocrite* (b, c), and *B. ardens ardens* (d).

活性の違いは、女王バチが越冬を終えた春に単独で営巣を始め、働きバチが誕生し始めると産卵に専念するようになること、その後、働きバチが創設女王バチに代わって内役(清掃や育児や巣室・蜜壺づくり)と外役(花粉や花蜜集め)を担当するようになること、夏～秋(種によっては初夏)にかけて誕生した雄バチと新女王バチが巣外に出て交尾や巣外活動をするようになることに起因している(木野田ほか 2013)。

ここで、クロマメノキ・コケモモの開花フェノロジーとマルハナバチ類の季節活性の対応をみてみると、コケモモの開花期間(6月上旬～下旬)は働きバチが誕生し始める時期と一致しているものの、働きバチの個体数はまだ少なく、創設女王バチの巣外行動がまだみられる時期と一致している。一方で、クロマメノキの開花時期(6月中旬～9月下旬)との対応をみてみると、前

半は創設女王バチ、後半は雄バチと新女王バチの巣外行動がみられる時期と重なっているものの、個体数は少ない時期であるのに対し、開花がピークを迎える中盤は働きバチの巣外行動が最も活発になる時期と一致している。このように、各樹種で季節的な対応が予想されることから、コケモモは春に出現する創設女王バチに、クロマメノキは夏に増加する働きバチに花粉媒介を頼っているとの推測が成り立つだろう。そこで、これらの推測と本研究の結果が一致するのかどうかを確かめてみると、クロマメノキを訪れたマルハナバチ類のカーストは、新設女王バチが4個体(オオマルハナバチ)、働きバチが4個体(ミヤママルハナバチ)、雄バチが6個体(ミヤママルハナバチ:2個体、コマルハナバチ:4個体)であった。よって、クロマメノキに最も多く訪れたカーストは雄バチであった。これは、クロマメノキ

が働きバチに花粉媒介を頼っているという推測とは異なる結果であった。一方、コケモモに訪れたマルハナバチ類のカーストは、新設女王バチが1個体(オオマルハナバチ)であった。これは、コケモモが新設女王バチに花粉媒介を頼っているという推測と一致する結果であった。

一般的に、マルハナバチ類は1個体が1種類の花を選択して花蜜や花粉を繰り返し集める「定花性」と呼ばれる習性を持っている(石井 2006)。選択された花は「主選好の花」と呼ばれる。また、主選好の花から花蜜が採れなくなった場合の備えとして「副選好の花」と呼ばれる花を何種類か持っている。つまり、マルハナバチ類は「主選好の花」を主に利用しつつ、「副選好の花」も少しずつ利用しているという(「クラウドシステムを用いた市民参加型マルハナバチ類国勢調査」(マルハナバチ国勢調査研究グループ) http://hanamaruproject.s1009.xrea.com/hanamaru_project/index.html 最終確認日2020年1月27日)。本研究の結果から主選好の花を特定してみると、クロマメノキとコケモモの開花時期が重なっていた6月中旬～下旬に、オオマルハナバチ(創設女王バチのみ)はクロマメノキの花に4個体、コケモモの花には1個体ずつ訪れていたことから、オオマルハナバチの主選好の花はクロマメノキであったと考えられる。また、同じ開花時期に、ミヤママルハナバチは4個体(働きバチ3個体、雄バチ1個体)、コマルハナバチは3個体(雄バチのみ)ずつクロマメノキの花のみに訪れていたことから、両種の主選好の花もクロマメノキであったと考えられる。このように、マルハナバチ類が主選好の花としてクロマメノキを選択していた理由は、花蜜の量の違いに求められるだろう。本実験で受粉処理を行った際に、分泌される花蜜の量はコケモモよりクロマメノキで明らかに多かった。つまり、クロマメノキは花蜜の量の豊富さで多様な種類のマルハナバチを誘引できたのであろう。

以上のことから、クロマメノキにとって重要な花粉媒介者となりうるマルハナバチ類は、花を主選好として利用していたミヤママルハナバチ(働きバチ・雄バチ)、オオマルハナバチ(創設女王バチ)、コマルハナバチ(雄バチ)、コケモモにとっては花を副選好として利用していたオオマルハナバチ(創設女王バチ)であることが示唆された。しかし、コケモモについては、オオマルハナバチ(創設女王バチ)が1個体しか観察されず、かつ花を主選好として利用していなかったことから、花粉媒介者をめぐる競争でクロマメノキに負けていたことが推測

される。

同時に、人工受粉実験中に、両樹種で花冠の基部に1mm程度の穴が空いている花が多数観察されており、特にクロマメノキで顕著であった。このことから、クロマメノキやコケモモで盗蜜が起こっている可能性が高いと考えられる。盗蜜とは、蜜線に口吻が届かない、あるいは届きづらい花に対して、花蜜が近い位置の花冠の側面に穴を空けて口吻を侵入させて吸蜜する行動のことであり、特に口吻の短いオオマルハナバチ亜属の女王バチなどで多く観察される(木野田ほか 2013)。盗蜜による影響としては、受粉が達成できないことによる結実率の低下が挙げられる。松村・鶯谷(2005)は、オオマルハナバチの盗蜜行動がベニバナインゲン *Phaseolus coccineus* L. (Leguminosae) の結実に与える影響を実験したところ、盗蜜が起こると、花粉が柱頭に運ばれる花粉媒介がなされず、結実できないことを報告している。本研究でも、オオマルハナバチがクロマメノキとコケモモの花に訪れていたことから、オオマルハナバチによって盗蜜が行なわれており、特に盗蜜痕が多かったクロマメノキでは結実率の低下が起きている可能性が考えられる。この推測は、両樹種の結実率が他の処理より「コントロール」の処理で極端に低かった結果からも裏付けられるであろう。今後は、マルハナバチ類の採蜜行動を観察して盗蜜を行う種を特定することや、体に付着した花粉の樹種をDNA分析によって特定することで、実質的にどの種類のマルハナバチがどの樹種の花粉媒介に貢献しているのかを突き止める必要がある。

予想される地球温暖化の影響について

クロマメノキとコケモモは、ともに「他家受粉」の処理よりも「コントロール」の処理で結実率が低かった。クロマメノキの「コントロール」では、1本の幹・枝でのみ結実が認められたが、その結実率は5.9%と低い値に留まった。コケモモに至っては、全ての幹・枝で結実が認められなかった。このような、両樹種で結実率が低かった理由の一つとして、受粉につながる花粉媒介が十分に機能しない「花粉制限」が起こっていたことが考えられる。すなわち、浅間山高山帯でも地球温暖化による気温上昇の影響によって、開花時期の早期化とマルハナバチ類の巢外活動との間に季節的な不一致が起こっており、花粉制限が生じている可能性があるだろう。このような季節的な不一致を起こす仕組みとしては、マルハナバチ類の女王バチが越冬をする

際に地中に潜るという生態を持つ(木野田ほか 2013) ことに関係している可能性がある。つまり、地中の温度は地上の外気温より一定に保たれやすいことから、春の気温上昇の影響を受けづらく、越冬している女王バチは例年通りの季節活性を示すことが予想されるためである。一方、花は春の気温上昇の影響をダイレクトに受けるため、開花時期の早期化を起こすと考えることができるだろう。このような気温上昇に対する反応の違いによって、マルハナバチ類の季節活性と開花時期の季節的な不一致を起こすと考えられる。また、このような季節的な不一致の影響は、開花時期が晩春(6月上旬～下旬)に集中しているコケモモで強く受けることが予想される。一方で、クロマメノキは開花時期が長い(6月中旬～9月下旬)ため、コケモモと比べると、気温上昇の影響を受けづらい樹種であろう。

一般的なマルハナバチ類の季節活性の特徴から、クロマメノキは働きバチに花粉媒介を頼っていると予想されたが、本研究からは、開花時期の後半に出現すると予想された雄バチが最も多く花を訪れることが明らかになかった。このような結果になった理由としては、クロマメノキの開花時期の早期化によってマルハナバチの巢外活動との間に季節的な不一致が生じたことで、マルハナバチが利用できる餌資源(花粉や花蜜)が減少してしまったことが関係している可能性がある。マルハナバチ類は、幼虫に与える餌資源が十分に確保できない場合、幼虫を巢外へ捨て、産卵も停止し、結果的にコロニーは未発達の状態で生活史は短期化するという(マルハナバチ普及会 2019)。浅間山高山帯に分布するマルハナバチ類でも、同様の生活史の短期化とそれに伴う雄バチの巢外活動が始まる時期の早期化が起きていると仮定すれば、開花時期のピーク(夏)に雄バチが頻繁に観察された結果と矛盾することがなくなる。したがって、これも地球温暖化の影響の一つという解釈もできるだろう。

謝辞

本研究はJSPS 科研費 JP17K07849 の援助を受けたものである。長野大学環境ツーリズム学部里山再生学ゼミナールの学生16名(黒岩 爽真、佐伯 幸祐、甘利 大河、小出 悠太朗、神通川 雅史、吉久保 絵美、前田 夏樹、川本 謙伍、熊谷 唯、小猿 夏海、武田 浩太、古幡 奏未、中島 壮平、大和田 樹里、藤原 貴一、横内 はるひ)には、フィールド調査にご協力いただき、有意義な議論の場もいただいた。以上の方々に深く感

謝したい。

引用文献

- Hughes L (2000) Biological consequences of global warming: Is the signal already apparent? *Trends in Ecology & Evolution*, 15(2):56–61
- 石井 博 (2006) ポリネーターの定花性. 日本生態学会誌, 56(3):230–239
- Jacquemart AL (1996) *Vaccinium uliginosum* L. *Journal of Ecology*, 84(5):771–785
- 木野田 君公, 高見澤 今朝雄, 伊藤 誠夫 (2013) 日本産マルハナバチ図鑑. 北海道大学出版会, 札幌
- 工藤 岳 (2014) 気候変動下での山岳生態系のモニタリングの意義とその方向性. *地球環境*, 19(1):3–11
- Kudo G (2014) Vulnerability of phenological synchrony between plants and pollinators in an alpine ecosystem. *Ecological Research*, 29(4): 571–581
- マルハナバチ普及会 (2019) 「外来生物法第5条に基づくセイヨウオオマルハナバチの飼養等許可の運用に係る説明会 資料3 外来種と在来種(クロ)マルハナバチの違いと使い方」<https://www.env.go.jp/nature/intro/2outline/attention/file/Shiryo3.pdf>, 2020年1月27日確認
- 松村 千鶴, 鷲谷 いづみ (2005) セイヨウオオマルハナバチによる盗蜜が作物ベニバナインゲン(ハナマメ)の結実に与える影響. 第52回日本生態学会大会要旨
- Memmott J, Craze PG, Waser NM, Price MV (2007) Global warning and the disruption of plant-pollinator interactions. *Ecology letters*, 10(8):710–717
- Millenium Ecosystem Assessment (2005) *Ecosystems and human well-being: Synthesis*. Island Press, Washington, DC.
- Nuortila C, Tuomi J, Laine K (2002) Inter-parent distance affects reproductive success in two clonal dwarf shrubs, *Vaccinium myrtillus* and *Vaccinium vitis-idaea* (Ericaceae). *Canadian Journal of Botany*, 80(8): 875–884
- Pullin AS (2004) 保全生物学 生物多様性のための科学と実践 (井田 秀行, 大窪 久美子, 倉本 宣, 夏原 由博訳). 丸善, 東京
- 曾根 綾子 (2006) 立山高山帯におけるライチョウなど

による種子散布. 立山カルデラ研究紀要, 7:15-21
高橋 一秋, 高橋 香織 (2019) 浅間山高山帯におけるツツジ科小低木の開花・結実フェノロジーと果実特性: ガンコウラン・クロマメノキ・シラタマノキ・コケモモ. 長野大学紀要, 41(1):49-56