



釣鐘状花における夜行性ガ類による花粉媒介

船本, 大智

(Degree)

博士 (農学)

(Date of Degree)

2021-03-25

(Date of Publication)

2022-03-01

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第8084号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1008084>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



博士論文

釣鐘状花における夜行性ガ類による花粉媒介

2021年1月

神戸大学大学院農学研究科

船本大智

本稿に含まれる出版論文の目録

2 章は次の論文からなる

Daichi Funamoto, Shinji Sugiura. Relative importance of diurnal and nocturnal pollinators for reproduction in the early spring flowering shrub *Stachyurus praecox* (Stachyuraceae). *Plant Species Biology*, 36, 94–101, 2021.

doi:10.1111/1442-1984.12299

3 章は次の論文からなる

Daichi Funamoto, Kazuharu Ohashi. Hidden floral adaptation to nocturnal moths in an apparently bee-pollinated flower, *Adenophora triphylla* var. *japonica* (Campanulaceae). *Plant Biology*, 19, 767–774, 2017. doi:10.1111/plb.12579

4 章は次の論文からなる

Daichi Funamoto. Precise sternotribic pollination by settling moths in *Adenophora maximowicziana* (Campanulaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 180, 200–208, 2019. doi:10.1086/701734

目次

第1章 序論	1
第2章 早春に咲くキブシの花粉媒介におけるガ類の重要性	8
2.1 背景	8
2.2 材料と方法	10
2.3 結果	13
2.4 考察	15
第3章 ツリガネニンジンの花粉媒介におけるガ類の重要性	24
3.1 背景	24
3.2 材料と方法	26
3.3 結果	29
3.4 考察	32
第4章 ヒナシャジンの花粉媒介におけるガ類の重要性	45
4.1 背景	45
4.2 材料と方法	46
4.3 結果	50
4.4 考察	52
第5章 総合考察	63
摘要	71
謝辞	76
引用文献	77

第1章 序論

花粉媒介者と植物の相互関係

花と花粉媒介者の相互作用は陸上生態系で非常に重要な相互作用の一つであり、被子植物の87.5%の種は動物によって花粉媒介されると見積もられている (Ollerton et al. 2011)。また、多様な動物が花粉や蜜を得る為に花に集まり、約35万種の動物が訪花性を示すと推定されている (Ollerton 2017)。昆虫類は最も種数の多い訪花者のグループであり、特に以下の4つの目で訪花性を示す種が多い。鱗翅目では約14万種、甲虫目では約8万種、膜翅目では約7万種、双翅目では約5万種が訪花性を示すと推定されている (Wardhaugh 2015)。昆虫類以外では、コウモリ類や鳥類などの脊椎動物も重要な花粉媒介者である (Ollerton 2017)。こうした多様な訪花動物による花粉媒介は、被子植物の種の多様化に大きく関わっていると考えられている (Van der Niet and Johnson 2012, Hernández-Hernández and Wiens 2020)。

送粉シンドローム：花形質の花粉媒介者に対する収斂進化

動物によって花粉媒介される被子植物の花は色、形、香りがさまざまであり、この著しい花の多様性には動物による花粉媒介が関わっていると考えられている (Van der Niet and Johnson 2012)。多様な動物種によって花粉媒介されるジェネラリスト的な花粉媒介様式 (generalized pollination system) をもつ植物種は多いものの (Waser et al. 1996)、特定の動物種あるいは動物群による花粉媒介に依存するスペシャリスト的な花粉媒介様式 (specialized pollination system) をもつ植物は少なからず存在する (Fenster et al. 2004, Van der Niet and Johnson 2012, Rosas-Guerrero et al. 2014)。スペシャリスト的な花粉媒介様式をもつ植物は、その植物を花粉媒介する主要な動物群に対応した花形質をもつことが多い (Willmer 2011)。また、遠縁の植物であっても、同じ動物群に花粉媒介される

植物は、しばしば類似した花形質をもつ (Fenster et al. 2004)。例えば、鳥類に花粉媒介される植物の多くは、赤色で細長い花をもち多量の薄い花蜜を分泌する (Willmer 2011, Pauw 2019)。こうした、被子植物の様々な分類群間で共有される、花粉媒介者と花形質の対応関係は送粉シンドローム (pollination syndrome) と呼ばれている (図1-1, Fenster et al. 2004, Willmer 2011)。送粉シンドロームは特定の動物群による花粉媒介に対する収斂進化の産物だと考えられており、花粉媒介者への適応において重要な花形質を類推するうえで役立つ (Johnson and Raguso 2016, Dellinger 2020)。例えば、口吻が非常に長いスズメガ類に花粉媒介される花 (スズメガ媒花) は長い花筒をもつ事が多く、スズメガ媒花の長い花筒はスズメガ類による花粉媒介に対する適応だと考えられている (Johnson and Raguso 2016, Johnson et al. 2017)。

夜行性ガ類による花粉媒介

夜行性動物は植物の繁殖や進化において重要な働きを果たしていると考えられている (VanZandt et al. 2019, Macgregor and Scott-Brown 2020)。夜行性動物による花粉媒介は昼行性動物による花粉媒介と比べて研究が遅れているが、夜行性動物の花粉媒介者としての重要性は近年になり着目され始めている。例えば、夜行性ガ類などの夜行性昆虫による花粉媒介に着目した総説が近年になって次々に出版されている (Macgregor et al. 2015, Borges et al. 2016, Hahn and Brühl 2016, Borges 2018, VanZandt et al. 2019, Macgregor and Scott-Brown 2020)。また、光害などの人間活動が夜行性訪花昆虫類による花粉媒介に対して与える負の影響の検証も行われ始めた (Macgregor et al. 2015, 2017, Knop et al. 2017)。例えば、アザミ属の一種では、街燈の元の花では、暗い場所にある花よりも夜行性昆虫類の訪花数が 62%低下し、さらに街燈の元の花では暗い場所にある花よりも結果率が 13%低下した (Knop et al. 2017)。

夜行性ガ類は、夜行性花粉媒介者の中では最も研究が進んでいるグループである (Macgregor and Scott-Brown 2020)。夜行性ガ類は非常に大きなグループであり、約 160,000 種が知られている鱗翅目のうちの 75~85 %が夜行性だと推定されている (Kawahara et al. 2018)。ほとんどの夜行性ガ類の成虫は細長い口吻をもち、花蜜などの液体を主な餌とする (Krenn 2010, Lehnert et al. 2016)。

夜行性ガ類は熱帯や温帯の多くの花で重要な花粉媒介者であると考えられている (Bawa 1990, Borges et al. 2016)。被子植物では 50 科以上で夜行性ガ類によって花粉媒介される花が報告されている (Borges et al. 2016)。夜行性ガ類による花粉媒介に特殊化した花 (以下、ガ媒花) では、夜咲き、細長い花筒、花色は白色あるいは淡色、夜間に甘い香りを放つといった特徴をもつことが多い (図 1-1A, B, Willmer 2011)。こうしたガ媒花の特徴は、夜行性ガ類を誘引し、夜間に花粉媒介を行う上で有利だと考えられている。例えば、長い花筒は長い口吻をもちガ類と繁殖器官の接触を促進する (Darwin 1862)。また、白色の花は夜間に目立つと考えられる (Kelber 2005, Johnsen et al. 2006)。

訪花性のガ類は形態と行動に基づき、スズメガ類 (hawkmoth) と着地訪花性ガ類 (settling moth) の大きく 2 つのグループに分けることができる (Oliveira et al. 2004, Okamoto et al. 2008, Atwater 2013)。スズメガ類は大型のガ類であるスズメガ科 (Sphingidae) によって構成され、非常に長い口吻 (10~280 mm) をもち、訪花時にホバリングをすることが可能である (Miller 1997, Johnson et al. 2017)。着地訪花性ガ類は主にヤガ上科 (Noctuoidea)、シャクガ上科 (Geometroidea)、メイガ上科 (Pyraloidea) で構成され、比較的短い口吻をもち (多くの種の口吻長は 15 mm 以下)、訪花時にホバリングをすることができず花に止まって吸蜜する (Oliveira et al. 2004, Okamoto et al. 2008, Atwater 2013)。

ガ媒花は訪花性ガ類の 2 つのグループに対応した、スズメガ媒花 (sphingophilous flower) と着地訪花性ガ類媒花 (phalaenophilous flower) に区別される (Oliveira et al. 2004, Willmer 2011)。しかし、両者は形態的に類似してお

り、主に花筒の長さによって区別されてきた (Oliveira et al. 2004, Willmer 2011)。例えば、ブラジルのセラードでは、スズメガ媒花は 40~100 mm の花筒をもつ一方で、着地訪花性ガ類媒花は 15 mm 以下の花筒をもつ (Oliveira et al. 2004)。また、ツレサギソウ属の 1 種 *Platanthera bifolia* には距の長さに地理的な変異があり、着地訪花性ガ類に花粉媒介される集団は距が短く、スズメガ類に花粉媒介される集団では距が長いことが知られている (Boberg et al. 2014)。

着地訪花性ガ類による花粉媒介の研究

訪花性ガ類の研究の多くはスズメガ類において行われてきたため、着地訪花性ガ類の研究はスズメガ類と比べて遅れている (Bawa 1990, Wardhaugh 2015)。一方で、スズメガ類と比べて着地訪花性ガ類の種数は圧倒的に多い (Hahn and Brühl 2016)。また、ライトトラップで採集されるガ類の個体数も着地訪花性ガ類の方がスズメガ類よりもはるかに多いため、着地訪花性ガ類の絶対的な個体数はスズメガ類よりも多い (Macgregor et al. 2017)。したがって、着地訪花性ガ類の花粉媒介者としての重要性はこれまで大きく見過ごされてきた。従来の着地訪花性ガ類による花粉媒介に関する研究は、ガ媒花の典型的な特徴をもつ植物種に偏ってきた可能性がある。例えば、北米とヨーロッパで行われてきたガ類による花粉媒介に関する研究の多くは、典型的なガ媒花の特徴をもつ種が多いラン科とナデシコ科を対象としている (Hahn and Brühl 2016)。ガ類は夜間に訪花するため、典型的なガ媒花の特徴を示さない花において夜間調査が行われにくい傾向があるかもしれない。しかし、近年の研究によって、細長い筒状ではない花、例えば下向きで鐘型の花 (釣鐘状花)、において着地訪花性ガ類が主要な花粉媒介者である事例が報告されている (Liu and Huang 2013, Van der Niet et al. 2014, Benning 2015)。釣鐘状花はハナバチ類に花粉媒介される花 (ハナバチ媒花) に良く見られる特徴である (図 1-1C, D, Proctor et al. 1996, Roquet et al. 2008)。

釣鐘状花はハナバチ媒だと予想されてきた結果、夜行性ガ類の花粉媒介者としての重要性がこれまで見過ごされてきた可能性がある。

本論文の構成

夜行性ガ類は重要な花粉媒介者であると考えられてきたが、昼行性花粉媒介者と比べて研究が遅れている。したがって、花と夜行性ガ類の相互作用には、これまでの研究で見過ごされてきた側面がある可能性が高い。本研究は、従来はガ媒花としてみなされていなかった釣鐘状花に着目し、夜行性ガ類との相互作用の調査を行った。釣鐘状花をもつ2科2属3種の花粉媒介において、昼行性訪花昆虫類と夜行性ガ類の相対的貢献度を比較した。また、このうち2種においては、開花時刻などの時間に関わる花形質を調べ、これらの花が夜行性ガ類に対してどのように適応しているかを明らかにした。

第2章では、早春に咲く花における夜行性ガ類の花粉媒介の貢献度を明らかにするために、早春に咲き釣鐘状の花をもつキブシ *Stachyurus praecox* (キブシ科) の花粉媒介において、昼行性訪花昆虫類と夜行性ガ類の相対的な重要性を調べた。

第3章では、青色で釣鐘状の花をもち、見かけ上はハナバチ媒花に当てはまるツリガネニンジン *Adenophora triphylla* var. *japonica* (キキョウ科) において夜行性ガ類の花粉媒介への貢献度を調べた。さらに開花時刻、雄期から雌期への変化時刻、蜜分泌量の経時変化といった花形質の時間変化を調べることで、ツリガネニンジンにおける夜行性ガ類への適応を評価した。

第4章では、釣鐘状の花をもつヒナシャジン *Adenophora maximowicziana* (キキョウ科) において、夜行性ガ類の花粉媒介への貢献度を調べた。また、花形態、開花時刻、雄期から雌期への変化時刻、蜜分泌量の経時変化を調べ、夜行性ガ類への適応を評価した。さらに、夜行性ガ類の体表上の花粉付着部位に着目し、釣鐘状の花形態と夜行性ガ類による花粉媒介との関連を議論した。

第5章では、第2～4章で行った研究をもとに着地訪花性ガ類による花粉媒介に関して以下の4つの側面から議論した。(1) 早春だけでなく広く低温環境における花粉媒介者としての着地訪花性ガ類の機能。(2) 昼行性昆虫類が主要な花粉媒介者である植物において着地訪花性ガ類が花粉媒介者として機能する可能性。(3) 下向きの花において着地訪花性ガ類が有効な花粉媒介者として機能する可能性。(4) 着地訪花性ガ類が花形質の進化に及ぼす影響。加えて、花生態学における一般的な視点として、本研究で得られた結果が花形質と花粉媒介者の対応関係をより正確に理解する上でどのように役立つかを議論した。

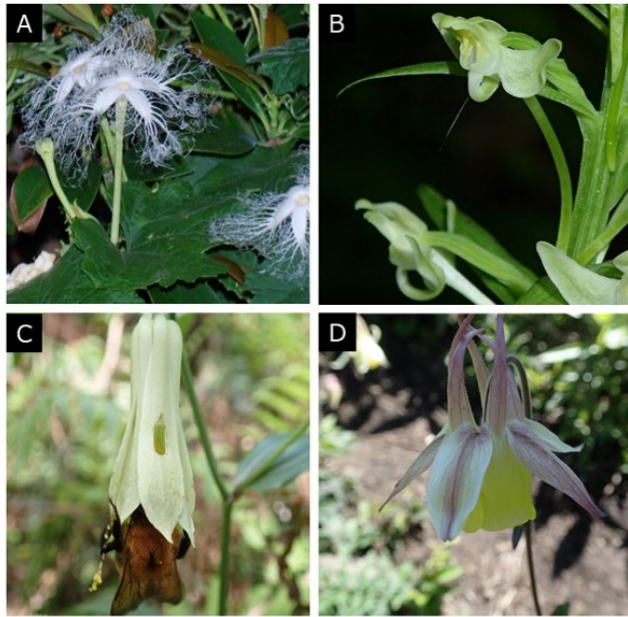


図 1-1. 送粉シンドローム。A. カラスウリ *Trichosanthes cucumeroides* (ガ媒花)。B. オオヤマサギソウ *Platanthera sachalinensis* (ガ媒花)。C. ホウチャクソウ *Disporum sessile* (ハナバチ媒花) に訪花するトラマルハナバチ *Bombus diversus diversus*。D. ヤマオダマキ *Aquilegia buergeriana* (ハナバチ媒花)。

第2章 早春に咲くキブシの花粉媒介におけるガ類の重要性

2.1 背景

多様な動物群に花粉媒介されるジェネラリスト的な花粉媒介様式 (generalized pollination system) は多くの被子植物に見られる (Waser et al. 1996, Leal et al. 2020)。多様な動物群に花粉媒介される植物種は、異なるグループの花粉媒介者が補完的に働く可能性があり、繁殖において有利な可能性がある (Blüthgen and Klein 2011, Macgregor et al. 2019b)。ジェネラリスト的な花粉媒介様式は、花粉媒介者の利用可能性が予測できない環境、例えば島嶼や (Kaiser-Bunbury et al. 2010, Weissmann and Schaefer 2018)、高山 (Freitas and Sazima 2006, Peng et al. 2012) などの環境で有利だと考えられている。早春も花粉媒介者を得ることができにくい条件であるといえる。まず、日による天候の変化が激しく (Motten 1986)、低温の日には花粉媒介者の活動が制限される (Herrera 1995)。また、暖かい年には開花が花粉媒介者の出現よりも早く起き、結果的に開花と花粉媒介者の出現のフェノロジーの間にミスマッチが起きる (Kudo and Cooper 2019)。こうした早春における花粉媒介者の利用可能性の不確実さは、早春に開花する植物において花粉制限が起こる要因の一つだと考えられている (Kudo and Cooper 2019)。実際に、早春に咲く花においてジェネラリスト的な花粉媒介様式をもつ種は多い (Motten 1986, Dupont and Kato 1999)。ただし、多様な動物が訪花する花であっても、全ての訪花動物群が有効な花粉媒介者であるとは限らない (King et al. 2013, Leal et al. 2020)。したがって、個々の訪花動物群の花粉媒介における相対的な重要性を明らかにすることが、ジェネラリスト的な花粉媒介様式をもつ種において重要だと考えられる (Leal et al. 2020)。しかし、早春に咲く花において、花粉媒介における個々の訪花動物群の相対的な重要性を明らかにした研究は少ない (Huang et al. 2017)。

昼行性昆虫類に加えて、夜行性ガ類は早春に咲く花を訪花することが知られ

ており、キブシ科、ジンチョウゲ科、ヒガンバナ科、ツツジ科、ヤナギ科などにおいて、夜行性ガ類による訪花が確認されている (Osada et al. 2003, Alonso 2004, Pérez-Barrales et al. 2006, Abe 2007, 池ノ上・金井 2010, Jürgens et al. 2014)。しかし、これらのガ類が花粉媒介に貢献しているかは実験的にほとんど検証されてこなかった。ヨーロッパにおいて行われた2つの研究では、ヤナギ科の一種 *Salix caprea* (Jürgens et al. 2014) とジンチョウゲ科の一種 *Daphne laureola* (Alonso 2004) において、昼と夜の花粉媒介者の選択的排除実験をすることで、夜行性ガ類の花粉媒介が結実に貢献しているかを調べた。しかし、これらの研究の結果は、この2種の植物において、夜行性ガ類が結実に貢献していないことを示唆した。つまり、ヤナギ科の一種ではハナバチ類と風が花粉媒介に貢献し、ジンチョウゲ科の一種ではケシキスイ類が花粉媒介に貢献していた (Alonso 2004, Jürgens et al. 2014)。したがって、早春に咲く植物の花粉媒介における夜行性ガ類の貢献は未解明であった。

本研究では、早春に釣鐘状の花を咲かせるキブシ *Stachyurus praecox* (キブシ科) に着目し、花粉媒介における昼行性昆虫類と夜行性ガ類の相対的な貢献度を評価することを目的とする。キブシの花には、昼間にはツリアブ類やハナバチ類などの多様な昆虫が訪花し (Abe 2007)、一方で夜間にはヤガ科やシャクガ科などのガ類が訪花することが知られている (池ノ上 1990, 池ノ上・金井 2010)。したがって、キブシにおいては、昼間と夜間の訪花者の両者が花粉媒介に貢献している可能性がある。しかし、キブシにおいて、昼間と夜間の訪花者の花粉媒介と結実に対する相対的な貢献度はこれまで実験的に比較されてこなかった。

本研究は以下の3つの問いに答えることを目指す：(1) 昼行性昆虫類と夜行性ガ類は年と場所に関わらずキブシの花に訪花するのか？ (2) 昼行性昆虫類と夜行性ガ類はキブシの花粉を運んでいるのか？ (3) 昼行性昆虫類と夜行性ガ類の両者がキブシの結実に貢献しているのか？

2.2 材料と方法

対象種と調査場所

キブシは日本の温帯林における林縁に生育する灌木である (図 2-1A, 高橋 2000)。キブシは花の形態的特徴から、集団内に両性株と雌株が存在する雌性両性異株 (gynodioecy) だと考えられてきた (Abe 2007)。しかし、形態的に両性花にあてはまる特徴をもつ花が種子を生産することが稀であることから、機能的雌雄異株 (functional dioecy) だと考えられている (Abe 2007)。以下、両性花を雄花、その両性花をもつ個体を雄株と呼ぶ。雄花と雌花の両者が蜜を分泌していた。花序当たりの花の数は、雌花序では 14.8 ± 6.1 個 (平均 \pm SD, 2~28 個、2 個体の 88 花序で計測)、雄花序では 13.6 ± 9.0 個 (2~36 個, 2 個体の 77 花序で計測) だった。

キブシの野外集団における調査を京都府南丹市美山町京都大学芦生研究林 (以下、芦生: $35^{\circ}18'N$, $135^{\circ}43'E$ 、標高 450 m) と兵庫県西宮市武田尾 (以下、武田尾: $34^{\circ}51'N$, $135^{\circ}18'E$ 、標高 100 m) の 2 つの温帯林で行った。芦生では森林の主要な構成種は、スギ *Cryptomeria japonica*、ミズナラ *Quercus crispula*、コナラ *Q. serrata*、ウラジロガシ *Q. salicina* である (Group for the study on ecology of natural forest 1972)。武田尾では、森林の主要な構成種はアラカシ *Q. glauca* とコナラである。

訪花者の観察

肉眼での昼夜の花粉媒介者の観察を 3 月下旬から 4 月上旬に行った。武田尾では 2016~2019 年、芦生では 2017~2019 年に行った。それぞれの訪花者の観察では、武田尾と芦生にそれぞれにおいて、約 10 個体のキブシの開花個体のうち、1 個体の雌株あるいは雄株を用いて観察した。昼間の観察は 9:00~17:00 に行った (気温: $4 \sim 21$ °C)、夜間の観察は日没後から 4 時間行った (気温: $4 \sim 14$ °C、

開始時間 18:00~18:33)。夜間の観察では、赤セロファンで覆った LED のヘッドライトを用いた。ただし、昼間の観察においては全時間帯に訪花が全くなかった場合、また夜間の観察では日没後 1 時間以内に訪花が全くなかった場合にはその日のデータは解析から除去した。なぜならば、そのような日は天候条件が訪花者の活動を妨げた可能性が高いからだ。夜間の観察において、日没後 1 時間以内という基準を設定した理由は、予備的な観察において、夜行性昆虫類の訪花のほとんどが日没後 1 時間以内に起きたからである。

訪花者を観察するために、高さ 1.5~3 m にある花序に飛来した昆虫の種と各個体数を記録した。観察を行った花のうちの 1 つ以上の花に動物が訪問した場合に、1 回の訪花とカウントした。それぞれの観察に用いた花数は、芦生においては雌株では 286.0 ± 131.6 個 (平均 \pm SD, $n = 5$) で雄株では 741.0 ± 809.5 個 ($n = 7$)、武田尾においては雌株で 407.4 ± 152.3 個 ($n = 5$) で雄株では 418.8 ± 122.7 個 ($n = 5$) だった。芦生では、昼間の観察を計 48 時間、夜間の観察を計 24 時間行った。武田尾では昼間の観察を計 32 時間、夜間の観察を計 24 時間行った。観察された訪花者の一部を採集し、訪花者を種、属、科レベルで同定した。

キブシの訪花者を行動や形態にもとづき、先行研究を参考にして 8 つの機能群に区分した (Fenster et al. 2004, Gómez et al. 2008, Nikkeshi et al. 2015)。これらには以下が含まれる。(1) 真社会性ハナバチ類：マルハナバチ属 *Bombus* spp. とニホンミツバチ *Apis cerana japonica* (膜翅目：ミツバチ科)。(2) 小型ハナバチ類：ヒメハナバチ科、ミツバチ科 (ツヤハナバチ属 *Ceratina* とキマダラハナバチ属 *Nomada*)、と コハナバチ科 (膜翅目)。(3) ハナアブ類：ハナアブ科 (双翅目)。(4) ツリアブ類：長舌のピロードツリアブ *Bombylius major* (双翅目：ツリアブ科)。(5) その他のハエ類：オドリバエ科やケバエ科を中心とした短舌のハエ類 (双翅目)。(6) 昼行性のチョウ類とガ類：シジミチョウ科とイカリモンガ *Pterodecta felderi* (鱗翅目)。(7) 夜行性着地訪花性ガ類：ヤガ科、シャクガ科、カギバガ科 (鱗翅目)。(8) その他：訪花頻度の低い昆虫類、寄生バチ (膜

翅目)、甲虫、その他の昆虫。

訪花した任意の昆虫を捕虫網で採集した。採集した昆虫の口吻長をノギスあるいは実体顕微鏡下のマイクロメーターで計測した。実体顕微鏡下で採集した昆虫の体表付着花粉を計数した。先行研究に準じ (Funamoto and Sugiura 2016)、体表付着花粉数を 0、1-10、11-100、100 以上の 4 つのカテゴリーに分けた。雌花で採集した昼行性昆虫類と夜行性ガ類の間で、体表に花粉が付着している個体の割合を比較した。解析では、場所と年のデータをプールし、フィッシャーの正確確率検定を用いた。

昼と夜の訪花昆虫の訪花数を比較した。昼夜で観察時間が異なるため、昼間の観察では訪花者の活動時間のピークである 12:00~16:00 の訪花数のデータのみを利用した。夜間の観察では全ての時間帯 (4 時間) を利用した。それぞれの観察における全訪花昆虫の訪花数を解析した。解析には一般化線形モデル (以下 GLM) を用いた。観察あたりの訪花数を応答変数、説明変数を観察時間 (昼あるいは夜) と植物の性 (雄株あるいは雌株)、誤差分布は偽ポアソン分布とした。

花粉媒介実験

雌 3 株から 30 花序をランダムに選んだ。これらの花序において、それぞれの花序から 3 個の花を選び、以下の 5 つの処理を行った。(1) 自然受粉: すべての花粉媒介者の訪花を受けるように袋を被せなかった。(2) 他家授粉: 雄株からの花粉によって雌花を授粉したのちに袋を被せた。(3) 昼受粉: 昼行性の昆虫だけに訪花を受けるように 1 週間の間、日没から日の出まで袋を被せた。(4) 夜受粉: 昼行性の昆虫だけに訪花を受けるように、1 週間の間、日の出から日没まで袋を被せた。選択した花序は開花までメッシュ袋をかぶせることで訪花者を排除した。(5) 昼夜受粉: 開花後 1 週間は無処理で、開花後 1 週間以降に袋を被せ続けた。昼受粉と夜受粉は 1 週間続けたのちに、実験終了まで常に袋

を被せ続けた。昼夜受粉で開花の1週間以降に袋を被せ続けた理由は、花粉媒介者に晒す期間を昼受粉および夜受粉と揃えるためである。実験が終了した約2ヶ月後に花序を回収した。ただし、他家授粉処理において、実験中に1つの花が喪失していた。実った果実に含まれている種子数を記録した。実がならなかった花は種子数をゼロとした。実験処理間での種子数を比較するために、GLMを用いた（誤差分布：偽ポアソン分布、リンク関数：ログ、説明変数：実験処理の種類、応答変数：果実当たりの種子数）。すべての処理間でのペアワイズ比較を行った。例えば、夜間受粉と昼間受粉の間でペアワイズ比較を行った。ペアワイズによる多重比較を行ったため、 p 値の補正には Benjamini-Hochberg 法を用いた (false discovery rate-controlling procedures) (Benjamini and Hochberg 1995)。すべての解析には R version 3.5.2 を用いた (R Core Team 2018)。

2.3 結果

訪花者

キブシの花は昼行性と夜行性の訪花者の両者に訪問された。膜翅目と双翅目は昼間の主要な訪花者だった (図 2-1B-E, 2-2 ; 表 2-1, 2-2)。小型ハナバチ類は最も頻繁な昼行性の訪花者だった (武田尾での 2019 年の雌株と 2018 年の雄株における観察を除く ; 図 2-1, 2-2 ; 表 2-2)。小型ハナバチ類、ハナアブ類、ツリアブ類、その他のハエ類 (主にケバエ科とオドリバエ科) は花粉と蜜を求めて訪花した。ミツバチ属による訪問は稀であり、2017 年の武田尾でニホンミツバチによる 1 度の訪問が観察されただけだった。ツリアブと、昼行性のチョウ類とガ類の訪問は芦生のみで観察された。着地訪花性ガ類 (ヤガ科、シャクガ科、カギバガ科) は蜜を求めて花に集まり、すべての年と場所において唯一の夜間の訪花者だった (図 2-1F-H, 2-2)。キブシの花粉は夜行性着地訪花性ガ類では口吻に付着していたが (図 2-1H)、小型ハナバチ類とハナアブ類では頭部、胸部、

脚などの体の様々な部位に付着していた (図 2-1B, E)。

昼間の訪花数は夜間の訪花数よりも多かった (図 2-3)。観察当たりの訪花数は観察時間帯によって影響されたが (GLM, $t = 2.933, p = 0.009$)、植物の性には影響を受けなかった ($t = 1.351, p = 0.192$)。

雄花と雌花で採集した訪花者の両方でキブシの花粉の付着が確認された (表 2-1, 2-2)。雌花で採集した訪花者において、昼間の訪花者と夜間の訪花者の間で花粉が付着している割合に有意な差はなかった (表 2-1 ; 昼間 : 78.3 %, $n = 23$; 夜間 59.0%, $n = 39$; フィッシャーの正確確率検定, $p = 0.1673$)。キブシの花粉は、39 個体の夜行性着地訪花性ガ類のうち 23 個体 (59.0%) で確認された。6 個体のガには 1~10 個の花粉、3 個体には 11~100 個の花粉、14 個体には 100 個以上の花粉の付着が確認された。小型ハナバチ類においては、雌花で採取された 14 個体のうち 11 個体においてキブシの花粉が付着していた。5 個体の小型ハナバチ類には 11~100 個の花粉、6 個体には 100 個以上の花粉が付着していた。

花粉媒介実験

キブシは昼と夜の訪花者の両者に花粉媒介されることが分かった (図 2-4)。しかし、夜受粉によって生産された種子の数は昼受粉によって生産された種子の数よりも少なく、その差は有意であった (GLM, $t = -3.828, p < 0.001, \text{adjusted } p = 0.002$)。その一方で、昼受粉によって生産された種子の数は他家授粉によって生産された種子数と有意に変わらなかった (GLM, $t = -0.525, p = 0.603, \text{adjusted } p = 0.670$)。自然受粉によって生産された種子数は、昼受粉によって生産された種子数よりも少なく、その差は有意であった ($t = -2.395, p = 0.022, \text{adjusted } p = 0.037$)。また他家授粉によって生産された種子数よりも少なく、その差は有意であった ($t = -3.407, p = 0.002, \text{adjusted } p = 0.004$)。昼夜受粉によって生産された種子の数と昼受粉によって生産された種子数の間で有意な差はな

く ($t = -0.419, p = 0.678, \text{adjusted } p = 0.678$)、また昼夜受粉と他家授粉で生産された種子数の間でも有意な差はなかった ($t = -1.069, p = 0.293, \text{adjusted } p = 0.366$)。

2.4 考察

本研究によって、キブシは昼と夜の花粉媒介者の両者を含むジェネラリスト的花粉媒介様式をもつことが分かった。昼間の最も頻繁な花粉媒介者は小型ハナバチ類であり、着地訪花性ガ類は唯一の夜行性訪花者だった (図 2-2)。この傾向は、場所と年を通じて一貫しており、先行研究を支持するものだった (池ノ上 1990, Abe 2007, 池ノ上・金井 2010)。夜受粉で種子生産が見られたことから着地訪花性ガ類の花粉媒介への貢献が確認された (図 2-4)。ただし、昼受粉、他家授粉、および昼夜受粉における種子生産はほとんど同じであったことから、キブシにおいて昼行性花粉媒介者は夜行性花粉媒介者よりも重要な花粉媒介者だと考えられる (図 2-4)。自然受粉は昼夜受粉よりも低い種子生産を示した (図 2-4)。自然受粉された花は実験期間全体で袋を被せられていなかったことから、開花の1週間以降に袋を被せた昼夜受粉と比べて厳しい環境条件 (例えば食害) にさらされたため、種子生産が落ちたのかもしれない。

本研究の結果は、キブシは昼行性と夜行性の訪花者の両者に花粉媒介されることを示した。先行研究では、夜行性の着地訪花性ガ類は早春においてあまり有効な花粉媒介者ではないという結果が得られている (Alonso 2004, Jürgens et al. 2014)。早春に開花するヤナギ科の一種とジンチョウゲ科の一種を用いた2つの先行研究によると、夜行性の着地訪花性ガ類はこれらの植物の花粉媒介に貢献していなかった (Alonso 2004, Jürgens et al. 2014)。本研究は、早春に開花する植物において夜行性ガ類が花粉媒介に貢献していることを実験的に示した。キブシの花粉は夜行性着地訪花性ガ類の口吻に付着していた。したがって、ガ類が口吻を雌花に差し込むときに花粉媒介が起きると考えられる。スズメガ類は一

一般的に最も重要な夜行性ガ類の花粉媒介者だと考えられている (Hahn and Brühl 2016)。しかし、キブシでは夜行性の花粉媒介者は着地訪花性ガ類であった。キブシにスズメガの訪花が見られない理由は、日本には、早春に活動するスズメガの種数が少ないためだと考えられる (岸田ら 2011a)。

昼と夜の両者の訪花者によって花粉媒介されるというジェネラリスト的な花粉媒介様式は早春に開花するキブシにとって重要かもしれない。芦生で 2019 年に行った花粉媒介実験の結果は、昼間の訪花者は夜間の訪花者よりもキブシの結実に貢献していることを示した (図 2-4)。これは、昼間の訪花数が夜間の訪花数よりも実際に多かったことで説明できると考えられる (図 2-3)。しかし、昼間の訪花者のうちで最も多くみられた小型ハナバチ類の活動性は、いくつかの要因で制限されるかもしれない。まず、小型ハナバチ類は外温性であるため、暖かい晴れの日によりのみ採餌を行う (Herrera 1995, Bishop and Armbruster 1999)。例えば、ヒメハナバチ科の *Andrena bicolor* は、気温が 13°C 以上のときのみ、ヒガンバナ科の *Narcissus longispathus* の花上で採餌をする (Herrera 1995)。一方で、ヤガ類は内温性であるため、気温が 10°C 以下でも飛翔が可能である (Heinrich 1987)。早春に開花する植物において、気温が昼と夜の花粉媒介者の活動性にどのように影響するか、そしてそれが花粉媒介の成功にどのように影響するかを明らかにするための研究が今後必要であるといえる。次に、いくつかの研究では、通常の年よりも暖かい春には、早春に開花する植物の開花がハナバチの出現に先んじて起きることが知られている (Kehrberger and Holzschuh 2019, Kudo and Cooper 2019)。一方で、夜行性の着地訪花性ガ類は早春の花の開花時期よりも早く出現し、キブシの開花前には糖蜜トラップに集まることが知られている (池ノ上 1990)。したがって、夜行性着地訪花性ガ類は早春において昼行性の花粉媒介者の活動性が限られる場合には補助的な役割を果たすのかもしれない。

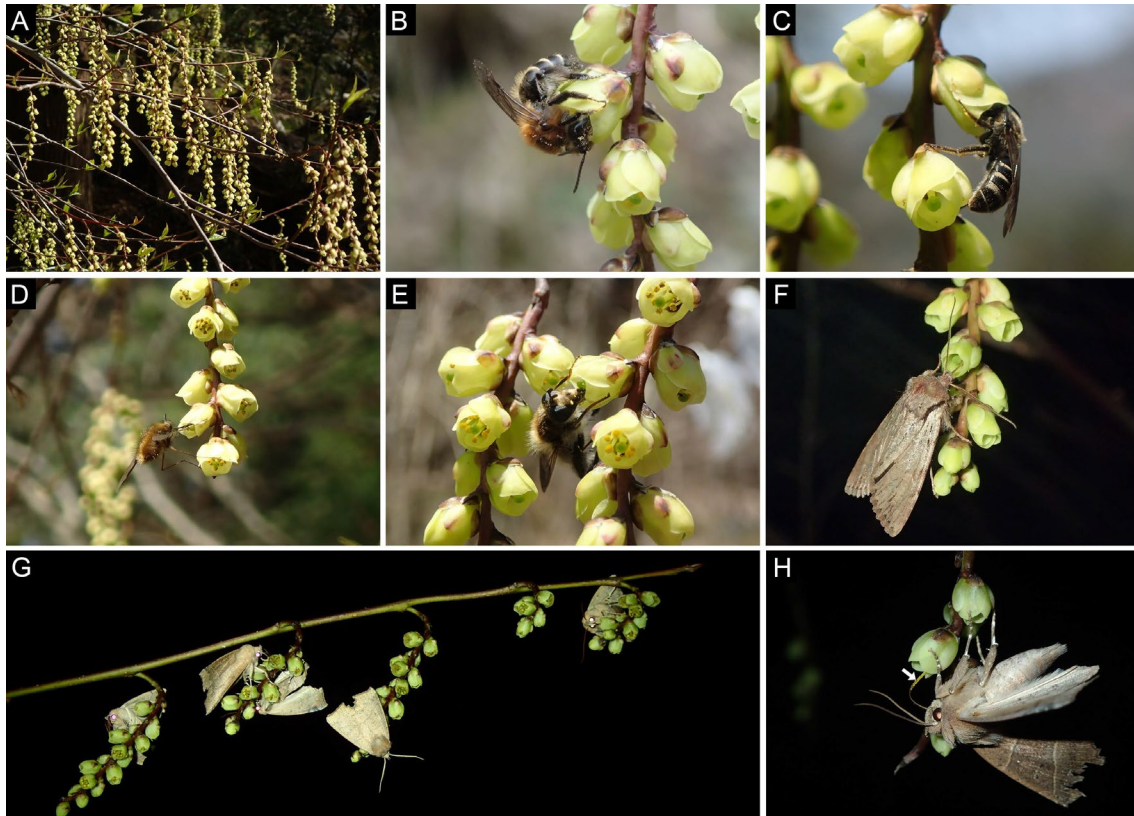


図 2-1. キブシの花と訪花者。A：開花した雄株。B：雄花に訪花したヒメハナバチ科の一種。頭部、脚、胸部に花粉が付着している。C：雌花に訪花した小型ハナバチ。D：雄花に訪花したビロウドツリアブ *Bombylius major*。E：雄花に訪花したモモブトハナアブ属の一種 *Criorhina* sp.。頭部と脚に花粉が付着している。F：雌花に訪花したケンモンキリガ *Egira saxea*。G：雄花序に訪花したプライヤキリバ *Goniocraspidum pryeri*。H：雄花に訪花したプライヤキリバ。白矢印は口吻に付着した花粉を示す。A から F は芦生で撮影し、G と H は武田尾で撮影。

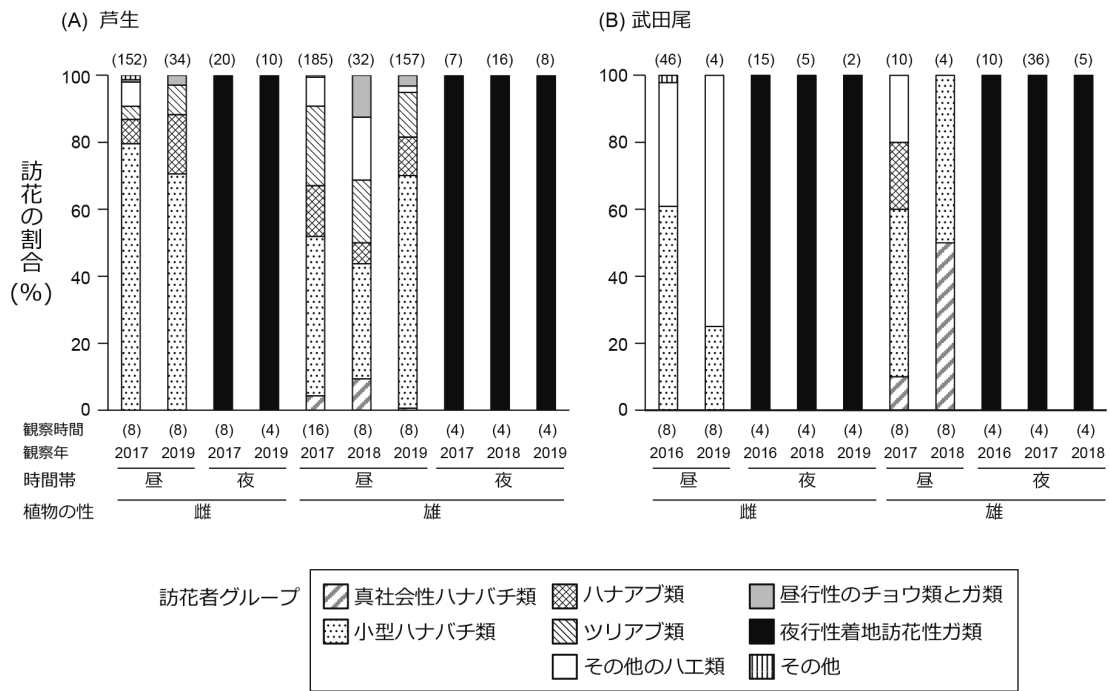


図 2-2. (A) 芦生と (B) 武田尾におけるキブシに訪花した昼と夜の訪花者の構成。棒の下の括弧内の数字は観察時間を示す。棒の上の括弧内の数字は観察で見られた全訪花数を示す。

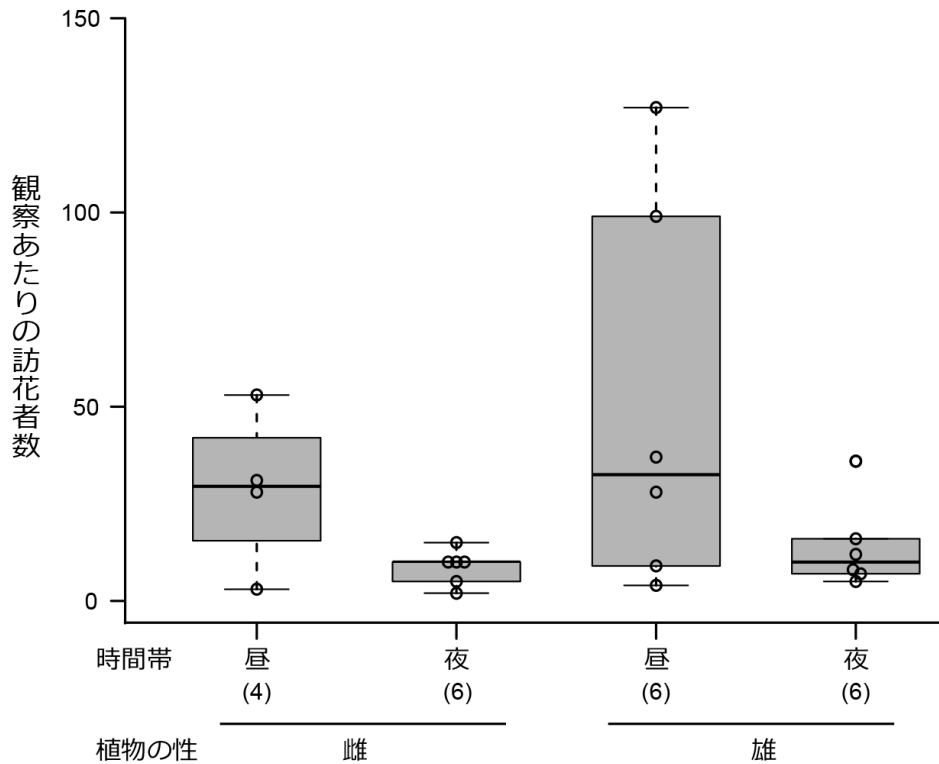


図 2-3. キブシに訪花した昼行性と夜行性の訪花数。箱内の太い水平線は中央値を示す。箱の下端と上端はそれぞれ第一四分位数 (25%) と第三四分位数 (75%) をそれぞれ示す。ヒゲは四分位範囲の 1.5 倍の範囲にある数値を示す。丸は各観察日の訪花数を示す。括弧内の数字は観察回数を示す。訪花のピークの 4 時間に観察された昼夜の訪花数を比較した。年と場所のデータはプールした。訪花数は観察時間帯に影響されたが (GLM, $t = -2.933$, $p = 0.009$)、植物の性には影響されなかった ($t = 1.351$, $p = 0.192$)。

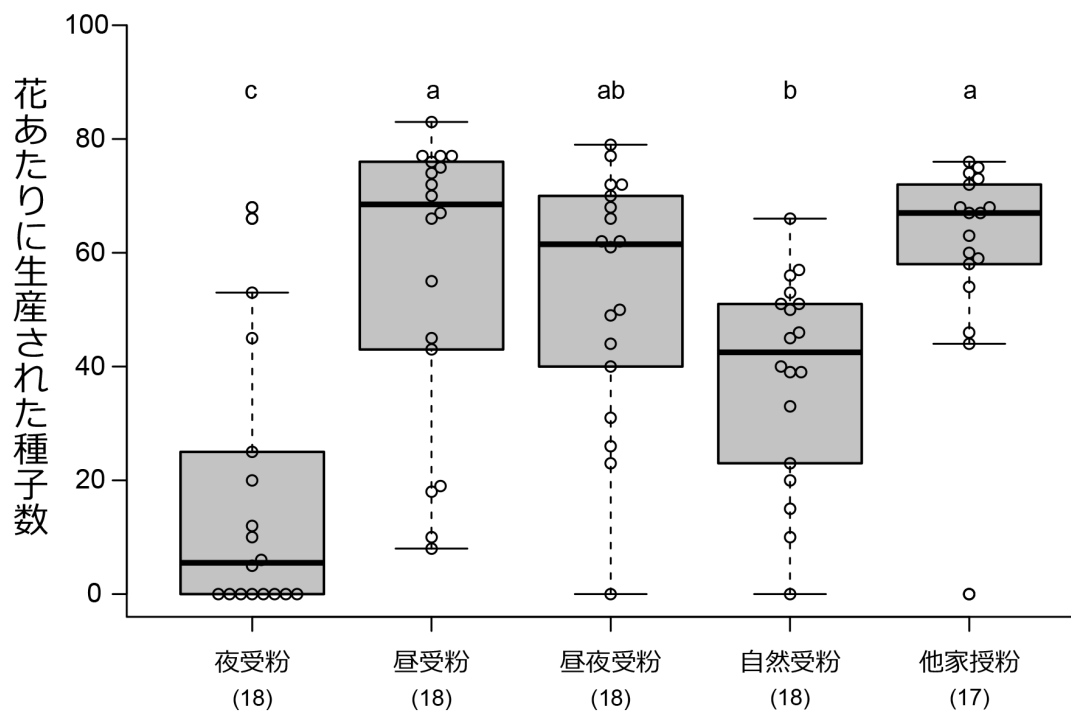


図 2-4. 花粉媒介実験の各処理における雌花あたりに生産された種子数。箱内の太い水平線は中央値を示す。箱の下端と上端はそれぞれ第一四分位数 (25%) と第三四分位数 (75%) をそれぞれ示す。ヒゲは四分位範囲の 1.5 倍の範囲にある数値を示す。丸はそれぞれの花を示す。同じアルファベットは実験処理間で有意に異なることを示す ($p > 0.05$)。実験処理：夜受粉、夜行性花粉媒介者だけに訪花されるように、1 週間の間、日の出から日没まで花に袋を被せた。昼受粉、昼行性花粉媒介者だけに訪花されるように、1 週間の間、日没から日の出まで花に袋を被せた。昼夜受粉：自然受粉と同様に、昼夜の花粉媒介者に晒した。ただし、開花の 1 週間以降から実験終了まで袋を被せることで訪花者を排除した。自然受粉：すべての花粉媒介者の訪花を受けるように袋を被せなかった。他家授粉：雄株から採集した花粉で授粉を行い、訪花者を排除するために開花期間全体で袋がけをした。括弧内の数字は花の数を示す。

表 2-1. 雄花と雌花で捕獲した訪花者に付着した花粉量。採集した年と場所はブールして示した。全ての訪花者は採集できなかったため、表には全ての訪花者グループは含まれていない。†キブシの花粉が 0 個、1-10 個、 11-100 個、101 個以上付着していた訪花者の数。

植物の性	時間帯	訪花者機能群	訪花者の数				合計
			キブシの花粉数†				
			0	1-10	11-100	101 以上	
雌	昼	ツリアブ類	0	0	1	0	1
		ハナアブ類	0	0	0	1	1
		その他ハエ類	2	0	2	3	7
		小型ハナバチ類	3	0	5	6	14
		昼の合計	5	0	8	10	23
	夜	夜行性着地訪花性ガ類	16	6	3	14	39
	夜の合計	16	6	3	14	39	
雄	昼	ツリアブ類	0	0	3	1	4
		ハナアブ類	1	0	1	5	7
		その他ハエ類	0	0	0	5	5
		真社会性ハナバチ類	0	0	0	3	3
		小型ハナバチ類	0	1	0	16	17
		昼行性のチョウ類とガ類	0	0	1	0	1
	昼の合計	1	1	5	30	37	
	夜	夜行性着地訪花性ガ類	4	1	7	11	23
	夜の合計	4	1	7	11	23	

表 2-2. キブシの花で採集された訪花者。*口吻長（平均 ± SE）を示す。†キブシの花粉が 0 個、1-10 個、11-100 個、101 個以上付着していた昆虫数。§サンプルサイズ。全ての訪花者は採集できなかったため、表には全ての訪花者グループは含まれていない。

場所	植物の性	時間帯	目	科名	訪花者機能群	学名	口吻長 (mm)*	キブシの花粉数†				n‡
								0	1-10	11-100	101 以上	
武田尾	雌	夜	鱗翅目	オドリバエ シャクガ	その他ハエ類 夜行性着地訪花性ガ類	spp.	1.1 ± 0.03	2	0	0	0	2
						<i>Cleora leucophaea</i>	9.5	0	0	0	1	1
						<i>Descoreba simplex</i>	9.7	0	0	0	1	1
						<i>Lassaba nikkonis</i>	9.4	0	0	0	1	1
						<i>Planociampa antipala</i>	8.7	0	0	0	1	1
	雄	夜	鱗翅目	ヤガ	夜行性着地訪花性ガ類	<i>Pseuderannis lomozenia</i>	5.0	0	0	0	1	1
						<i>Goniocraspidum pryeri</i>	8.7 ± 0.16	5	3	1	3	12
						<i>Perigrapha hoenei</i>	7.2	0	0	0	1	1
						<i>Melanostoma</i> sp.	0.7	1	0	0	0	1
						spp.	2.2 ± 0.16	0	0	0	3	3
芦生	雌	夜	鱗翅目	ミツバチ シャクガ	真社会性ハナバチ類 夜行性着地訪花性ガ類	<i>Apis cerana</i>	4.1	0	0	0	1	1
						<i>Lassaba nikkonis</i>	10.2	0	0	0	1	1
						<i>Planociampa modesta</i>	5.6	1	0	0	0	1
						<i>Goniocraspidum pryeri</i>	8.7 ± 0.31	0	1	3	1	5
						spp.	0.7 ± 0.03	0	0	2	3	5
	雄	夜	鱗翅目	ケバエ ツリアブ ハナアブ	その他ハエ類 ツリアブ類 ハナアブ類	<i>Bombylius major</i>	6.8	0	0	1	0	1
						<i>Criorhina</i> sp.	3.0	0	0	0	1	1
						spp.	2.8 ± 0.32	1	0	0	2	3
						<i>Ceratina japonica</i>	3.6 ± 0.36	2	0	0	0	2
						spp.	2.5 ± 0.11	0	0	5	4	9
雌	夜	鱗翅目	コハナバチ カギバガ シャクガ	夜行性着地訪花性ガ類 夜行性着地訪花性ガ類	<i>Monothyatira pryeri</i>	5.6 ± 0.02	0	0	0	2	2	
					<i>Cleora leucophaea</i>	9.1	1	0	0	0	1	
					<i>Cryptochorina amphidasyaria</i>	9.9	1	0	0	0	1	
					<i>Ectropis crepuscularia</i>	6.4	1	0	0	0	1	
					<i>Iditophria</i> sp.	3.8	1	0	0	0	1	
<i>Pachyligia dolosa</i>	10.0	1	0	0	0	1						
<i>Pseuderannis lomozenia</i>	6.6	1	0	0	0	1						

表2-2. 続き

場所	植物の性	時間帯	目	科名	訪花者機能群	種名	口吻長 (mm)*	キブシの花粉数†			n ^s		
								0	1-10	11-100		101以上	
芦生	雌	夜	鱗翅目	ヤガ	夜行性着地訪花性ガ類	<i>Cerastis pallescens</i>	7.1	1	0	0	0	1	
						<i>Clavipalpus aurariae</i>	6.9 ± 0.29	1	1	1	2	5	
						<i>Egira saxea</i>	7.2 ± 0.21	2	2	0	1	5	
						<i>Orthosia lizetta</i>	6.6 ± 0.17	1	0	1	0	2	
雄	昼	双翅目	ケバエ ツリアブ ハナアブ	その他ハエ類 ツリアブ類 ハナアブ類	spp.	0.6 ± 0.07	0	0	0	0	5		
					<i>Bombylius major</i>	6.9 ± 0.28	0	0	3	1	4		
					<i>Criorhina</i> sp.	2.9 ± 0.30	0	0	0	3	3		
					<i>Helophilus virgatus</i>	2.1	0	0	0	1	1		
					<i>Syrphus</i> sp.	1.1 ± 0.15	0	0	1	1	2		
					spp.	2.3 ± 0.21	0	1	0	7	8		
					<i>Bombus ardens</i>	11.0 ± 0.61	0	0	0	2	2		
					<i>Ceratina japonica</i>	2.3	0	0	0	1	1		
					spp.	2.3 ± 0.06	0	0	0	5	5		
					<i>Celastrina sugitanii</i>	4.5	0	0	1	0	1		
					<i>Desoreba simplex</i>	9.7 ± 0.03	0	0	1	1	2		
					<i>Idiotephria</i> sp.	3.2	1	0	0	0	1		
夜	鱗翅目	鱗翅目	ヒメハナバチ ミツバチ コハナバチ シジミチョウ シャクガ	小型ハナバチ類 真社会性ハナバチ類 小型ハナバチ類 小型ハナバチ類 昼行性のチョウ類とガ類 夜行性着地訪花性ガ類	<i>Pachyigia dolosa</i>	8.7 ± 0.88	0	0	0	2	2		
					<i>Anorthoa angustipennis</i>	6.3	0	0	1	0	1		
					<i>Cerastis pallescens</i>	5.8	0	0	0	1	1		
					<i>Clavipalpus aurariae</i>	7.3	0	0	0	1	1		
					<i>Egira saxea</i>	7.0 ± 0.14	2	0	2	2	6		
					<i>Eupsilia quadriinea</i>	7.3	0	0	0	1	1		
					<i>Panolis japonica</i>	7.0	0	0	0	1	1		
					ヤガ	夜行性着地訪花性ガ類							

第3章 ツリガネニンジン花粉媒介におけるガ類の重要性

3.1 背景

被子植物の様々なグループ間で共有される花粉媒介者と花形質の対応関係は送粉シンドロームと呼ばれている (Fenster et al. 2004, Willmer 2011)。しかし、この最近の 20 年ほどの間で、送粉シンドロームの有用性に関する論争が続けられている (Waser et al. 1996, Ollerton et al. 2009, Rosas-Guerrero et al. 2014)。なぜならば、特定のシンドロームを示す植物種の訪花者を調べると、送粉シンドロームの予測に一致しない動物が花を訪れることが多いためである (Waser et al. 1996, Hingston and McQuillan 2000, Ollerton et al. 2009)。

送粉シンドロームが予測する花粉媒介者と実際の訪花者相の間に食い違いが生じる理由は少なくとも 2 つある。まず、花を訪れる動物のグループによって花粉媒介への貢献度には違いがあり、全ての訪花者が花粉媒介に十分に貢献しているとは限らない (King et al. 2013)。花粉媒介にあまり貢献していない訪花者が花の進化に関わる場合があるが (Aigner 2001)、一般的には花粉媒介に最も貢献している訪花者が花形質の進化に大きな影響をもっていると考えられる

(Stebbins 1970, Rosas-Guerrero et al. 2014)。したがって、花形質と花粉媒介者の関連を明らかにするためには、それぞれの訪花者の花粉媒介における有効性を明らかにし、花の表現型に影響を与える花粉媒介者を特定する必要があるだろう。次に、花粉媒介者への花形質の適応は、花形態や色などの人間にとってわかりやすい形質以外にも起こるかもしれない。例えば、ハナバチ媒などの昼行性花粉媒介者と関連した送粉シンドロームにあてはまる植物種においては、花生態学の研究が昼間にだけ行われることが多い (Devoto et al. 2011, Benning 2015)。しかし、多くの花は 24 時間以上咲くため、昼行性花粉媒介者と関連した送粉シンドロームに当てはまる植物種が、夜行性花粉媒介者の訪花を受ける

ことは十分に考えられる (Baker 1961, Devoto et al. 2011)。昼行性と夜行性の花粉媒介者の両者に訪花される植物種の場合には、花形態や色よりも、開花時刻や蜜分泌量といった経時変化する花形質により明確に花粉媒介者への適応が起きるかもしれない (Miyake and Yahara 1998)。したがって、開花時刻や蜜分泌量の経時変化を調べることは、花形質と花粉媒介者の対応関係のより正確な評価につながるだろう。

本研究では、見かけ上はハナバチ媒花的な特徴をもつツリガネニンジン *Adenophora triphylla* var. *japonica* (キキョウ科) の花粉媒介様式を調べ、花形質と花粉媒介者の関係を明らかにした。ツリガネニンジンには薄い青色で釣鐘型の花をもち (Okazaki 1993)、こうした特徴をもつ花はハナバチ媒花によく見られる (Proctor et al. 1996, Roquet et al. 2008)。実際に、ツリガネニンジンにはハナバチ類とセセリチョウ類に花粉媒介されると考えられてきた (田中 1997)。しかし、近年の観察によって、ツリガネニンジンには夜間にヤガ上科、メイガ上科、シヤクガ上科などの着地訪花性ガ類に頻繁に訪花され、昼行性昆虫にはあまり訪花されないという報告もある (池ノ上 2008, 池ノ上・金井 2010)。しかし、ツリガネニンジンの花の色と花形態は典型的な着地訪花性ガ類媒花のシンドローム (入口の小さい花筒、何らかの着地場所、白あるいはクリーム色の花、甘い香り) には当てはまらない (Dobson 2006, Willmer 2011)。

本研究は、ツリガネニンジンにおいて花形質から予測される花粉媒介者と実際の訪花者の間に食い違いが生じている要因を明らかにするために、昼と夜の訪花昆虫相と、昼夜の訪花者の花粉媒介における相対的な貢献度を明らかにするための調査を行った。また、開花時刻、性期が変化する時刻、蜜分泌量の経時変化などの、見かけ上はわからない花形質の調査も行った。

3.2 材料と方法

調査対象種と調査場所

ツリガネニンジン（*Adiantum species*）は、日本、韓国、台湾、中国、シベリア東部の草地に生える多年生草本であり、7月から11月に開花する（Okazaki 1993）。ツリガネニジンは円錐花序をもつ。ツリガネニジンは両性花をもち雄性先熟である。開花前に葯はつぼみの中で裂開し、花粉を花柱に生えた毛に受け渡す。花粉が付着した花柱は、雄期の間は雄の繁殖器官として機能する。花柱の先端が開かれ柱頭が露出するまでは、花柱は花粉を受け入れない。こうしたタイプの二次的花粉表出（secondary pollen presentation）はキキョウ科において一般的である（Yeo 1993）。予備観察によれば、ツリガネニジン（*Adiantum species*）の花寿命は3～5日間である。本種は自家和合性であり、花粉媒介者が訪花しない状態でもしばしば種子を実らせる（Kenta et al. 2007）。

本研究は、筑波大学山岳科学センター菅平高原実験所（以下、菅平：36°31' N, 138°20' E、標高 1300 m）と筑波大学の筑波キャンパス構内（以下、筑波：36°06' N, 140°05' E、標高 30 m）で行った。両調査地点はおよそ 160 km 離れている。両地点は低頻度の草刈りで維持されている草地で、日本におけるツリガネニジン（*Adiantum species*）の典型的な生育環境である。

訪花者の観察

肉眼での直接観察によって訪花者の調査を行った（菅平：2013～2015、筑波：2014～2015）。1回あたりで24時間の観察（6:00～6:00あるいは18:00～18:00）を行い、1.75時間あたりで15分の休憩をとった（1回の観察あたりの合計観察時間は21時間）。観察開始時間は気象条件によって決定した。夜間の観察では、赤セロファンで覆ったLEDのヘッドライトを用いた。

それぞれの観察で、複数（3～23）の株を同時に観察し、それぞれの株にお

ける動物の訪花数を調べた。動物が株上の1つ以上の花において花に潜るか花柱に触れた場合に、1回の訪花とカウントした。日の出から日没までの観察された場合を昼間の訪花者、日没から日の出までに観察された場合を夜間の訪花者とした。ただし、ハサミムシ類は同じ花に非常に長い時間滞在していたため、潜在的な花粉媒介者としてみなさず、解析から外した。それぞれの場所と年における観察時間と観察した株数は以下である。2013年の筑波では2日間にかけて16株をのべ42時間観察した。2014年の菅平では2日間にかけて10株をのべ42時間観察した。2014年の筑波では1日間で23株を21時間観察した。2015年の菅平では1日間で3株を12時間観察した。2015年の筑波では1日間で4株を21時間観察した。2015年の菅平においては、20:00から翌朝の6:00までの間が悪天候であり夜間観察を中止したため、夜間の観察時間が短い。

訪花者の一部を2015年において両調査地点で採集し、訪花者を種、属、科レベルで同定した。

開花時刻と雌期への変化時刻

開花時刻と性期の変化を2014年に菅平で調べた。23株からその日のうちに開花しそうな任意のつぼみを1つずつ選んだ。それらのつぼみを15時から0時の間（9時間）の1時間ごとに肉眼で確認し、開花の有無を記録した。その次の2日間の15時から0時の間（9時間）でも花を1時間ごとに確認し、柱頭裂片が開いたか（雌期の開始を示す）どうかを記録した。上記の観察時間は2013年の筑波での予備観察で決定した。

蜜分泌量の経時変化

筑波（2013年）と菅平（2014年）において、開花1日目のツリガネニンジンにおいて花蜜の分泌量と糖度の時刻変化を調べた。筑波と菅平でそれぞれ27個と24個のつぼみを株あたりに1~2個選んだ。計測期間中は花をポリエチレン

製のメッシュ袋で覆い、昆虫の花への訪花を妨げた。すべての花が開花した時刻から蜜のサンプリングを行った（筑波では 20:00、菅平では 22:00）。花に蓄積された蜜量を 1 μ l あるいは 2 μ l のキャピラリーチューブを用いることで、4 時間ごとに花から蜜を採集し（花あたりに 7 サンプル）、蜜量を測定した。開花は日没前後に起きたので、最初に採集された蜜サンプルにおいて蜜が蓄積された時間にはばらつきがあり、筑波では開花から約 1 時間の蓄積量であり、菅平では開花から約 3 時間の蓄積量である。それぞれのサンプルにおいて糖度計（0–50% Brix scale; Eclipse 45–81）を用いて糖度（%, w/w）を調べ、分泌された糖量を計算した。サンプルの蜜量が少なすぎる場合には、糖度を測定することができなかった。そのようなサンプルは解析から除いた。

花粉媒介実験

2015 年の菅平と筑波の両方で行った。菅平では 17 株から 122 個のつぼみ（株あたりで 1~13 花；中央値 8 花）、筑波では 6 株から 40 花（株あたりで 2~11 個の花；中央値 6.5 花）を選んだ。それらの花において、同じ処理を同じ株で出来るだけ繰り返さないように注意し、それぞれの花において以下の 6 つの処理のうちの 1 つを行った。(1) 昼受粉：除雄（裂開した雄蕊と花柱の表面の花粉を除去）した花を日の出から日没まで、昼行性花粉媒介者だけに訪花されるようにした。(2) 夜受粉：除雄した花を日没から日の出まで、夜行性花粉媒介者だけに訪花されるようにした。(3) 他家授粉：除雄した花を他の株から採集した花粉で授粉し、袋を被せた。(4) 自家授粉：除雄した花をその花と同じ株から採集した花粉で授粉し、袋を被せた。(5) 自動自家受粉：開花前のつぼみの状態から袋を被せ、その後は処理をしなかった。(6) 自然受粉：開花期間全体で昆虫に訪花されるようにした。これらの処理は開花直前の花において開始し、花が萎れた時点で終了した。花が萎れてから 2 週間以上経過した後、対象の株から果実を回収し、果実の中の種子を数えた。また、実験に用いた株から 1 つ

の花を採集し、胚珠数を数えた。種子と胚珠の計数は実体顕微鏡下で行った。

統計解析

株あたりの昼間と夜間の昆虫の訪花数を比較するために、以下の一般化線形混合モデル（以下 GLMM）を用いた解析を行った。GLMM では、誤差分布を負の二項分布、リンク関数を対数、応答変数を株あたりの訪花数、固定効果を時間（昼／夜）、変量効果を植物の個体とした。

結実した種子の割合を 6 つの処理間で GLMM を用いて比較した。GLMM では、誤差分布をポアソン分布、リンク関数を対数、果実当たりの種子数を応答変数、固定効果を授粉実験処理、変量効果を調査場所と植物個体とした。花当たりの胚珠数はオフセット項とした。データの図示においては、marginal

(model-adjusted) means and SE を R 上の lsmeans パッケージで推定した (Lenth 2016)。平均値の間での違いを評価するために、ペアワイズ対比解析 (pair-wise contrast analysis) を用いて事後検定した (Lenth 2016)。P 値は Benjamini-Hochberg 法 (FDR 法) を用いて補正した。

解析は R を用いた。すべての解析には R version 3.3.2 (R Core Team 2016) を用いた。

3.3 結果

昼夜の昆虫の訪問頻度

ツリガネニンジンには昼行性と夜行性昆虫の両者が訪花していた (図 3-1, 表 3-1, 3-2)。筑波では全ての年において昼行性昆虫の訪花数は夜行性昆虫の訪花数で有意な差がなかった (2013: $p = 0.97$, 2014: $p = 0.25$, 2015: $p = 0.92$)。一方で、菅平では昼行性昆虫の訪花数は夜行性昆虫の訪花数よりも多かった (2014: $\beta = 0.81$, $p < 0.0001$; 2015: $\beta = 2.44$, $p < 0.0001$)。

昼間の訪花者

ハナアブ、ハナアブではない双翅目、チョウ類、着地訪花性ガ類、スズメガ類、ハナバチ類、アリ類、ハサミムシが昼間に訪花していた（表 3-1, 3-3）。ハナアブ類は年と場所に関わらず最も多くかつ安定した昼行性の訪花者だった（表 3-1）。ハナアブ類は花粉を食べるため、雄期の花を訪れる傾向があった。ハナアブ類は花柱にしがみつ、花柱の表面に付着した花粉を摂食していた（図 3-1B）。ハナアブ類は雌期の花を訪れることもあり、柱頭裂片の表面を舐めることがあった。チョウ類（ほとんどはセセリチョウ類）は安定した訪花者ではなく、一部の年で多かった（表 3-1）。ハナバチ類（ミツバチ科、コハナバチ科、ハキリバチ科）の訪花は少なかった（表 3-1）。チョウ類とハナバチ類は蜜を求めて花を訪れていた（図 3-1A, C）。シロモンノメイガ *Bocchoris inspersalis* は 2015 年の筑波において昼間に花を訪れているのを頻繁に観察した（図 3-1D）。

夜間の訪花者

ツリガネニンジンにおける夜間の訪花者のほとんどは夜行性の着地訪花性ガ類であった。これらの着地訪花性ガ類は主にヤガ科、メイガ科、ツトガ科であり、シャクガ科の訪花は 1 回のみ観察された（表 3-2, 3-3）。これらの夜行性ガ類は日没後から 1~2 時間の間に最も頻繁に訪花した（図 3-2）。その他の夜間に訪花した昆虫は、ハナアブ類、その他ハエ類、スズメガ類、ハサミムシ類だった。ホウジャク類 (*Macroglossum* sp. と *Neogurelca* sp.) は日没直後と日出直前にツリガネニンジンに訪花した。

ツリガネニンジンに訪花した着地訪花性ガ類の訪花行動は分類群によって異なっていた。ヤガ科は蜜を吸うために頭部を花冠に突っ込み、反り返った花冠裂片、花冠の内壁、花柱を足場としていた（図 3-1F）。ヤガ類は羽ばたきながら着花し、花や株間も頻繁に移動していた。メイガ科とツトガ科は花冠に潜り込み、羽ばたかずに蜜を採餌した（図 3-1D, E）。メイガ科とツトガ科は、ヤガ科よ

りも花や株間の移動頻度は少なかった。

開花と性期変化の時刻

ツリガネニンジンでは夕方に咲き、調査を行った 70%の花が 18 時から 19 時の間に開花した (図 3-3)。雌期の開始 (柱頭裂片の裂開で示される) は、主に夕方から 21 時の間に起きた (図 3-4)。観察した花のうちの 1 個は開花後に食害によって失われた。調べた花の 3 分の 2 (22 個のうちの 15 個) は開花後 24 時間以内に雌期に変化したが、残りの花 (22 個のうちの 7 個) は開花後 24 時間以上たってから雌期に変化した。雄期は 1~2 日で、雌期は 2~3 日であり、開花期間は 3~5 日だった。

蜜分泌量の時間変化

2013 年の筑波では、ツリガネニンジンの花が分泌した糖量のピークは 20 時から 0 時の間だった (図 3-5; $\text{mean} \pm \text{SE} = 0.13 \pm 0.03 \text{ mg}$, $n = 26$)。その時に分泌された蜜量は $1.06 \pm 0.22 \mu\text{l}$ ($n = 26$) であり、その蜜の糖度は $12.0 \pm 1.49\%$ ($n = 26$) だった。

同様に 2014 年の菅平でも夜間に蜜分泌のピークがあり、昼間にはごくわずかの蜜しか分泌されていなかった (図 3-5)。蜜分泌は開花初日の夜から始まり、その後の朝と午後には蜜はほとんど分泌されなかった。次の夜が始まると蜜分泌が再開し、蜜分泌のピークは 18 時から 22 時の間だった ($0.11 \pm 0.01 \text{ mg}$, $n = 23$)。この時の蜜量は $0.62 \pm 0.06 \mu\text{l}$ ($n = 23$) であり、糖度は $18.0 \pm 1.31\%$ だった ($n = 23$)。

花粉媒介実験

昼受粉における胚珠当たりの種子生産の周辺平均比 (marginal mean rate) は夜受粉のその 5 分の 1 以下だった ($p < 0.0001$; 図 3-6)。夜受粉は自然受粉と自

自家授粉よりも高い胚珠当たりの種子の生産率を示したが ($p < 0.0001$)、他家授粉よりも低かった ($p < 0.0001$)。一方で、昼受粉の花は、全く訪花者に晒さなかった花を除き (自動自家授粉、 $p = 0.072$)、他の全ての処理よりも低い胚珠当たりの種子の生産率を示した ($p < 0.0001$)。オフセット項にもちいた花当たりの胚珠数は、平均して菅平で 136.2 ± 10.5 ($n = 17$) であり、筑波では 96.0 ± 11.5 ($n = 6$) だった。

3.4 考察

花粉媒介における昼と夜の訪花者の貢献

昼夜の訪花者の頻度は筑波では同程度であり、菅平では夜間が低かった (表 3-1, 3-2)。しかし、花粉媒介実験の結果はツリガネニンジンの主要な花粉媒介者は夜行性の着地訪花性ガ類であることを示していた (図 3-6)。少なくとも2つの要因が、昼と夜の花粉媒介における違いに寄与していると考えられる。まず、ツリガネニンジンの花形態が、訪花者グループごとの花粉媒介効率の違いを引き起こしている可能性がある。雌雄両者の繁殖器官として働くツリガネニンジンの花柱は花冠よりも飛び出しているため、訪花時に花粉媒介が起きるかどうかは、訪花者がどのように花上で採餌するかで決まる。着地訪花性ガ類、特にヤガ類は、着花時に常に羽ばたいているため伸びた花柱に体を預ける (図 3-1)。こうした行動はガ類の腹面と花柱の接触につながると考えられる。一方で、ハナアブ類やセセリチョウ類などの昼行性の訪花者は、花冠の縁や花柱の先端につかまるため、花柱のわずかな部分しか彼らの体に触れない。ツリガネニンジンの突出した花柱と釣鐘状の花冠は、着地訪花性ガ類による効率的な花粉媒介を促進している可能性が高い。着地訪花性ガ類に花粉媒介される釣鐘状の花をもつ他の植物種においてもこうした突出した繁殖器官は知られている (Liu and Huang 2013, Van der Niet et al. 2014)。したがって、これらの花の特徴は着地訪花

性ガ類による花粉媒介に対する収斂の結果生じたのかもしれない。今後の研究で、昼夜の訪花者における一回訪花当たりの花粉媒介効率の比較や、花形態の花粉媒介効率における影響を調べる必要がある。

次に、ハナバチ類やハナアブ類は花粉を摂食するが、着地訪花性ガ類は花粉を摂食することや体表に付着した花粉を積極的に除去しない (Gilbert 1981, Miyake and Yahara 1998, Koch et al. 2017, Tong and Huang 2018)。体表に付着した花粉を再度利用するハナバチ類やハナアブ類では、花粉媒介に貢献しない花粉の消費が多いかもしれない (Hargreaves et al. 2009)。したがって、ハナバチ類やハナアブ類と比べて、ガ類は効率的な花粉媒介者である可能性がある (Miyake and Yahara 1998, 1999)。加えて、ハナアブ類が雌期の花の柱頭表面を舐めている行動がしばしば観察された。この行動は、柱頭にすでに付着している花粉を食べることや、柱頭表面に何らかの損害を与えることで、結実率の低下をもたらす可能性がある。このハナアブ類の行動は、自然受粉の花が夜受粉の花よりも低い胚珠当たりの種子生産率を示した要因の一つかもしれない。ただし、この結実率の低下は他の未知な要因、例えば植物側の中絶でも説明できるかもしれない。

花の見かけと訪花者の不一致

ツリガネニンジンの花の見かけ上の特徴は、従来ガ媒のシンドロームと全く一致しないにもかかわらず、着地訪花性ガ類に花粉媒介されていた。さらに、ツリガネニンジンにおいて、時間と関連した3つの形質（開花時刻、雌期の開始時刻、蜜分泌量）の経時変化は、着地訪花性ガ類の薄暮・夜間の活動時間と一致していた (図 3-3, 3-4, 3-5)。本研究の結果は、花の色と形態にのみ基づく花粉媒介者の予測が必ずしも正しくないことを示唆する。一般に、ハナバチ類以外の訪花昆虫類は、釣鐘状花のような下向きの花に着地して採餌することが難しいと考えられてきた (Ushimaru and Hyodo 2005, Wang et al. 2014)。実際に釣鐘

状花はハナバチ媒花によく見られる (Proctor et al. 1996, Roquet et al. 2008, Willmer 2011)。しかし、着地訪花性ガ類は下向きの花から排除されにくい可能性があり、釣鐘状花において有効な花粉媒介者として機能する可能性が高い。なぜならば、ツリガネニンジンでの観察と同様に、着地訪花性ガ類は複数種の下向きの花を訪花することが報告されているからだ (Liu and Huang 2013, Van der Niet et al. 2014, Benning 2015)。実際に、着地訪花性ガ類は花の向きに好みを示さないことが報告されている (Yu et al. 2021)。

また、全てのガ媒花の色が白やクリーム色であるとは限らない。白色の花は光を幅広い波長で反射するため、薄暮や夜間における光条件の変動下においても、色付きの花よりも高く安定した無彩色コントラスト (achromatic contrast) を示す (Johnsen et al. 2006)。しかし、色覚は夜行性昆虫において一般的であり (Warrant and Dacke 2011)、いくつかの夜行性ガ類は青色への生得的な好みを示す (Goyret et al. 2008, Satoh et al. 2016)。スズメガ類に花粉媒介される植物は白色やクリーム色が多いのに対して、着地訪花性ガ類に花粉媒介される花は比較的幅広い花色を示すことも指摘されている (Willmer 2011)。着地訪花性ガ類とスズメガ類が花色におよぼす選択圧は異なるのかもしれない (Peter and Venter 2017)。

着地訪花性ガ類を誘引する上で甘い香りは必須ではないのかもしれない。実際に、着地訪花性ガ類は強い甘い香りを放たない様々な植物種を訪花することが知られている (池ノ上・金井 2010, Atwater 2013, Walton et al. 2020)。また、着地訪花性ガ類はスズメガ類よりも幅広い香りに反応する (Brantjes 1978)。ツリガネニンジンの花はガ媒花に典型的な甘い香りを放たないが、人間には感知することができない香り成分がガ類の誘引に関わっている可能性がある。今後の研究で、ツリガネニンジンの香り成分が着地訪花性ガ類の誘引において果たしている役割を明らかにする必要がある。

本研究は、花の特徴からの予測と実際の訪花者が食い違うという、送粉シン

ドロームに関わる議論に対して一つの解答をもたらすかもしれない。本研究の結果は、訪花者グループごとの花粉媒介への貢献度の評価と時刻に関わる花形質を調査することが、この食い違いを解消する上で貢献することを示した。夜行性ガ類は従来考えられてきたよりも幅広い花を訪花する可能性がある。今後の研究によってこれまで見過ごされてきたガ媒花や、昼夜の昆虫の両者を誘引するジェネラリストの花が見つかるかもしれない。24時間以上咲く花における夜間調査が今後必要だと考えられる。



図 3-1. ツリガネニンジンの訪花者。A: 吸蜜するイチモンジセセリ *Parnara guttata*, B: 花粉を食べるホソヒラタアブ *Episyrphus balteatus*, C: 吸蜜するオオマルハナバチ *Bombus hypocrita*, D: 吸蜜するシロモンノメイガ *Bocchoris inspersalis*, E: 吸蜜するマメノメイガ *Maruca vitrata*, F: 吸蜜するマダラウワバ属の一種 *Abrostola* sp. (A~D は昼間の訪花者、E と F は夜間の訪花者)。

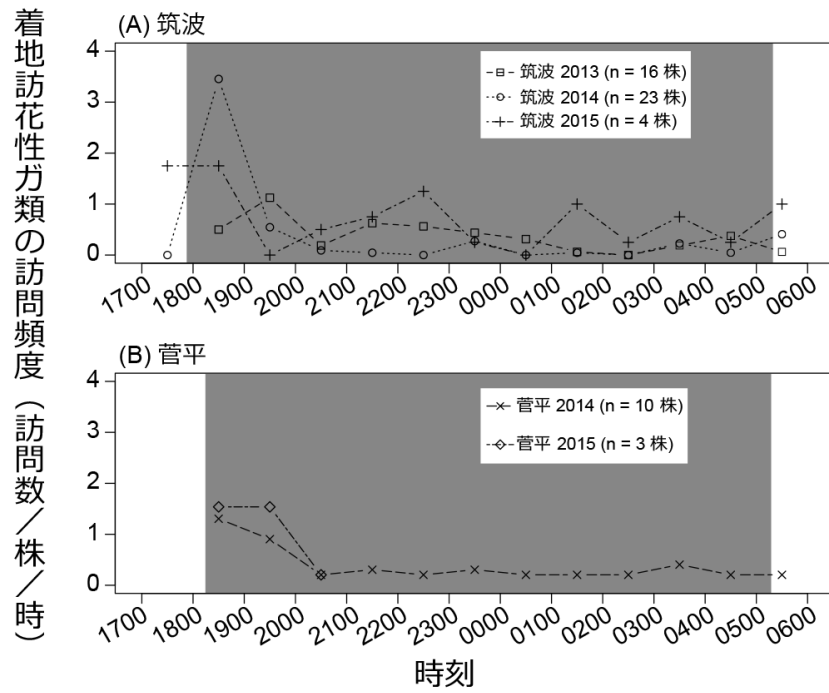


図3-2. 夜行性の着地訪花性ガ類の一時間ごとの訪問頻度。(A) 筑波、(B) 菅平。平均値を示す。悪天候によって20時に観察を終了した2015年の菅平を除き、日没から日の出までのデータを示す。灰色の領域はおよその夜間の時間帯を示す。日の出と日没の時刻が観察場所と観察日によって異なるため、それぞれの観察において観察を行った時間は異なる。

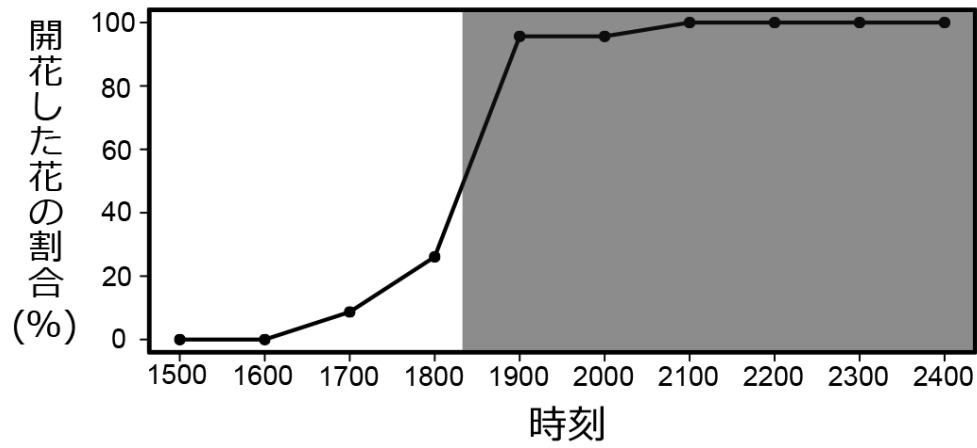


図 3-3. ツリガネニンジンの花の開花時刻。花 23 個の割合変化を示す。菅平の 2014 年におけるデータで作図。灰色の領域は夜の時間帯を示す。

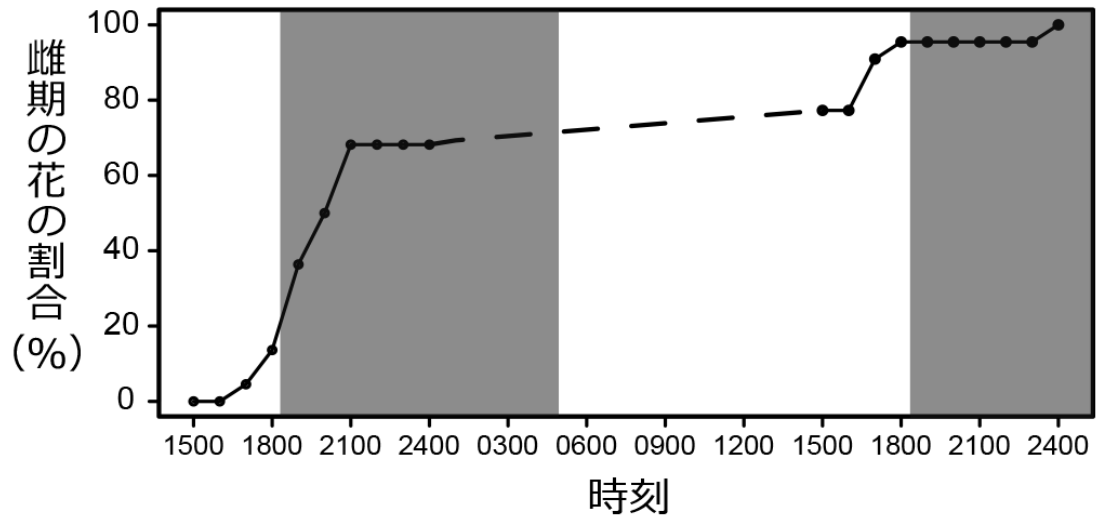


図 3-4. ツリガネニンジンの花における雄期から雌期への性期の変化時刻。開花時刻を調べた 23 個の花を継続して観察したが、一つの花は被食によって失われた。菅平の 2014 年におけるデータで作図。破線の時間帯は観察を行っていない。灰色の領域は夜の時間帯を示す。

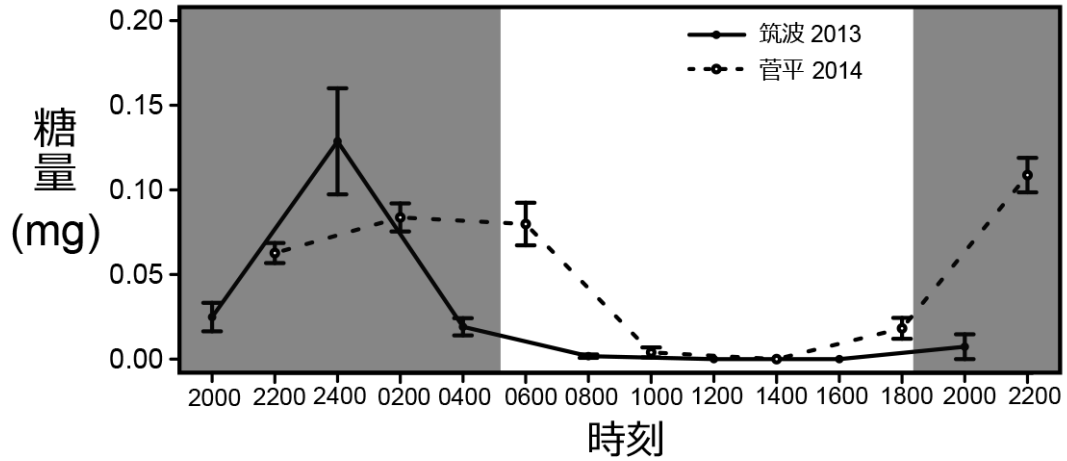


図3-5. 花当たりの蜜分泌量の経時変化。4時間ごとに花から分泌された糖量(mg)の平均±SEを示す。実線と黒丸は2013年の筑波の27個の花のデータ、破線と白丸は2014年の菅平の24個の花のデータを示す。灰色の領域はおよその夜間の時間帯を示す。花ごとに開花時刻が異なるため、最初のサンプルではサンプルごとに蜜の蓄積時間が異なることに注意。

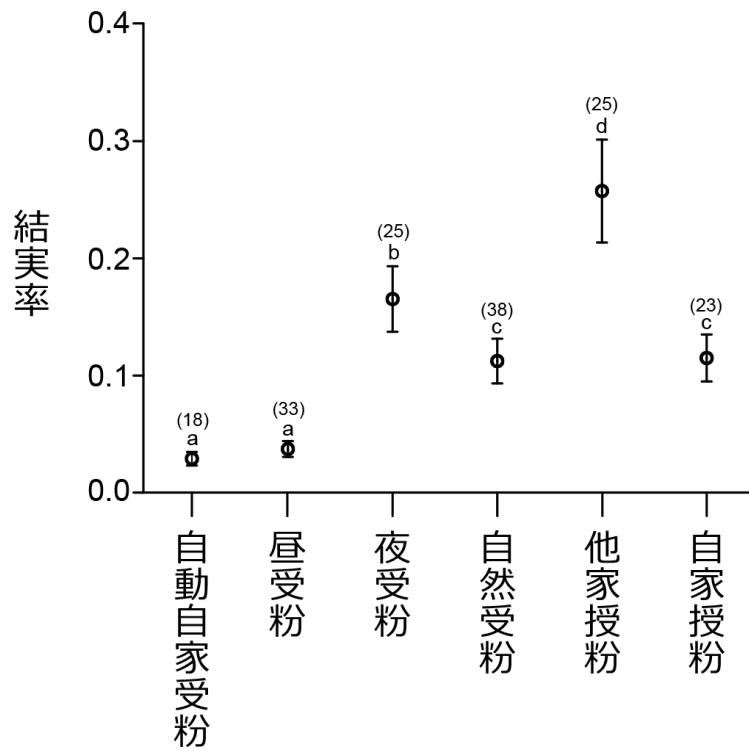


図 3-6. 実験処理ごとの花当たりの結実率。菅平における 2015 年のデータと筑波における 2015 年のデータを合わせている。推定周辺平均 \pm SE [Marginal (model-adjusted) mean \pm SE]を示す。括弧内の数字はサンプルサイズを示す。同じアルファベットが付いた平均値は有意に異なる ($p > 0.05$)。

表3-1-1. ツリガネニンジンにおける昼行性訪花者の訪問頻度。平均±SEを示した。主要な訪花者グループを太字で示した。それぞれの主要な訪花者グループにおいて、全訪花数当たりの訪花数の百分率を括弧内に示した。表の一番下に株あたりの訪問頻度と全訪花数を太字で示した。

訪花者	訪問頻度(訪問数/株/日) 平均 ± SE				
	2013 (16 株を観察)	2014 (23 株を観察)	2015 (4 株を観察)	2014 (10 株を観察)	2015 (3 株を観察)
鱗翅目					
着地訪花性ガ類	0.06 ± 0.06 (1%)	0.13 ± 0.08 (3%)	3.00 ± 1.41 (27%)	0.30 ± 0.22 (2%)	0
ヤガ科	0	0	0	0.10 ± 0.11	0
メイガ上科	0.06 ± 0.06	0.13 ± 0.08	3.00 ± 1.41	0.20 ± 0.14	0
スズメガ科	0	0	1.50 ± 1.00 (13%)	0.10 ± 0.11 (1%)	0
チョウ類	1.75 ± 0.51 (39%)	0.30 ± 0.12 (7%)	0.50 ± 0.58 (4%)	0.80 ± 0.54 (4%)	10.67 ± 6.79 (35%)
双翅目					
ハナアブ科	1.25 ± 0.29 (28%)	3.13 ± 0.49 (73%)	4.00 ± 1.70 (36%)	9.40 ± 2.21 (56%)	9.67 ± 3.89 (32%)
ハナアブ以外のハエ類	0	0	0	2.20 ± 0.73 (13%)	6.33 ± 4.14 (20%)
膜翅目					
ハナバチ類	0.69 ± 0.40 (15%)	0.52 ± 0.16 (12%)	1.50 ± 0.58 (13%)	4.10 ± 1.29 (24%)	4.00 ± 2.86 (13%)
マルハナバチ属	0	0	0	2.20 ± 0.56	2.00 ± 1.22
ハキリバチ科	0.63 ± 0.34	0	0	0	0
小型ハナバチ類 ¹	0.06 ± 0.06	0.52 ± 0.16	1.50 ± 0.58	1.90 ± 1.10	2.00 ± 1.87
狩りバチ類	0.63 ± 0.25 (14%)	0.17 ± 0.08 (4%)	0.25 ± 0.29 (2%)	0	0.33 ± 0.41 (1%)
ツチバチ科	0.44 ± 0.19	0.17 ± 0.08	0	0	0
ドロバチ科	0.13 ± 0.09	0	0.25 ± 0.29	0	0
スズメバチ科	0	0	0	0	0
その他	0.06 ± 0.06	0	0	0	0
アリ科	0.06 ± 0.06 (1%)	0	0.25 ± 0.29 (2%)	0	0
甲虫目					
ハナムグリ亜科	0	0	0.25 ± 0.29 (2%)	0	0
総計	4.44 ± 0.76 (71)	4.26 ± 0.67 (98)	11.25 ± 4.58 (45)	16.80 ± 4.21 (168)	30.67 ± 16.98 (92)

¹ 小型ハナバチ類はコハナバチ科とツチバチ科を含む。

表 3-2. ツリガネニンジンにおける夜行性訪花者の訪問頻度。平均±SEを示した。主要な訪花者グループを太字で示した。それぞれの主要な訪花者グループにおいて、全訪花数当たりの訪花数の百分率を括弧内に示した。表の一番下に株あたりの訪問頻度と全訪花数を太字で示した。

訪花者	筑波				平均 ±SE
	2013 (16 株を観察)	2014 (23 株を観察)	2015 (4 株を観察)	2015 (10 株を観察)	
鱗翅目					
着地訪花性ガ科	4.38 ± 1.77 (97%)	4.61 ± 0.64 (92%)	10.00 ± 6.34 (85%)	7.40 ± 1.70 (99%)	2.67 ± 1.47 (100%)
ヤガ科	0.56 ± 0.28	3.91 ± 0.61	7.50 ± 4.23	5.30 ± 1.27	2.67 ± 1.47
メイガ上科	3.81 ± 1.58	0.65 ± 0.19	2.50 ± 1.37	2.10 ± 0.74	0
シヤクガ科	0	0.04 ± 0.05	0	0	0
スズメガ科	0	0.35 ± 0.11 (7%)	1.75 ± 1.36 (15%)	0.10 ± 0.11 (1%)	0
双翅目					
ハナアブ科	0.06 ± 0.06 (1%)	0.04 ± 0.05 (1%)	0	0	0
膜翅目					
ハナバチ類	0.06 ± 0.06 (1%)	0	0	0	0
小型ハナバチ類 ¹	0.06 ± 0.06	0	0	0	0
総計	4.50 ± 1.81 (72)	5.00 ± 0.70 (115)	11.75 ± 6.77 (47)	7.50 ± 1.83 (75)	2.67 ± 1.47 (8)

¹ 小型ハナバチ類はコハナバチ科とツヤハナバチ属を含む。

表 3-3. 2015 年にツリガネニンジンの花において採集された昆虫のリスト。

場所	訪花者グループ	科	和名	学名	採集時間帯
菅平	着地訪花性ガ類	ヤガ科	タマナキウワバ	<i>Autographa nigrisigna</i>	夜
		ヤガ科	ウスエグリバ	<i>Calyptra thalictri</i>	夜
		ヤガ科	ギンモンシロウワバ	<i>Macdunnoughia purissima</i>	夜
		ヤガ科	シヨウブヨトウ	<i>Amphipoea ussuriensis</i>	夜
		ヤガ科	キクキンウワバ	<i>Thysanoplusia intermixta</i>	夜
		ツトガ科	マエアカスカシノメイガ	<i>Palpita nigropunctalis</i>	夜
	チョウ類	タテハチョウ科	ミドリヒョウモン	<i>Argynnis paphia</i>	昼
		セセリチョウ科	イチモンジセセリ	<i>Parnara guttata</i>	昼
	ハナアブ類	ハナアブ科	ホソヒラタアブ	<i>Episyphus balteatus</i>	昼
		ハナアブ科	オビホソヒラタアブ	<i>Meliscaeva cinctella</i>	昼
		ハナアブ科	ハナダカハナアブ	<i>Rhingia laevigata</i>	昼
		ハナアブ科	ヒラタアブ属 sp.	<i>Syrphus</i> sp.	昼
		不明	有弁類 sp.	<i>Calypteratae</i> sp.	昼
ハナバチ類	ミツバチ科	オオマルハナバチ	<i>Bombus hypocrita hypocrita</i>	昼	
	ミツバチ科	ミヤママルハナバチ	<i>Bombus honshuensis</i>	昼	
	コハナバチ科	コハナバチ属 sp1.	<i>LasioGLOSSUM</i> sp1.	昼	
	コハナバチ科	コハナバチ属 sp2.	<i>LasioGLOSSUM</i> sp2.	昼	
狩りバチ類	スズメバチ科	キオビホオナガスズメバチ	<i>Dolichovespula media sugare</i>	昼	
	スズメバチ科	キイロスズメバチ	<i>Vespa similima xanthoptera</i>	昼	
	スズメバチ科	クロスズメバチ属 sp.	<i>Vespula</i> sp.	昼	
ハサミムシ類	クギヌキハサミムシ科	キバネハサミムシ	<i>Forficula mikado</i>	昼	
	ヤガ科	キクキンウワバ	<i>Thysanoplusia intermixta</i>	夜	
筑波	ヤガ科	ギンモンシロウワバ	<i>Macdunnoughia purissima</i>	夜	
	ツトガ科	クロモンキノメイガ	<i>Udea ferrugalis</i>	夜	
スズメガ類	スズメガ科	ホシホウジャク	<i>Macroglossum pyrrhosticta</i>	昼	
ハナアブ類	ハナアブ科	ホソヒラタアブ	<i>Episyphus balteatus</i>	昼	

第4章 ヒナシャジンの花粉媒介におけるガ類の重要性

4.1 背景

花粉媒介者の体表上に花粉が付着する部位と花形態の間には関連があり、花粉媒介者の体表上の特定部位に花粉を付着させることは、花粉媒介の効率化につながると考えられている (Faegri and van der Pijl 1971, Minnaar et al. 2019)。ガ媒花の多くは細長い花をもつ (Willmer 2011)。ガ類が細長い花から蜜を吸う際に、ガの頭部が植物の繁殖器官 (雄しべ・雌しべ) に押し付けられることで花粉媒介が起きる (Darwin 1862, Johnson and Anderson 2010)。実際に多くのガ媒花において、花粉が頭部に付着する (Johnson and Edwards 2000, Willmer 2011)。しかし、いくつかの植物種において、夜行性ガ類の腹面に植物の繁殖器官が接触し、夜行性ガ類の腹面に主に花粉が付着することが知られている (Miller et al. 2014, Van der Niet et al. 2014, Johnson and Raguso 2016)。したがって、夜行性ガ類において腹面に花粉が付着する事例は、これまで考えられてきたよりも普遍的な可能性がある。しかし、夜行性ガ類において、体表上の花粉の付着部位を詳細に調べた研究は少ない。したがって、どのような花形態がガ類の腹面への花粉の付着と関連しているかはよくわかっていない。

着地訪花性ガ類に花粉媒介される植物において、腹面を介して花粉媒介が起きていると考えられる事例がいくつかの植物種で報告されている。例えば、着地訪花性ガ類に花粉媒介されるキキョウ科ツリガネニンジン属 *Adenophora* やツジ科 *Erica* 属において、植物の繁殖器官が着地訪花性ガ類の腹面に接触することが知られている (3章, Liu and Huang 2013, Van der Niet et al. 2014)。これらの植物種は、下向きの花、釣鐘状の花冠、花冠から突出した繁殖器官という共通した花の形態的特徴をもつ (3章, Liu and Huang 2013, Van der Niet et al. 2014)。したがって、この花形態は着地訪花性ガ類による腹面を介した花粉媒介を促進

するのかもしれない。しかし、これらの植物種において着地訪花性ガ類の体表上の花粉付着部位は詳細に調査されてこなかった。

本研究では、ヒナシャジン *Adenophora maximowicziana* (キキョウ科) において花形態と花粉付着部位の関連を明らかにするための調査を行った。ヒナシャジンは下向きの花、釣鐘状の花冠、花冠から突出した花柱をもつ (図 4-1A)。ヒナシャジンの花粉媒介者は明らかでないが、ヒナシャジンの花形態の特徴は着地訪花性ガ類に花粉媒介されるツリガネニンジン属の他種と類似している (3 章, Liu and Huang 2013)。したがって、ヒナシャジンの花粉媒介者は着地訪花性ガ類である可能性がある。本研究では以下の問いに答えるための調査を行った。(1) 着地訪花性ガ類はヒナシャジンの重要な花粉媒介者か。(2) ヒナシャジンの花形質は着地訪花性ガ類に対して適応しているか。(3) ヒナシャジンの花粉は着地訪花性ガ類の腹面に特異的に付着しているか。

4.2 材料と方法

調査対象種と場所

ヒナシャジンは日本固有種であり、四国の石灰岩地域の森林の林床に生育する (図 4-1A, Okazaki 1993)。ヒナシャジンの花は白く、人間には香りは感じられない。ヒナシャジンの花はツリガネニンジンと同様に両性花をもち、雄性先熟である。また、つぼみの時期に雄蕊の葯から花柱の表面にある毛に受け渡されるといふ、キキョウ科に典型的な特徴である二次的花粉表出 (secondary pollen presentation) を示す (Yeo 1993)。花粉は雄期の間には花粉媒介者に提示され、雌期には柱頭が露出し、花粉を受け取ることができるようになる (Yeo 1993)。本研究は高知県津野町の標高約 1300m の落葉広葉樹林で 2016 年と 2017 年に行った。調査地ではヒナシャジンは 9 月に開花する。

花粉媒介者に対する花形質の適応

花筒長、花冠の入り口の直径、花柱長を 16 株から選択した 16 個の雄期の花において 2017 年 9 月に調べた。

蜜分泌量の経時変化を調べるために、11 株から選択した 11 個の開花初日の花において蜜を採集した。蜜は 22:00 から翌日の 22:00 まで 4 時間ごとに 7 回、同じ花から繰り返し採集した。動物による訪花を妨げるために、蜜の採集期間中はポリエチレン製のメッシュ袋を花に被せた。蜜の採集には 2 μ l のキャピラリーチューブ (minicaps®, Hirschmann-Laborgeräte, Eberstadt, Germany) を用いた。蜜の糖度を携行用糖度計 (0%–50% Brix scale; Eclipse 45-81, Bellingham and Stanley, Kent, UK) によって調べた。蜜の糖度と蜜量をもとに、それぞれの蜜サンプルに含まれる糖量を計算した。

開花時間と、雄期から雌期に変化する時間を 2017 年に調べた。4 株をタイムラプス撮影機能付きのデジタルカメラ (Optio W90, Pentax, Tokyo) で撮影した。撮影は 30 分ごとに行った。カメラのフラッシュ部分を緑色フィルター

(CSR-2084、日本パール加工、大阪、日本) とスモークフィルム (FG2063、ワールドウィンドウ、神戸、日本) で覆うことで、植物へのフラッシュ光の影響を低下させた (大橋一晴、私信)。タイムラプス撮影は、それぞれの株において 69~158 時間行った (平均 \pm SE: 130 \pm 20 時間)。パソコン画面上で撮影された画像を確認することで、開花と柱頭の露出の時刻を調べた。

訪花者相と訪花者への花粉の付着

訪花者の観察を 2016 年と 2017 年の 9 月上~中旬に行った。それぞれの観察回において 1~4 株を任意に選び、その株から約 1m 離れ、定点的に訪花者の観察を行った。花上で見つかった動物のうち、花の繁殖器官に触れたものを訪花者とみなした。昼間の観察は 2016 年には 6:00~12:00 あるいは 12:00~18:00 に行い、2017 年には 8:00~12:00 あるいは 13:00~17:00 に行った。2016 年の観察

において、昼行性の訪花者の活動性は日中を通してあまり変わらなかったため、2017年には早朝の観察は行わなかった。夜間観察は、日没後の1~3時間行った（開始時刻：18:18~18:30）。初期の観察から、夜行性昆虫類の訪花のほとんどは日没直後に起きることが分かったため、夜間観察は主に日没後の1時間で行った。夜間観察は、赤外線暗視機能付き双眼鏡（Armasight Ninox Gen.11, Armasight, San Francisco）あるいは弱い光の赤色セロファンを装着した懐中電灯の補助のもとで行った。訪花者の観察は、2016年には18時間（昼間は2日にかけてのべ12時間、夜間は2日にかけてのべ6時間）、2017年には32.5時間（昼間は4日かけてのべ20時間、夜間は9日かけてのべ12.5時間）行った。

訪花者の同定と体表花粉付着の確認のために、捕虫網をもちいて訪花者の一部を採集した。訪花者の訪問頻度が低かったため、上記の定点的な訪花者観察以外で確認された訪花者も採集した。採集された訪花者は、酢酸エチルを入れたプラスチック製のバイアルに個別に入れて固定した。固定した訪花者は三角紙に個別に保管した。訪花者は以下の文献を用いて種あるいは属まで同定した：ガ類（岸田ら 2011a, 岸田ら 2011b, 有田ら 2013）、ハナアブ類（大石 1996, 市毛 2009, 竹内 2009）、ハナバチ類（多田内ら 2014）。

採集した訪花者に付着した花粉を双眼実態顕微鏡で数えた。花粉が体表上で塊になっている場合は、ピンセットでスライドグラス上に移して数えた。ヒナシャジンの花粉は同時に開花していた他の植物種の花粉と区別可能だった。訪花者の体表を14ヶ所に区分、つまり（1）口吻、（2）頭部背面、（3）頭部腹面、（4）胸部前部背面、（5）胸部前部腹面、（6）胸部後部背面、（7）胸部後部腹面、（8）脚部、（9）翅背面、（10）翅腹面、（11）腹部前部背面、（12）腹部前部腹面、（13）腹部後部背面、（14）腹部後部腹面ごとに付着した花粉を数えた。

花粉媒介実験

ヒナシャジンの繁殖様式と花粉媒介における昼間と夜間の訪花者の相対的な

貢献度を明らかにするために、2017年の9月に、17株から選択した88個の花を対象に6つの処理を行った。(1) 昼受粉：夜間の訪花者を排除するために、除雄した花に夜間に袋を被せた。(2) 夜受粉：昼間の訪花者を排除するために、除雄した花に昼間に袋を被せた。(3) 自然受粉：処理を行わなかった。(4) 自家授粉：除雄した花をその花と同じ株由来の花粉で授粉した。(5) 他家授粉：除雄した花を異なる株由来の花粉で授粉した。(6) 自動自家受粉：開花前から袋をかぶせ、すべての訪花者を排除した。ティッシュペーパーで花柱表面の花粉を除去することで除雄した。袋がけにはポリエチレン製のメッシュ袋をもちいた。実験は雄期から始め、花がしおれた時点で終了した。実験から約3週間後に果実を回収し、双眼実態顕微鏡下で解剖することで、果実当たりの種子数を計測した。88個の果実のうち、26個の果実はタマバエ科幼虫による食害を受けたため、解析から除いた。最終的に各処理間において種子数を数えた果実数は以下だった：昼受粉 ($n=8$)、夜受粉 ($n=9$)、自然受粉 ($n=12$)、自家授粉 ($n=10$)、他家授粉 ($n=14$)、自動自家受粉 ($n=9$)。

果実あたりに生産された種子数を処理間で比較した。解析には一般化線形混合モデル (GLMM) を用いた (誤差分布：負の二項分布、リンク関数：ログ、説明変数：実験処理の種類、応答変数：果実当たりの種子数、ランダム効果：個体)。処理間でのペアワイズ比較を行った。例えば、夜受粉と昼受粉の間で比較を行った。夜受粉、昼受粉、自然受粉の3種類の処理のそれぞれの処理間でのペアワイズ比較、または自家授粉、他家授粉、自動自家受粉の3種類の処理のそれぞれの処理間でのペアワイズ比較を行った。多重比較における p 値の補正には Benjamini-Hochberg 法を用いた (false discovery rate-controlling procedures) (Benjamini and Hochberg 1995)。すべての解析には R version 3.4.0 を用いた (R Core Team 2017)。

4.3 結果

訪花者

夜行性着地訪花性ガ類、ハナバチ類、ハナアブ類が花上で確認された（図 4-1; 表 4-1）。ハナアブ類、コハナバチ科の小型ハナバチ類、トラマルハナバチ *Bombus diversus diversus*（ワーカー）が日中に花上で観察された（図 4-1B, C; 表 4-2）。ただし、小型ハナバチ類は全く柱頭に触れなかったため、小型ハナバチ類は訪花者とみなさず解析から除いた。トラマルハナバチは花にぶら下がり、蜜を吸った。トラマルハナバチが訪花した際には、しばしば花柱が曲がった（図 4-1B）。ハナアブ類は花粉を摂食するために訪花した。ハナアブ類が訪花する際には花柱に触れたものの、彼らはしばしば花冠の入り口にとまったまま花に長時間滞在した（図 4-1C）。ツトガ科、シヤクガ科、ヤガ科が夜間に訪花した（図 4-1 D-G; 表 4-1, 4-2）。キンウワバ亜科とセダカモクメ亜科のヤガ科のガ類は花にぶら下がって訪花し、訪花時には腹面が花柱に触れた（図 4-1F, G）。ガ類の腹面には、しばしば多量の花粉が付着していた（図 4-1G, H）。ヒナシャジンの柱頭にはしばしば、ガ類の胸部や腹部から剥がれたと思われる鱗粉が多量の花粉と共に付着していた（図 4-1I）。

花粉媒介者への花粉の付着

ヒナシャジンの花粉はトラマルハナバチ、ハナアブ類、ヤガ科、ツトガ科、シヤクガ科の体表に付着していた（表 4-3）。ヤガ科は最も多くの花粉を運んでいた（表 4-3）。ヤガ類は 1~3099 個のヒナシャジンの花粉を運んでいた（mean ± SE: 812.77 ± 269.38, $n = 13$ ）。1 個体のヤガの脚にはミツバベンケイソウ *Hylotelephium verticillatum* と思われる花粉が付着していた。ヤガの腹面部分、特に胸部後部と腹部前部に花粉が最も付着していた（図 4-2）。一部のヤガ個体では、腹面の非常に狭い範囲に花粉が付着していた（図 4-1H）。トラマルハナバチ

にはヒナシャジンの花粉に加え、アザミ属の一種と思われる花粉が多量に付着していた（表 4-3）。

花粉媒介者に対する花の適応

ヒナシャジンの花筒長は 8.47 から 11.45 mm だった（平均 ± SE: 10.12 ± 0.19 mm, $n = 16$ ）。花筒の入り口の直径は 2.59 から 4.71 mm だった（平均 ± SE: 3.44 ± 0.14 mm, $n = 16$ ）。花柱は 12.0 から 24.40 mm（平均 ± SE: 21.70 ± 0.70 mm, $n = 16$ ）で花筒の約 2 倍の長さであった。主に夜間に開花し、19:00 がピークだった（図 4-3）。夜間（18:00 から 22:30）に花は雄期から雌期に変化した（図 4-3）。花蜜は夜間に分泌され、開花後 2 日目の 22:00 に最も多く分泌された（図 4-4）。分泌のピークは 22:00 で、蜜量は 0.10 から 1.31 μL （平均 ± SE: 0.60 ± 0.09 μL ）で、蜜の糖度は 3.0% から 9.6%（ $7.3 \pm 0.6\%$ ）だった。

花粉媒介実験

昼受粉の花が生産した種子数の中央値は夜受粉の花が生産した種子数の中央値の 5 分の 1 以下であり、その差は有意だった（図 4-5A, $z = -3.739$, $p < 0.001$ ）。自然受粉で生産された種子数と夜受粉で生産された種子数の間に有意な差はなかった（図 4-5A, $z = 0.11$, $p = 0.91$ ）。また、自然受粉で生産された種子数と昼受粉で生産された種子数の間にも有意な差はなかったが、（ $z = -1.363$, $p = 0.26$ ）、自然受粉で生産された種子数の中央値は昼受粉で生産された種子数の 5 倍以上だった（図 4-5A）。花は自動自家受粉ではほとんど種子を生産しなかった（図 4-5B）。自家授粉と他家授粉で生産された種子数の間には有意な差はなかった（図 4-5B, $z = -0.544$, $p = 0.73$ ）。

4.4 考察

ヒナシャジンでは種子生産に花粉媒介者が必要であることが分かった。訪花者への花粉付着量の比較と選択的排除実験の結果から、夜行性のヤガ科がヒナシャジンの最も有効な花粉媒介者であることが示唆された (図 4-5)。ヒナシャジンでは開花、雄期から雌期への変化、蜜分泌がすべて夜間に起きた (図 4-3, 4-4)。これらの花の特徴はヒナシャジンが夜行性花粉媒介者に適応していることを示唆する。昼受粉での種子生産量は、自然条件下での種子生産量よりも低かったが有意な差はなかった。また、花粉媒介実験を行わなかった 2016 年には昼間の訪花者の訪問頻度は高かった (表 4-2)。したがって、昼行性の訪花者はヒナシャジンの補助的な花粉媒介者になる可能性がある。

しかしながら、いくつかの理由から、昼行性の花粉媒介者は夜行性ガ類と比べて効率の悪い花粉媒介者かもしれない。まず、昼行性の花粉媒介者の体表付着花粉数は夜行性ガ類よりも少ない (表 4-3)。次に、ハナバチ類やハナアブ類は、夜行性ガ類と比べて、訪花時に繁殖器官に触れる頻度が低いかもしれない。ヒナシャジンにトラマルハナバチが訪花した際には、ヒナシャジンの花柱がトラマルハナバチの体を支えきれずに曲がり、柱頭がハナマルハナバチに触れないことがしばしばあった (図 4-1B)。また、トラマルハナバチの体表には異種花粉が付着していたため、トラマルハナバチが異種花粉をヒナシャジンの柱頭に付着させてしまうとすれば、ヒナシャジンの花粉媒介を妨げる可能性がある。ハナアブ類は花冠の入り口に長時間滞在するため (図 4-1C)、訪花の際に繁殖器官に触れる頻度が低いと考えられる。最後に、ハナバチ類とハナアブ類は花粉を摂食したり集めたりするため、花粉媒介に使われるべき花粉を浪費してしまうことが知られている (Gilbert 1981, Castellanos et al. 2003, Thomson and Wilson 2008)。こうした花粉を浪費する花粉媒介者は、花粉媒介効率を低下させることが知られている (Castellanos et al. 2003, Thomson and Wilson 2008)。ヒナシャジン

における夜間に偏った開花や蜜分泌は、こうした花粉を浪費する非効率的な昼行性の花粉媒介者を排除する適応的意義があるのかもしれない。

本研究は、ヒナシャジンにおいて夜行性のヤガ科の腹面を介して花粉媒介が起きていることを明らかにした。ヒナシャジンの花粉はヤガ類の腹面に付着していた（図 4-1G, H, 4-2）。こうした腹面を介した花粉媒介は、ヒナシャジンの下向きの入口が狭い釣鐘状の花冠、花冠の中心から突き出した花柱、二次的花粉表出（secondary pollen presentation）といった花形態と密接に関わっているかもしれない。まず、下向きの入口が狭い釣鐘状の花冠は、ガ類が訪花したときに、ガ類の動きを制限する可能性がある。ヒナシャジンの花筒長はヤガ類の口吻長よりも短い、花冠の狭い入口は訪花時のガ類の動きを制限するだろう。次に、下向きの花冠から突き出した花柱はヤガ類の着地場所として機能し、花柱とガ類の腹面部分との接触を促進すると考えられる。実際に、ガ類が訪花した際に、花柱の先端にガ類の腹面が接触していることが観察された（図 4-1F）。類似したヤガ類の訪花行動は、下向きで鐘型の花冠と、花冠から突き出した繁殖器官をもつツリガネニンジン属の他種とツツジ科の *Erica plukenetii* でも確認されている（3 章, Liu and Huang 2013, Van der Niet et al. 2014）。最後に、二次的花粉表出は雌雄の繁殖器官が空間的にまとまって配置されることから、正確な花粉の受け渡しに貢献していると考えられている（Carolin 1960, Yeo 1993, Castro et al. 2008, Armbruster and Muchhala 2009, Armbruster et al. 2009）。本研究では、柱頭がガ類に接触する場所を明らかにしていないが、柱頭はガ類の腹面に接触している可能性が高い。なぜなら、柱頭にはしばしば、ガ類の腹部や胸部に生えている鱗粉と似た形の鱗粉が付着していたからだ（図 4-1I）。今後の研究で、柱頭に付着している鱗粉がガ類の体表のどの部位に由来するかを明らかにする必要がある（Kiepiel and Johnson 2014, Epps et al. 2015）。

鱗翅目が花粉媒介する花の多くは、花粉が鱗翅目の複眼や口吻に付着することがよく知られている（Johnson and Edwards 2000, Willmer 2011）。しかし、鱗翅

目の翅や胴体を介した花粉媒介はいくつかの理由で効率的である可能性があり、これまで考えられてきたよりも多くの植物種で見られるかもしれない。まず、鱗翅目の翅の面積は広いため、翅を介した花粉媒介は起こりうる (Johnson and Bond 1994, Kiepiel and Johnson 2014, Epps et al. 2015)。次に、ガ類の胸部や腹部に生えている毛状の鱗粉は、花から花粉を多量に持ち去ることに適しているかもしれない。最後に、鱗翅目では口吻を巻きなおす時に口吻に付着した花粉が一部落ちてしまうので、翅や胴体を介した花粉媒介は口吻を介した花粉媒介よりも効率的である可能性が高い (Levin and Berube 1972)。

本研究はヒナシャジンにおいて、ガ類の腹面を介した花粉媒介が起きていることを明らかにし、ヒナシャジンの花形態がこの花粉媒介様式を促進していることを示唆した。鱗翅目の体の構造は胴体や翅を介した花粉媒介に適している可能性があり、そうした事例はこれまで考えられてきたよりも普遍的な可能性がある。

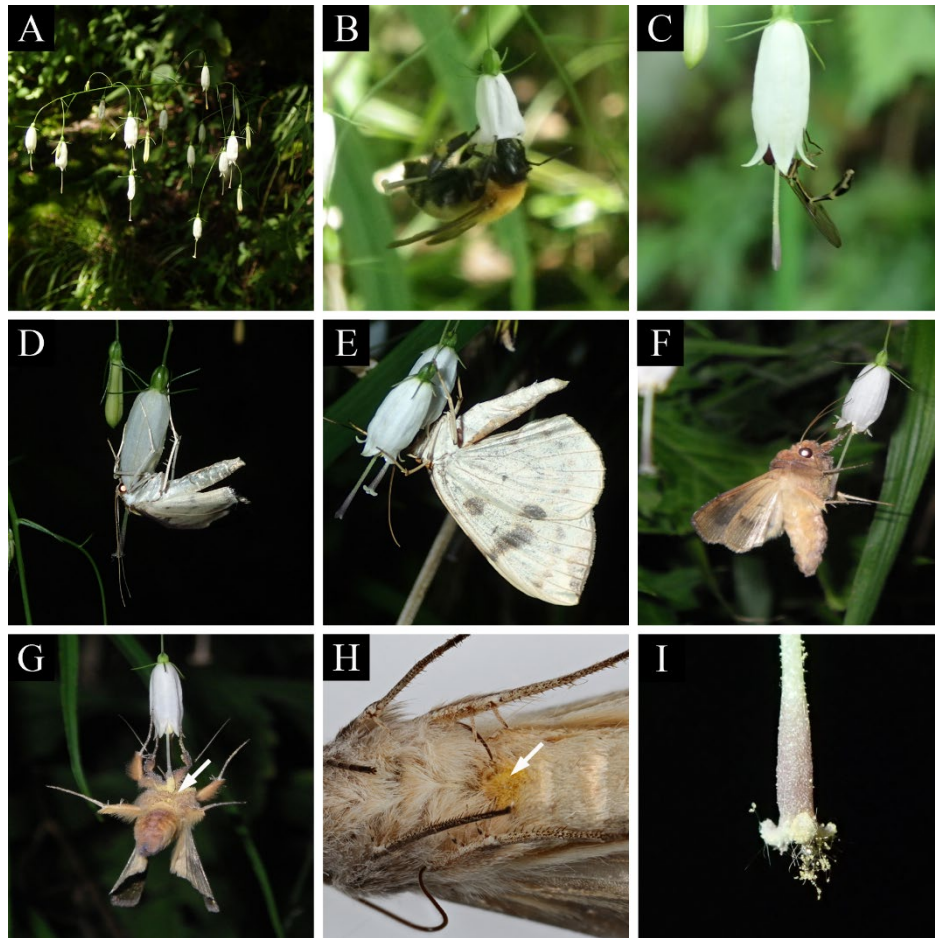


図 4-1. ヒナシャジンの花と訪花者。A. ヒナシャジンの花。B. 蜜を吸うトラマルハナバチ *Bombus diversus diversus*。C. 花粉を食べるマダラコシボソハナアブ *Baccha maculata*。D. 蜜を吸う *Paratalanta* 属のノメイガ。E. 蜜を吸うキマダラオオナミシヤク *Gandaritis fixseni*。F. 蜜を吸うキクキンウワバ *Thysanoplusia intermixta*。G. 雄期の花を訪花するキクキンウワバ。腹面に多量のヒナシャジンの花粉が付着している (矢印)。H. 腹部前部の腹面に多量のヒナシャジンの花粉が付着したハイイロセダカモクメ *Cucullia maculosa* (矢印)。I. ヒナシャジンの柱頭。多量の花粉と鱗粉が付着している。

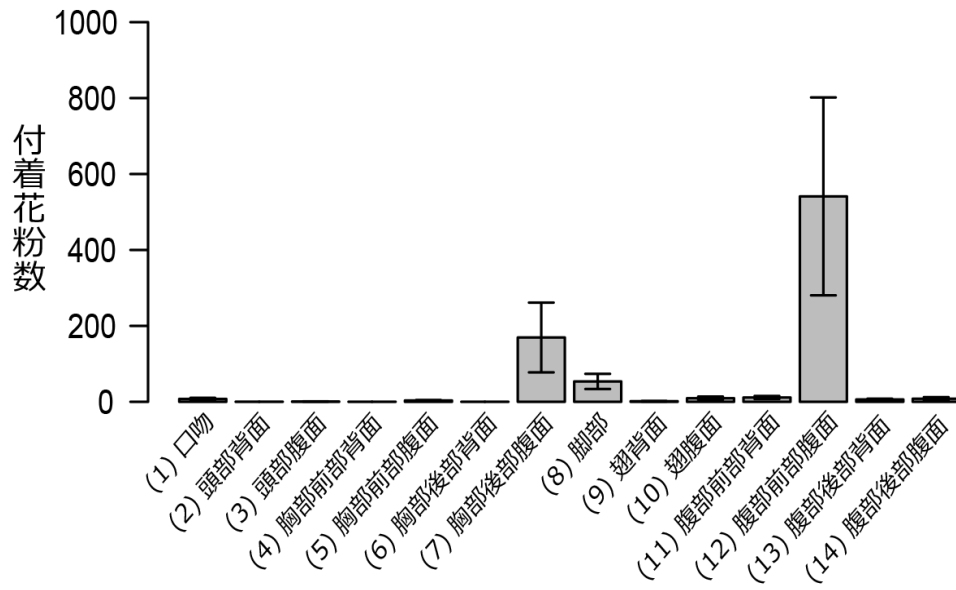


図 4-2. ヤガ科 13 個体の体表上の 14 ヲ所のそれぞれに付着したヒナシャジンの花粉数。平均 \pm SE を示す。

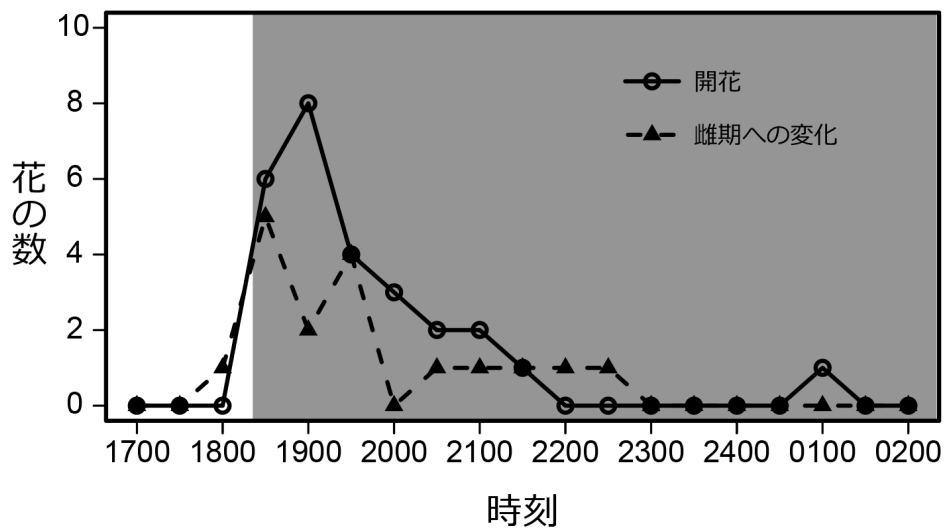


図 4-3. ヒナシャジンの開花時刻と雌期への変化時刻。開花した花の数（実線と丸印、 $n = 27$ ）と雌性期に変わった花の数（破線と三角印、 $n = 17$ ）を示す。灰色の領域は夜間の時間帯を示す。

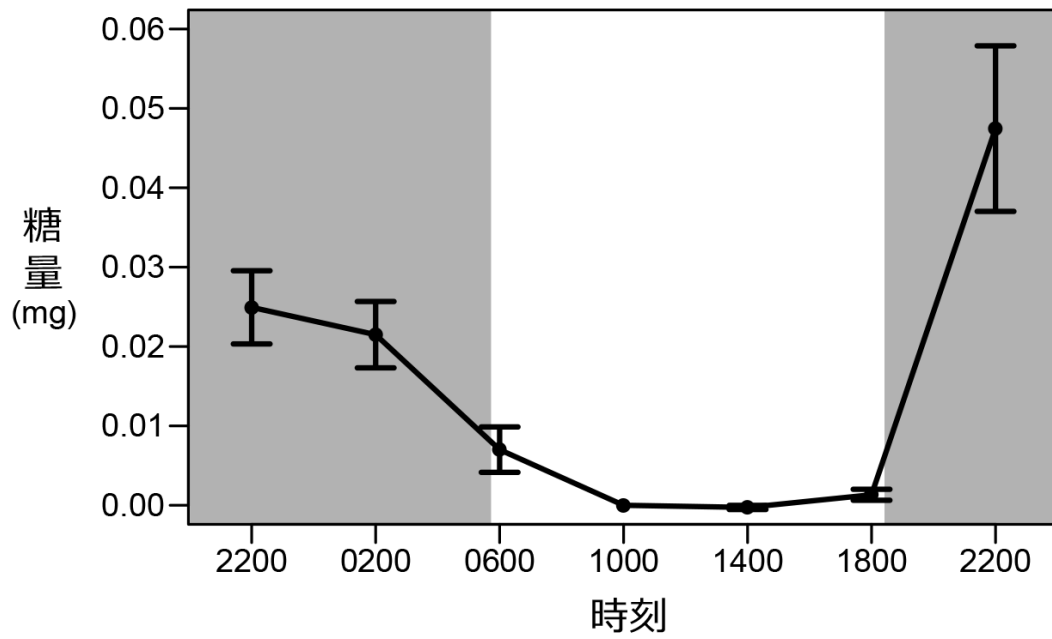


図 4-4. ヒナシャジンの蜜分泌量の経時変化。開花初日の 11 個のヒナシャジンの花から分泌された糖量を示す。平均 \pm SE を示す。灰色の領域は夜間の時間帯を示す。

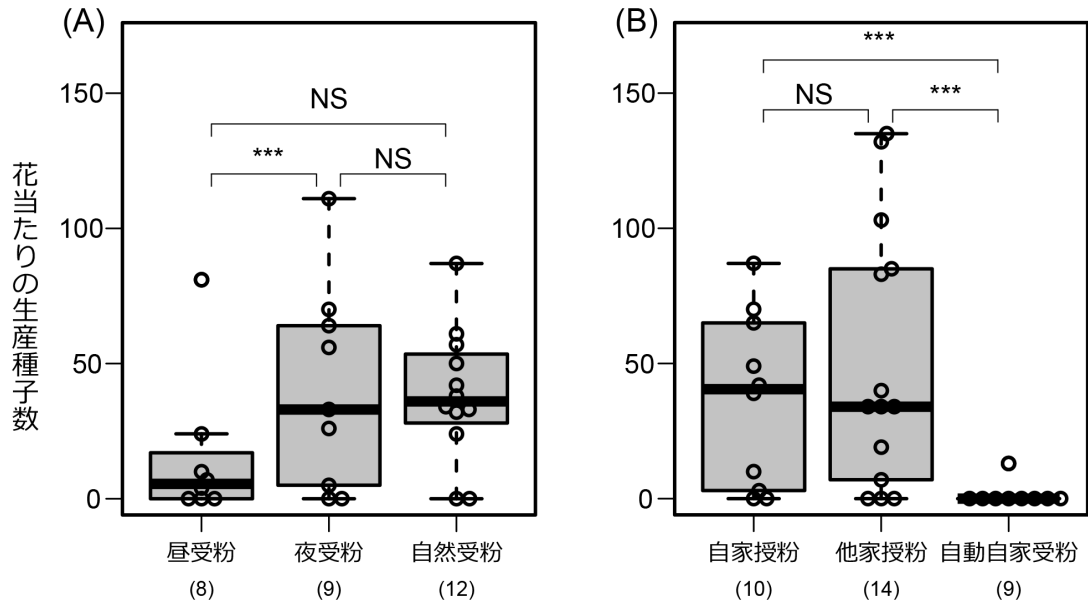


図 4-5. 花粉媒介実験における花あたり生産種子数。箱内の太い水平線は中央値を示す。箱の下端と上端はそれぞれ第一四分位数 (25%) と第三四分位数 (75%) をそれぞれ示す。ヒゲは四分位範囲の 1.5 倍の範囲にある数値を示す。丸はそれぞれの花を示す。(A) 訪花者の選択的排除実験：昼受粉、夜受粉、自然受粉。(B) 授粉実験：自家授粉、他家授粉、自動自家受粉。NS は $P > 0.05$ 、***は $p < 0.001$ を示す。ペアワイズ比較を行ったため、Benjamini-Hochberg 法によって p 値を補正した。括弧内の数字はサンプルサイズを示す。

表 4-1. ヒナシヤジンの花で採集された訪花者。口吻長 (平均 \pm SE) を示す。定点的な訪花者観察以外で採集された訪花者も含む。

目	科	学名	和名	口吻長 (mm)	N
鱗翅目	ヤガ科	<i>Abrostola</i> sp.	—	13.66	1
		<i>Anadevidia peponis</i>	ウリキンウワバ	19.46	1
		<i>Antocleora locuples</i>	ギンボシキンウワバ	15.75 \pm 0.2	2
		<i>Ctenoplusia albostrigata</i>	エゾギクキンウワバ	11.57	1
		<i>Cucullia maculosa</i>	ハイイロセダカモクメ	13.43 \pm 0.27	5
		<i>Diachrysia leonina</i>	マガリキンウワバ	25.02	1
		<i>Thysanoplusia intermixta</i>	キクキンウワバ	13.98 \pm 0.49	2
		<i>Gandaritis fixseni</i>	キマダラオオナミシヤク	12	1
		<i>Scionomia mendica</i>	ソトキクロエダシヤク	8.93	1
		<i>Palpita nigropunctalis</i>	マエアカスカシノメイガ	8.67	1
双翅目	ハナアブ科	<i>Paratalanta</i> sp.	—	11.23 \pm 0.74	5
		<i>Baccha maculata</i>	マダラコシボソハナアブ	0.71 \pm 0.01	3
		<i>Episyrrhus balteatus</i>	ホソヒラタアブ	1.08 \pm 0.00	2
		<i>Ferdinandea</i> sp.	—	2.24 \pm 0.01	2
		<i>Melanostoma</i> sp.	—	1.14	1
		<i>Bombus diversus diversus</i>	トラマルハナバチ	12.15	1
膜翅目	ミツバチ科				

表 4-2. ヒナシャジンにおける訪花昆虫相。定点調査において観察された訪花者のみを含む。

年	訪花者			
	昼間		夜間	
	ハナアブ科	マルハナバチ属	ヤガ科	ノメイガ科
2016	5	10	1	0
2017	0	1	1	5

表 4-3. ヒナシャジンの訪花者に付着した花粉の数。平均 \pm SE を示す。

目	訪花者グループ	ヒナシャジンの花粉	その他の種の花粉	N
鱗翅目	ヤガ科	812.77 \pm 269.38	2.85 \pm 2.85	13
	シヤクガ科	190.00 \pm 190.00	0	2
	ノメイガ科	13.17 \pm 12.77	0	6
双翅目	ハナアブ科	79.00 \pm 38.31	0	8
膜翅目	マルハナバチ属	32	492	1

第5章 総合考察

2章から4章で行った研究によって、釣鐘状花において着地訪花性ガ類が花粉媒介者としての役割を果たしていることが明らかになった。早春に咲くキブシは、昼行性昆虫類が主要な花粉媒介者であるものの、夜行性の着地訪花性ガ類によっても花粉媒介されることが分かった(2章)。一方で、ツリガネニンジンとヒナシャジンにおいては、夜行性の着地訪花性ガ類が主要な花粉媒介者であり、昼行性昆虫類の花粉媒介への貢献は小さかった(3・4章)。これらの結果を踏まえ、着地訪花性ガ類が花粉媒介において果たす役割を以下で考察する。まず、着地訪花性ガ類の花粉媒介者としての役割が早春だけでなく低温環境で開花する植物においても広く見られる可能性について議論する。次に、昼行性昆虫類が主要な花粉媒介者である植物においても着地訪花性ガ類が花粉媒介者として果たす役割について検討する。また、下向きの花において着地訪花性ガ類がスズメガ類よりも有効な花粉媒介者として機能する可能性を議論する。さらに、花筒長以外の花形質に着目し、着地訪花性ガ類が花形質の進化に及ぼす影響について議論する。最後に、花生態学におけるより一般的な視点として、本研究で得られた結果が、花形質と花粉媒介者の対応関係をより正確に理解する上でどのように役立つかを議論する。

低温環境における花粉媒介者としての着地訪花性ガ類

早春のような低温期には昆虫の活動は天候に大きく左右されるため、花粉媒介者の利用可能性は不確実だと考えられている(Motten 1986, Herrera 1995)。これまでの研究では、昼行性のハナバチ類や双翅目が早春における花粉媒介者として重要視されてきた(Motten 1986)。しかし、本研究は夜間に訪花する着地訪花性ガ類が早春に咲くキブシにおいて花粉媒介者として貢献していることを示した。アセビ *Pieris japonica* やヒサカキ *Eurya japonica* のような早春に咲く一部

の植物種は着地訪花性ガ類による訪花を頻繁に受ける（池ノ上・金井 2010）。したがって、こうした花においても着地訪花性ガ類は花粉媒介者として貢献しているかもしれない。高標高地や高緯度地もまた早春と同様に低温な環境であり、こうした環境においても着地訪花性ガ類は夜間に花を訪れることが知られている（Kendall and Kevan 1981, Kevan and Kendall 1997, Buxton et al. 2019）。これまでの研究は、昼行性のハナバチ類やハエ類が高標高地や高緯度地における重要な花粉媒介者であることを明らかにしてきたが（Yumoto 1986, Totland 1994, Tiusanen et al. 2016, Mizunaga and Kudo 2017, Ishii et al. 2019）、これらの低温環境において夜行性ガ類の花粉媒介への貢献は過小評価されてきた可能性が高い。今後、低温環境に咲く植物種において、夜行性ガ類の花粉媒介における貢献度を明らかにするためにキブシで行ったような花粉媒介実験が必要だろう。

低温な季節や環境における夜行性花粉媒介者として、着地訪花性ガ類はスズメガ類よりも優れている可能性がある。低温な季節や環境で訪花活動をする夜行性ガ類のほとんどはヤガ科やシャクガ科などの着地訪花性ガ類であり、スズメガ類は個体数と種数ともに少ない（Kendall and Kevan 1981, Kevan and Kendall 1997, 池ノ上・金井 2010, Jürgens et al. 2014, Buxton et al. 2019）。ヤガ科やシャクガ科は優れた体温調節機構をもつため（Heinrich 1987, Casey and Joos 1983）、低温での訪花活動が可能なのかもしれない。ただし、着地訪花性ガ類の中でもメイガ上科は低温期に訪花活動が観察されることが少ない（池ノ上・金井 2010）。スズメガ類も優れた体温調節機能をもつものの（Heinrich and Casey 1973）、ホバリングによる採餌には高いコストがかかる（Casey 1976, Haverkamp et al. 2016）。したがって、ホバリングによって採餌を行うスズメガ類にとって、花の少ない低温期や低温環境では訪花活動によって得られる利益が採餌にかかるコストに見合わないのかもしれない。実際に、日本において早春に出現する夜行性スズメガ類はオオシモフリスズメ *Langia zenzeroides* だけであり、この種は口吻が退化しているため訪花活動を行わない（岸田ら 2011a）。

昼行性昆虫類が主要な花粉媒介者である植物における着地訪花性ガ類の役割

ハナバチ類などの昼行性昆虫類が主な花粉媒介者と考えられてきた植物種においても、着地訪花性ガ類は花粉媒介者としての役割を果たしているかもしれない (Walton et al. 2020, Rader et al. 2020)。例えば、ライトトラップによって採集された着地訪花性ガ類の体表にはアブラナ属、キイチゴ属、シャジクソウ属などの昼行性昆虫類に花粉媒介されると考えられてきた様々な植物種の花粉が付着していることが報告されている (Devoto et al. 2011, Banza et al. 2015, 2019, Macgregor et al. 2017, 2019a, Walton et al. 2020)。キブシでは昼行性昆虫類が主要な花粉媒介者であったが、着地訪花性ガ類も花粉媒介者として貢献していた (2章)。こうした事例は、着地訪花性ガ類はこれまで考えられてきたよりも多くの植物種において花粉媒介者として機能していることを示唆する。しかし、昼行性昆虫類に花粉媒介されると考えられてきた植物種において、着地訪花性ガ類の花粉媒介への貢献を実験的に示した事例は少ない。したがって、今後の研究では昼と夜の訪花者を選択的に排除する花粉媒介実験、あるいはガ類が一回の訪花当たりに柱頭に付着させる花粉数の計測を行うことで、昼行性昆虫類に花粉媒介されると考えられてきた植物種における着地訪花性ガ類の花粉媒介における重要性を評価する必要がある。

下向きの花における夜行性ガ類による花粉媒介

本研究では下向きの花である釣鐘状花において着地訪花性ガ類が花粉媒介者として機能していることを示した。一般に、下向きの花は多くの訪花者を排除すると考えられている (Willmer 2011)。したがって、ハナバチ類のような花を扱う能力に長けた訪花者以外は下向きの花に着地して採餌することが難しいと考えられてきた (Ushimaru and Hyodo 2005, Willmer 2011)。このため、下向きの花や釣鐘状花はハナバチ類が主要な花粉媒介昆虫類であると信じられてきた

(Proctor et al. 1996, Roquet et al. 2008)。しかし、本研究によって、着地訪花性ガ類もハナバチ類と同様に釣鐘状花に着地し、容易に採餌することが示された。実際に、ハナヅノツクバネウツギ *Abelia* × *grandiflora* の昼行性訪花者を対象とした研究では、ミツバチと着地訪花性ガ類は、上向き、下向き、横向きの花を同程度の頻度で訪花した (Yu et al. 2021)。下向きの花の機能の一つとして、訪花者が花にアプローチする方向や花上での行動を制限することで、体表上の特定の位置に花粉を付着させることが指摘されている (Fenster et al. 2009)。ヒナシャジンにおいて、着地訪花性ガ類の腹面に特異的に花粉が付着していたことは、この仮説を支持する (4章)。

着地訪花性ガ類が花形質の進化に及ぼす影響

着地訪花性ガ類はスズメガ類とはその形態、行動、花粉媒介機能が異なる (Oliveira et al. 2004, Atwater 2013)。このため、着地訪花性ガ類媒花はスズメガ媒花と異なる特徴をもつ (Oliveira et al. 2004)。特に、着地訪花性ガ類媒花はスズメガ媒花と比べて花筒の長さが短いことが知られている (Inoue 1983, Oliveira et al. 2004, Boberg et al. 2014)。例えば、ブラジル中央部のセラードではスズメガ媒花は 40~100 mm の花筒をもち、着地訪花性ガ類媒花は 15 mm 以下の花筒をもつ傾向があった (Oliveira et al. 2004)。したがって、花筒長は着地訪花性ガ類媒花とスズメガ媒花の間の重要な違いだと考えられてきた (Oliveira et al. 2004)。しかし、花筒長以外の花形質にも、着地訪花性ガ類はスズメガ類と異なる選択圧を花に及ぼすかもしれない。

先に述べたように、着地訪花性ガ類は釣鐘状花を含む下向きの花を容易に利用することができる。しかし、スズメガ類は一般に下向きの花を好まず、下向きの花における採餌成功率は低い (Fulton and Hodges 1999, Haverkamp et al. 2019, Yu et al. 2021)。例えば、ハナヅノツクバネウツギにおいて、着地訪花性ガ類の訪花頻度は花の向きによって変化しないが、スズメガ類では上向きの花への訪

問頻度に比べて下向きの花への訪問頻度が低い (Yu et al. 2021)。したがって、下向きの花はスズメガ媒花と比べて着地訪花性ガ類媒花に多くみられる可能性がある。ただし、下向きの花にもスズメガ類が訪花する例が知られているため (Liu et al. 2019)、花の向きと訪花性ガ類のグループの関係を今後さらに明らかにする必要がある。

着地訪花性ガ類によって花粉媒介される花では、訪花するガ類に対する着地場所の提供が重要となっているかもしれない。例えば、ツリガネニンジンやヒナシャジンの花冠から突出した花柱はガ類が訪花する際の着地場所として機能している可能性がある (3章・4章)。加えて、着地訪花性ガ類が花粉媒介する花では、密集した花や花序が着地訪花性ガ類の着地場所として機能している可能性も指摘されている (Johnson et al. 1993, Oliveira et al. 2004, Atwater 2013, Funamoto and Sugiura 2016)。例えば、キブシの花序構造もヤガ類の着地場所として役立っていた (図 2-1F-H)。こうした密集した花によって構成された花序は、着地訪花性ガ類の花序上での採餌行動に対して、適応的な形質である可能性がある。

本研究では詳細な調査を行わなかったが、花色や香りなどの誘引に関わる形質も着地訪花性ガ類への適応に関係していると考えられる (Peter and Venter 2017)。これまでよく研究されてきたように、スズメガ類に花粉媒介される花は白色やクリーム色の花をもつことが多い (Johnson and Raguso 2016)。例えば、エビガラスズメ *Agrius convolvuli* に花粉媒介される南アフリカの植物群は白色の花をもつことが多い (Johnson and Raguso 2016)。こうした白い花は、夜間に採餌を行うスズメガ類に対して目立つ (Johnsen et al. 2006)。着地訪花性ガ類に花粉媒介される種も白い花をもつことが多いが、茶色や緑色の目立たない花をもつ種も知られている (Johnson 1995, Manning et al. 2012, Peter and Venter 2017)。着地訪花性ガ類は、視覚に頼らず香りだけでも訪花活動を行うことが可能なため (Brantjes 1978)、着地訪花性ガ類は目立たない花に訪れることができるのかも

しれない (Johnson 1995, Peter and Venter 2017)。着地訪花性ガ類媒花とスズメガ媒花の香りには重複する物質が多いが、構成物質や構成比が異なる傾向がある (Dobson 2006)。近縁種間でもスズメガ媒花と着地訪花性ガ類媒花では、しばしば香り成分が異なる (Peter and Venter 2017)。

送粉シンドロームの有効性に関する議論

ここ 20 年間で、研究者の間で送粉シンドロームの有効性に関する論争が続けられている (Waser et al. 1996, Ollerton et al. 2009, Rosas-Guerrero et al. 2014)。本研究は、古典的な送粉シンドロームに基づけばハナバチ媒花と予測される釣鐘状花が、実際には着地訪花性ガ類によって主に花粉媒介されていることを明らかにした (3・4 章)。また、これらの種の開花時刻、性期の変化時刻、蜜分泌量の経時変化は着地訪花性ガ類への適応を示唆した (3・4 章)。本研究は、花形質と花粉媒介者の対応関係をより正確に理解する上で、以下の 3 つのアプローチが有効であることを示した。(1) 訪花者グループごとに花粉媒介における相対的貢献度を評価する。(2) 花色と花形態だけではなく、時刻によって変化する花形質を調べる。(3) 夜行性花粉媒介者を対象とした詳細な自然史的な観察をする。

送粉シンドロームの有効性に関する論争は、送粉シンドロームの予測と合わない動物が花を訪れることに由来する (Hingston and McQuillan 2000, Ollerton et al. 2009)。一方で、送粉シンドロームを支持する研究も多い (Pauw 2006, Rosas-Guerrero et al. 2014)。送粉シンドロームを支持する研究と支持しない研究の違いは、訪花者グループごとの花粉媒介における有効性を評価しているかにあると考えられる。群集中の様々な分類群の植物において、訪花者と花形質の関連を調べた送粉ネットワーク的な研究は、送粉シンドロームと訪花者の食い違いを指摘してきた (Hingston and McQuillan 2000, Ollerton et al. 2009)。しかし、これらの研究は訪花者が花粉媒介に貢献しているかを評価していない (Hingston

and McQuillan 2000, Ollerton et al. 2009)。一方で、特定の植物種において訪花者グループごとの花粉媒介における貢献度を評価した研究では送粉シンドロームを支持することが多い (Rosas-Guerrero et al. 2014, Dellinger 2020)。花を訪れる動物の全てが花粉媒介、例えば種子生産や花粉の持ち去り、に貢献しているとは限らない (King et al. 2013)。したがって、送粉シンドロームを評価する上で、それぞれの訪花者グループの花粉媒介への貢献度を知ることは重要だと考えられる (Rosas-Guerrero et al. 2014)。なぜなら、花形質の適応進化において重要な役割を果たすのは一般的には最も花粉媒介に貢献している花粉媒介者だと考えられるからだ (Stebbins 1970, Rosas-Guerrero et al. 2014)。花を訪れる全ての動物を有効な花粉媒介者として評価すると、花粉媒介者への特殊化の程度を低く見積もってしまうかもしれない (de Santiago-Hernández et al. 2019)。花粉媒介にあまり貢献していない訪花者が花の進化に関わることが時にあることに注意すべきであるが (Aigner 2001, Pauw et al. 2020)、花粉媒介に最も貢献している訪花動物群を特定することは花形質の進化を理解する上で重要だろう。

花形質と花粉媒介者の対応関係をより正確に理解する上では、考慮する形質を慎重に選ぶ必要があるだろう (Dellinger 2020)。例えば、花色は他の花形質と比べて送粉シンドロームの予測においてあまり役に立たないかもしれない

(Dellinger 2020)。また、植物の分類群によっては、古典的なシンドロームの形質だけでは花粉媒介者の予測に不十分な可能性がある (Dellinger 2020)。ツリガネニンジン属では、古典的なシンドロームの形質として重要視されている花色や花の形だけでは花粉媒介者の予測に不十分であり、開花時刻や蜜分泌量の経時変化というような時刻に関連する形質が花粉媒介者のグループとの対応関係に大きく関わっている可能性がある。

送粉シンドロームはしばしば花粉媒介者の予測に用いられるものの、花粉媒介者を実際に調査し自然史データを蓄積することは、花の進化を明らかにする上で欠かすことが出来ない (Van der Niet 2021)。なぜならば、花形質のみに基づ

く花粉媒介者の予測は誤った結論を導くかもしれないからだ (Van der Niet 2021)。花は時に古典的な送粉シンドロームの予測と大きく異なる動物による花粉媒介に特殊化していることがある (Castañeda-Zárate et al. 2021)。本研究は夜間調査を行うことによって、釣鐘状花において着地訪花性ガ類が花粉媒介者であることを明らかにした。夜行性ガ類は花粉媒介者として見落とされがちであるが、夜間に花粉媒介者の観察を行うことは、花形質と花粉媒介者の対応関係をより正確に理解することに貢献するだろう。

摘要

第1章 序論

花と花粉媒介者の相互作用は陸上生態系において非常に重要な相互作用である。特定の花粉媒介動物への収斂的な適応によって、異なる分類群の植物種でも類似した花形質をもつことがあり、この傾向は送粉シンドロームと呼ばれている。夜行性ガ類による花粉媒介に対して特殊化した花（ガ媒花）は、強く甘い匂いを放つ白色で細長い花をもつことが多い。訪花性ガ類はスズメガ類と着地訪花性ガ類に大きく分けることが出来る。しかし、着地訪花性ガ類の研究はスズメガ類と比べて大きく遅れている。近年の研究によって、着地訪花性ガ類が花粉媒介する花において、典型的なガ媒花の特徴に当てはまらない釣鐘状の花をもつ種が報告されている。

第2章 早春に咲くキブシの花粉媒介におけるガ類の重要性

早春は天候の変化が激しいため、花粉媒介者の利用可能性が予測できない傾向があると言われている。多様なグループの花粉媒介者を利用することは、花粉媒介者の利用可能性が予測できない条件で有利だと考えられる。昼行性のハナバチ類や双翅目は早春における重要な花粉媒介者だとこれまで考えられてきた。一方で、いくつかの早春に咲く植物種は昼行性の訪花者に加えて、夜行性ガ類にも訪花されることが知られている。しかし、早春に咲く花において昼行性昆虫類と夜行性ガ類の花粉媒介における相対的重要性を明らかにした研究事例は少ない。本研究は、釣鐘状の花をもち昼行性昆虫類と夜行性ガ類の両者の訪花を受けることが知られているキブシ（キブシ科）において、昼行性昆虫と夜行性ガ類の花粉媒介における相対的重要性を明らかにするための調査を2016年から2019年に近畿地方2地点において行った。その結果、キブシはいずれの年と場所でも昼行性昆虫類と夜行性ガ類の両者に訪花され、昼行性昆虫類と夜行

性ガ類の両者に花粉が付着していることが分かった。昼行性昆虫類は夜行性ガ類よりも訪問数が多い傾向があり、種子生産への貢献度は昼行性昆虫類が夜行性ガ類よりも大きかった。夜行性ガ類は、天候の変化が激しい早春に咲くキブシの花粉媒介において補償的な役割を果たす可能性がある。

第3章 ツリガネニンジンの花粉媒介におけるガ類の重要性

ツリガネニンジン（キキョウ科）は青色で釣鐘状の花をもち、典型的なハナバチ媒花の特徴にあてはまる。しかし、近年になりツリガネニンジンの花は夜間にガ類に訪花されることが報告されている。したがって、ツリガネニンジンでは花形質から予測される花粉媒介者と実際の訪花者の間に食い違いがある。そこで本研究ではツリガネニンジンの花粉媒介者と花形質を明らかにするための調査を2013年から2015年に東日本の2地点においておこなった。その結果、ツリガネニジンは昼行性昆虫類と夜行性ガ類の両者に訪花されるが、種子生産に貢献していたのは主に夜行性ガ類であることが分かった。また、開花および雄期から雌期の変化は夜間に起き、蜜は主に夜間に分泌された。つまり、ツリガネニンジンの花形態と花色はハナバチ媒花的な特徴をもつが、実際には夜行性ガ類に花粉媒介され、さらに時間に関連した形質は夜行性ガ類による花粉媒介に適応的だと考えられる花形質をもつことがわかった。

第4章 ヒナシャジンの花粉媒介におけるガ類の重要性

一般的に、典型的なガ媒花は細長い筒をもち、その花粉は訪花するガ類の頭部（複眼や口吻）に付着する。しかし、釣鐘状のガ媒花では花粉の付着位置が典型的なガ媒花と異なる可能性がある。そこで、本研究では、2016と2017年に高知県においてヒナシャジン（キキョウ科）の花粉媒介様式を調べた。特に、夜行性ガ類の体表上の花粉付着部位に着目した。その結果、ヒナシャジンは昼行性昆虫類と夜行性ガ類の両者に訪花されるが、種子生産に貢献していたのは

主に夜行性ガ類であることが示された。ヒナシャジンの花粉は夜行性ガ類の腹面に特異的に付着しており、頭部にはほとんど付着していなかった。開花および雄期から雌期の変化は夜間に起き、蜜は主に夜間に分泌された。したがって、時間に関わる花形質は夜行性ガ類の活動時間と符合していた。ヒナシャジンなどの夜行性ガ類に花粉媒介される釣鐘状に見られる花冠から突出した繁殖器官は、下向きの花にぶら下がって採餌するガ類の腹面に花粉を付着させるうえで適応的な形質である可能性がある。

第5章 総合考察

着地訪花性ガ類の花粉媒介者としての重要性は見過ごされてきた。しかし、本研究で調査を行った釣鐘状花に訪花したガ類のほとんどは着地訪花性ガ類であり、スズメガ類はほとんど訪花しなかった。ヤガ科やシャクガ科などの着地訪花性ガ類は低温期にも訪花活動をすることができるため、早春や高山のような低温な季節や環境で重要な花粉媒介者として機能する可能性がある。また、さまざまな訪花動物群に花粉媒介を依存するジェネラリスト的な植物において着地訪花性ガ類は花粉媒介者として機能しうる。釣鐘状花は一般的にハナバチ媒花の特徴だと考えられてきた。しかし、釣鐘状花には着地訪花性ガ類が重要な花粉媒介者である種が存在し、それらの開花時刻や蜜分泌量の経時変化などの時間に関わる形質は着地訪花性ガ類への適応を示すことが分かった。釣鐘状花のような下向きの花は多くのタイプの訪花昆虫類を排除すると考えられてきた。しかし、着地訪花性ガ類は下向きの花に容易に訪花することが出来るのかもしれない。また、釣鐘状の花形態は着地訪花性ガ類の体表に効率的に花粉を付着させる上で適応的な可能性がある。本研究の結果は花形質と花粉媒介者の対応関係をより正確に理解する上で、訪花動物群ごとの花粉媒介における相対的貢献度を評価することや、花色と花形態に加えて開花時刻などの時間に関わる花形質を調べることが重要なことを示唆する。

Pollination by nocturnal moths in pendant bell-shaped flowers

Summary

Pollination by moths has received less attention compared to diurnal insects because many moths are active at night. Plants pollinated by nocturnal moths are characterized by a set of floral traits, such as white and long-tubed flowers, sweet scents, and nocturnal anthesis. The set of floral traits is called moth-pollination syndrome. Many studies have investigated the interaction between moths and flowers that fit moth-pollination syndrome. However, the role of nocturnal moths as pollinators is poorly understood in flowers that do not fit moth-pollination syndrome.

In this study, I aimed to investigate the importance of nocturnal moths as pollinators of pendant bell-shaped flowers. Although pendant bell-shaped flowers are believed to fit typical bee-pollination syndrome, recent studies have found that some pendant bell-shaped flowers are visited by nocturnal moths. I specifically focused on three species of pendant bell-shaped flowers native to Japan: *Stachyurus praecox* (Stachyuraceae), *Adenophora triphylla* var. *japonica* (Campanulaceae) and *Adenophora maximowicziana* (Campanulaceae). To elucidate the role of nocturnal moths as pollinators of pendant bell-shaped flowers, I conducted flower visitor observations and selective exclusion experiments of diurnal and nocturnal flower visitors using the three species. The timing of anthesis, the changes in the sexual phase, and the diel rhythm of nectar production were also investigated in the two *Adenophora* species.

Nocturnal moths were more important pollinators than diurnal insects of the two *Adenophora* species, whereas diurnal insects were more important pollinators than nocturnal moths in *S. praecox*. Settling moths such as Noctuidae, Geometridae, and Crambidae were main nocturnal visitors of the three species, whereas hawkmoths rarely visited the flowers. The flowers of the two *Adenophora* species opened and changed

from the staminate phase to the pistillate phase at night, and in addition, these species produced nectar mostly during the night. These results indicate that the temporal patterns of the three floral traits of the plants match the nocturnal activity of the flower-visiting moths. The contribution of the settling moths to pollination was lower than that of the diurnal pollinators in *S. praecox* that bloom in early spring. However, the settling moths may have a complementary role in pollination of flowers when the availability of the diurnal pollinator is limited.

The importance of nocturnal settling moths as pollinators has been underestimated. However, nocturnal settling moths may play an important role in pollination. They may contribute to the pollination of flowers that bloom during cold seasons and in cold environments. This is because nocturnal moths visit flowers that bloom in early spring, high mountains, and high latitudes. This study highlights the role of settling moths in the pollination of pendant flowers. Pendant flowers are known to exclude many types of pollinators, including hawkmoths. However, settling moths can easily visit pendant flowers. Most pollen grains were attached to the ventral surfaces of the moth body in *A. maximowicziana*. Thus, the pendant corolla with the exerted style of the two *Adenophora* species may be associated with pollen transfer via ventral surfaces of the moth body. Since settling moths and hawkmoths have different morphologies and behaviors, the two different types of moths might exert different selective pressure on floral traits.

The results of this study showed that nocturnal moths largely, or partially, contributed to pollination in pendant bell-shaped flowers that do not fit typical moth-pollination syndrome. This study suggests that floral morphology and color are insufficient for predicting pollinators. Floral traits associated with the activity time of pollinators may help to improve our understanding of floral adaptation to pollinators.

謝辞

本研究を遂行するにあたり、以下の方々や組織にお世話になった。厚くお礼を申し上げたい。神戸大学大学院農学研究科の杉浦真治博士には5年間にわたり懇切丁寧なご指導を賜り、本論文の執筆、研究遂行、学会発表、投稿論文の執筆においてお世話になった。また、神戸大学大学院農学研究科の坂本克彦博士と前藤薫博士には本研究の遂行において多くの助言をいただいた。昆虫多様性生態学研究室に所属された学生や研究員には研究室生活の全般において様々な形でお世話になった。特に、阪上洸多氏には本研究で採集された多くのガ類の同定をしていただいた。筑波大学の大橋一晴博士には、特に3章のツリガネニンジンに関する研究においてお世話になった。野外調査においては、京都大学芦生研究林、高知県津野町、筑波大学菅平高原実験所、筑波大学アイソトープ動態研究センターには調査許可をいただくとともに、調査に関する便宜を図っていただいた。最後に、不自由ない研究生活を送る上で様々な助力をいただいた両親に感謝する。

※本研究は、JSPS 科研費（18J20388）と笹川科学研究助成（29-544）の助成を受けたものである。

引用文献

- Abe, T. 2007. Sex expression and reproductive biology of *Stachyurus praecox* (Stachyuraceae). Bulletin of the Forestry and Forest Products Research Institute 6:151–156.
- Aigner, P. A. 2001. Optimality modeling and fitness trade-offs: when should plants become pollinator specialists? *Oikos* 95:177–184.
- Alonso, C. 2004. Early blooming's challenges: extended flowering season, diverse pollinator assemblage and the reproductive success of gynodioecious *Daphne laureola*. *Annals of Botany* 93:61–66.
- 有田豊・大島一正・岸田泰則・久万田敏夫・黒子浩・小林茂樹・駒井古実・佐々木明夫・神保宇嗣・那須義次・橋本里志・広渡俊哉・間野隆裕・山中浩・吉安裕. 2013. 日本産蛾類標準図鑑IV. 那須義次・広渡俊哉・岸田泰則編. 学研教育出版, 東京.
- Armbruster, S. W., T. F. Hansen, C. Pélabon, R. Pérez-Barrales, and J. Maad. 2009. The adaptive accuracy of flowers: measurement and microevolutionary patterns. *Annals of Botany* 103:1529–1545.
- Armbruster, S. W., and N. Muchhala. 2009. Associations between floral specialization and species diversity: cause, effect, or correlation? *Evolutionary Ecology* 23:159–179.
- Atwater, M. M. 2013. Diversity and nectar hosts of flower-settling moths within a Florida sandhill ecosystem. *Journal of Natural History* 47:2719–2734.
- Baker, H. G. 1961. The adaptation of flowering plants to nocturnal and crepuscular pollinators. *The Quarterly Review of Biology* 36:64–73.
- Banza, P., A. D. F. Belo, and D. M. Evans. 2015. The structure and robustness of nocturnal lepidopteran pollen-transfer networks in a biodiversity hotspot. *Insect Conservation and Diversity* 8:538–546.

- Banza, P., C. J. Macgregor, A. D. F. Belo, R. Fox, M. J. O. Pocock, and D. M. Evans. 2019. Wildfire alters the structure and seasonal dynamics of nocturnal pollen-transport networks. *Functional Ecology* 33:1882–1892.
- Bawa, K. S. 1990. Plant-pollinator interactions in tropical rain forests. *Annual Review of Ecology and Systematics* 21:399–422.
- Benjamini, Y., and Y. Hochberg. 1995. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)* 57:289–300.
- Benning, J. W. 2015. Odd for an ericad: nocturnal pollination of *Lyonia lucida* (Ericaceae). *The American Midland Naturalist* 174:204–217.
- Bishop, J. A., and W. S. Armbruster. 1999. Thermoregulatory abilities of Alaskan bees: effects of size, phylogeny and ecology. *Functional Ecology* 13:711–724.
- Blüthgen, N., and A. M. Klein. 2011. Functional complementarity and specialisation: the role of biodiversity in plant-pollinator interactions. *Basic and Applied Ecology* 12:282–291.
- Boberg, E., R. Alexandersson, M. Jonsson, J. Maad, J. Ågren, and L. A. Nilsson. 2014. Pollinator shifts and the evolution of spur length in the moth-pollinated orchid *Platanthera bifolia*. *Annals of Botany* 113:267–275.
- Borges, R. M. 2018. Dark matters: challenges of nocturnal communication between plants and animals in delivery of pollination services. *Yale Journal of Biology and Medicine* 91:33–42.
- Borges, R. M., H. Somanathan, and A. Kelber. 2016. Patterns and processes in nocturnal and crepuscular pollination services. *The Quarterly Review of Biology* 91:389–418.
- Brantjes, N. B. M. 1978. Sensory responses to flowers in night-flying moths. Pages 13–19. *The Pollination of Flowers by Insects*. Linnean So. Academic Press,

London.

- Buxton, M. N., B. J. Anderson, R. J. B. Hoare, and J. M. Lord. 2019. Are moths the missing pollinators in Subantarctic New Zealand? *Polar Research* 38:3545.
- Carolin, R. C. 1960. The structures involved in the presentation of pollen to visiting insects in the order Campanales. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales* 85:197–207.
- Casey, T. M. 1976. Flight energetics of sphinx moths: power input during hovering flight. *Journal of Experimental Biology* 64: 529–543.
- Casey, T. M., and B. A. Joos. 1983. Morphometrics, conductance, thoracic temperature, and flight energetics of noctuid and geometrid moths. *Physiological Zoology* 56: 160–173.
- Castañeda-Zárate, M., S. D. Johnson, and T. van der Niet. 2020. Food reward chemistry explains a novel pollinator shift and vestigialization of long floral spurs in an orchid. *Current Biology* 31: 238–246.
- Castellanos, M. C., P. Wilson, and J. D. Thomson. 2003. Pollen transfer by hummingbirds and bumblebees, and the divergence of pollination modes in *Penstemon*. *Evolution* 57:2742–2752.
- Castro, S., P. Silveira, and L. Navarro. 2008. How does secondary pollen presentation affect the fitness of *Polygala vayredae* (Polygalaceae)? *American Journal of Botany* 95:706–712.
- Darwin, C. . 1862. On the various contrivances by which British and foreign orchids are fertilised by insects. John Murray, London.
- Dellinger, A. S. 2020. Pollination syndromes in the 21st century: where do we stand and where may we go? *New Phytologist* 228: 1193–1213.
- de Santiago-Hernández, M. H., S. Martén-Rodríguez, M. Lopezaraiza-Mikel, K. Oyama, A. González-Rodríguez, and M. Quesada. 2019. The role of pollination

- effectiveness on the attributes of interaction networks: from floral visitation to plant fitness. *Ecology* 100:e02803.
- Devoto, M., S. Bailey, and J. Memmott. 2011. The “night shift”: nocturnal pollen-transport networks in a boreal pine forest. *Ecological Entomology* 36:25–35.
- Dobson, H. E. M. 2006. Relationship between floral fragrance composition and type of pollinator. Pages 147–198 in N. Dudareva and E. Pichersky, editors. *Biology of Floral Scent*. Taylor and Francis, Boca Raton.
- Dupont, Y. L., and M. Kato. 1999. Phenology and flower-visiting entomofauna of six species of *Lindera* (Lauraceae) in Japan. *Nordic Journal of Botany* 19:707–718.
- Epps, M. J., S. E. Allison, and L. M. Wolfe. 2015. Reproduction in flame azalea (*Rhododendron calendulaceum*, Ericaceae): a rare case of insect wing pollination. *The American Naturalist* 186:294–301.
- Faegri, K., and L. van der Pijl. 1971. *The Principles of Pollination Ecology*. Pergamon Press, Oxford.
- Fenster, C. B., W. S. Armbruster, and M. R. Dudash. 2009. Specialization of flowers: is floral orientation an overlooked first step? *New Phytologist* 183:502–506.
- Fenster, C. B., W. S. Armbruster, P. Wilson, M. R. Dudash, and J. D. Thomson. 2004. Pollination syndromes and floral specialization. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 35:375–403.
- Freitas, L., and M. Sazima. 2006. Pollination biology in a tropical high-altitude grassland in Brazil: interactions at the community level. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 93:465–516.
- Fulton, M., and S. A. Hodges. 1999. Floral isolation between *Aquilegia formosa* and *Aquilegia pubescens*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 266:2247–2252.

- Funamoto, D., and S. Sugiura. 2016. Settling moths as potential pollinators of *Uncaria rhynchophylla* (Rubiaceae). *European Journal of Entomology* 113:497–501.
- Gilbert, F. 1981. Foraging ecology of hoverflies: morphology of the mouthparts in relation to feeding on nectar and pollen in some common urban species. *Ecological Entomology* 6:245–262.
- Gómez, J. M., J. Bosch, F. Perfectti, J. D. Fernández, M. Abdelaziz, and J. P. M. Camacho. 2008. Spatial variation in selection on corolla shape in a generalist plant is promoted by the preference patterns of its local pollinators. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 275:2241–2249.
- Goyret, J., M. Pfaff, and R. A. Raguso. 2008. Why do *Manduca sexta* feed from white flowers ? Innate and learnt colour preferences in a hawkmoth. 95:569–576.
- Group for the study on ecology of natural forest. 1972. Vegetation of the natural forest of Kyoto University forest in Ashiu. *Bulletin of the Kyoto University Forests* 43:33–52.
- Hahn, M., and C. A. Brühl. 2016. The secret pollinators : an overview of moth pollination with a focus on Europe and North America. *Arthropod-Plant Interactions* 10:21–28.
- Hargreaves, A. L., L. D. Harder, and S. D. Johnson. 2009. Consumptive emasculation: the ecological and evolutionary consequences of pollen theft. *Biological Reviews* 84:259–276.
- Haverkamp, A., J. Bing, E. Badeke, B. S. Hansson, and M. Knaden (2016). Innate olfactory preferences for flowers matching proboscis length ensure optimal energy gain in a hawkmoth. *Nature Communications* 7: 11644.
- Haverkamp, A., X. Li, B. S. Hansson, I. T. Baldwin, M. Knaden, and F. Yon. 2019. Flower movement balances pollinator needs and pollen protection. *Ecology* 100:e02553.

- Heinrich, B., and T. M. Casey (1973). Metabolic rate and endothermy in sphinx moths. *Journal of Comparative Physiology* 82:195–206.
- Heinrich, B. 1987. Thermoregulation by winter-flying endothermic moths. *Journal of Experimental Biology* 127:313–332.
- Hernández-Hernández, T., and J. J. Wiens. 2020. Why are there so many flowering plants? A multiscale analysis of plant diversification. *American Naturalist* 195:948–963.
- Herrera, C. M. 1995. Floral biology, microclimate, and pollination by ectothermic bees in an early-blooming herb. *Ecology* 76:218–228.
- Hingston, A. B., and P. B. McQuillan. 2000. Are pollination syndromes useful predictors of floral visitors in Tasmania? *Austral Ecology* 25:600–609.
- Huang, Z.-H., Y.-P. Song, and S.-Q. Huang. 2017. Evidence for passerine bird pollination in *Rhododendron species*. *AoB PLANTS* 9:plx062.
- 市毛, 勝義. 2009. 日本産コシボソハナアブ類について. *はなあぶ* 28:9–22.
- 池ノ上利幸. 1990. 早春のヤガ類の吸蜜活動に関する一観察例. *誘蛾灯* 121:129–131.
- 池ノ上利幸. 2008. 花を訪れる蛾たち—知られざる姿を求めて. *昆虫文献六本脚*, 東京.
- 池ノ上利幸・金井弘夫. 2010. 夜間における蛾の訪花活動. *植物研究雑誌* 85:246–260.
- Inoue, K. 1983. Systematics of the genus *Platanthera* in Japan and the adjacent regions with special reference to pollination. *Journal of the Faculty of Science, University of Tokyo: Section III: Botany* 13:285–374.
- Ishii, H. S., M. X. Kubota, S. G. Tsujimoto, and G. Kudo. 2019. Association between community assemblage of flower colours and pollinator fauna: a comparison between Japanese and New Zealand alpine plant communities. *Annals of Botany*

123:533–541.

- Johnsen, S., A. Kelber, E. Warrant, A. M. Sweeney, E. A. Widder, R. L. Lee, and J. Hernández-Andrés. 2006. Crepuscular and nocturnal illumination and its effects on color perception by the nocturnal hawkmoth *Deilephila elpenor*. *Journal of Experimental Biology* 209:789–800.
- Johnson, S. D. 1995. Moth pollination of the cryptic Cape orchid *Monadenia ophrydea*. *Flora* 190:105–108.
- Johnson, S. D., and B. Anderson. 2010. Coevolution between food-rewarding flowers and their pollinators. *Evolution: Education and Outreach* 3:32–39.
- Johnson, S. D., and W. J. Bond. 1994. Red flowers and butterfly pollination in the fynbos of South Africa. Pages 137–148 *in* M. Arianoutsou and R. H. Groves, editors. *Plant–animal interactions in Mediterranean-type ecosystems*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Johnson, S. D., and T. J. Edwards. 2000. The structure and function of orchid pollinaria. *Plant Systematics and Evolution* 222:243–269.
- Johnson, S. D., A. Ellis, P. Carrick, A. Swift, N. Horner, S. J. van Rensburg, and W. J. Bond. 1993. Moth pollination and rhythms of advertisement and reward in *Crassula fascicularis* (Crassulaceae). *South African Journal of Botany* 59:511–513.
- Johnson, S. D., M. Moré, F. W. Amorim, W. A. Haber, G. W. Frankie, D. A. Stanley, A. A. Cocucci, R. A. Raguso, A. A. Coccuci, and R. A. Raguso. 2017. The long and the short of it: a global analysis of hawkmoth pollination niches and interaction networks. *Functional Ecology* 31:101–115.
- Johnson, S. D., and R. A. Raguso. 2016. The long-tongued hawkmoth pollinator niche for native and invasive plants in Africa. *Annals of Botany* 117:25–36.
- Jürgens, A., U. Glück, G. Aas, and S. Dötterl. 2014. Diel fragrance pattern correlates

- with olfactory preferences of diurnal and nocturnal flower visitors in *Salix caprea* (Salicaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 175:624–640.
- Kaiser-Bunbury, C. N., A. Traveset, and D. M. Hansen. 2010. Conservation and restoration of plant-animal mutualisms on oceanic islands. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 12:131–143.
- Kawahara, A. Y., D. Plotkin, C. A. Hamilton, H. Gough, R. St Laurent, H. L. Owens, N. T. Homziak, and J. R. Barber. 2018. Diel behavior in moths and butterflies: a synthesis of data illuminates the evolution of temporal activity. *Organisms Diversity & Evolution* 18:13–27.
- 岸田泰則・中島秀雄・大和田守・佐藤力夫・矢崎克己・矢野高広・金子岳夫・広渡俊哉. 2011a. 日本産ガ類標準図鑑I. 岸田泰則編. 学研教育出版, 東京.
- 岸田泰則・小林秀紀・佐々木明夫・大和田守・吉松慎一・神保宇嗣・石塚勝己・清野昭夫・柳田慶浩・枝恵太郎・四方圭一郎. 2011b. 日本産蛾類標準図鑑II. 岸田泰則編. 学研教育出版, 東京.
- Kehrberger, S., and A. Holzschuh. 2019. Warmer temperatures advance flowering in a spring plant more strongly than emergence of two solitary spring bee species. *PLoS ONE* 14:1–15.
- Kelber, A. 2005. Alternative use of chromatic and achromatic cues in a hawkmoth. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 272:2143–2147.
- Kendall, D. M., and P. G. Kevan. 1981. Nocturnal flight activity of moths (Lepidoptera) in alpine tundra. *The Canadian Entomologist* 113:607–614.
- Kenta, T., N. Inari, T. Nagamitsu, K. Goka, and T. Hiura. 2007. Commercialized European bumblebee can cause pollination disturbance: an experiment on seven native plant species in Japan. *Biological Conservation* 134:298–309.
- Kevan, P. G., and D. M. Kendall. 1997. Liquid assets for fat bankers: summer nectarivory by migratory moths in the Rocky Mountains, Colorado, U.S.A. *Arctic*

- and Alpine Research 29:478–482.
- Kiepiel, I., and S. D. Johnson. 2014. Shift from bird to butterfly pollination in *Clivia* (Amaryllidaceae). American Journal of Botany 101:190–200.
- King, C., G. Ballantyne, and P. G. Willmer. 2013. Why flower visitation is a poor proxy for pollination: measuring single-visit pollen deposition, with implications for pollination networks and conservation. Methods in Ecology and Evolution 4:811–818.
- Knop, E., L. Zoller, R. Ryser, C. Gerpe, M. Hörler, and C. Fontaine. 2017. Artificial light at night as a new threat to pollination. Nature 548:206–209.
- Koch, L., K. Lunau, and P. Wester. 2017. To be on the safe site – ungroomed spots on the bee’s body and their importance for pollination. PLoS ONE 12:e0182522.
- Krenn, H. W. 2010. Feeding mechanisms of adult Lepidoptera: structure, function, and evolution of the mouthparts. Annual Review of Entomology 55:307–327.
- Kudo, G., and E. J. Cooper. 2019. When spring ephemerals fail to meet pollinators : mechanism of phenological mismatch and its impact on plant reproduction. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 186:20190573.
- Leal, R. L. B., M. M. Moreira, A. R. Pinto, J. De Oliveira Ferreira, M. Rodriguez-Girones, and L. Freitas. 2020. Temporal changes in the most effective pollinator of a bromeliad pollinated by bees and hummingbirds. PeerJ 8:e8836.
- Lehnert, M. S., C. E. Beard, P. D. Gerard, K. G. Kornev, and P. H. Adler. 2016. Structure of the lepidopteran proboscis in relation to feeding guild. Journal of Morphology 277:167–182.
- Lenth, R. V. 2016. Least-squares means: the R package lsmeans. Journal of Statistical Software, 69, 1–33. 69:1–33.
- Levin, D. A., and D. E. Berube. 1972. *Phlox* and *Colias*: the efficiency of a pollination system. Evolution 26:242–250.

- Liu, C. Q., Y. D. Gao, Y. Niu, Y. Z. Xiong, and H. Sun. 2019. Floral adaptations of two lilies: implications for the evolution and pollination ecology of huge trumpet-shaped flowers. *American Journal of Botany* 106:622–632.
- Liu, C. Q., and S. Q. Huang. 2013. Floral divergence, pollinator partitioning and the spatiotemporal pattern of plant-pollinator interactions in three sympatric *Adenophora* species. *Oecologia* 173:1411–1423.
- Macgregor, C. J., D. M. Evans, R. Fox, and M. J. O. Pocock. 2017. The dark side of street lighting: impacts on moths and evidence for the disruption of nocturnal pollen transport. *Global Change Biology* 23:697–707.
- Macgregor, C. J., J. J. N. Kitson, R. Fox, C. Hahn, D. H. Lunt, M. J. O. Pocock, and D. M. Evans. 2019a. Construction, validation, and application of nocturnal pollen transport networks in an agro-ecosystem: a comparison using light microscopy and DNA metabarcoding. *Ecological Entomology* 44:17–29.
- Macgregor, C. J., M. J. O. Pocock, R. Fox, and D. M. Evans. 2015. Pollination by nocturnal Lepidoptera, and the effects of light pollution: a review. *Ecological Entomology* 40:187–198.
- Macgregor, C. J., M. J. O. Pocock, R. Fox, and D. M. Evans. 2019b. Effects of street lighting technologies on the success and quality of pollination in a nocturnally pollinated plant. *Ecosphere* 10:e02550.
- Macgregor, C. J., and A. S. Scott-Brown. 2020. Nocturnal pollination: an overlooked ecosystem service vulnerable to environmental change. *Emerging Topics in Life Sciences* 4:19–32.
- Manning, J. C., P. Goldblatt, E. Parker, and R. Kaiser. 2012. First record of pollination in the Afro Eurasian *Dipcadi* Medik. (Hyacinthaceae): pollination of *D. brevifolium* by the owlet moth *Syngrapha circumflexa* (Noctuidae). *South African Journal of Botany* 81:15–18.

- Miller, T. J., R. A. Raguso, and K. M. Kay. 2014. Novel adaptation to hawkmoth pollinators in *Clarkia* reduces efficiency, not attraction of diurnal visitors. *Annals of Botany* 113:317–329.
- Miller, W. E. 1997. Diversity and evolution of tongue length in hawkmoths (Sphingidae). *Journal of the Lepidopterists' Society* 51:9–31.
- Minnaar, C., B. Anderson, M. L. De Jager, and J. D. Karron. 2019. Plant-pollinator interactions along the pathway to paternity. *Annals of Botany* 123:225–245.
- Miyake, T., and T. Yahara. 1998. Why does the flower of *Lonicera japonica* open at dusk? *Canadian Journal of Botany* 76:1806–1811.
- Miyake, T., and T. Yahara. 1999. Theoretical evaluation of pollen transfer by nocturnal and diurnal pollinators: when should a flower open? *Oikos* 86:233–240.
- Mizunaga, Y., and G. Kudo. 2017. A linkage between flowering phenology and fruit-set success of alpine plant communities with reference to the seasonality and pollination effectiveness of bees and flies. *Oecologia* 185:453–464.
- Motten, A. F. 1986. Pollination ecology of the spring wildflower community of a temperate deciduous forest. *Ecological Monographs* 56:21–42.
- Nikkeshi, A., D. Kurimoto, and A. Ushimaru. 2015. Low flower-size variation in bilaterally symmetrical flowers: support for the pollination precision hypothesis. *American Journal of Botany* 102:2032–2040.
- 大石久志. 1996. ルーペで調べる身近な縞模様のハナアブの見分け方 (1). *昆虫と自然* 31:42–47.
- Okamoto, T., A. Kawakita, and M. Kato. 2008. Floral adaptations to nocturnal moth pollination in *Diplomorpha* (Thymelaeaceae). *Plant Species Biology* 23:192–201.
- Okazaki, J. 1993. *Adenophora* Fisch. Pages 406–410 in K. Iwatsuki, T. Yamazaki, D. E. Boufford, and H. Ohba, editors. *Flora of Japan*, vol. IIIa, Angiospermae Dictyedoneae Sympetalae (a). Kodansha, Tokyo.

- Oliveira, P. E., P. E. Gibbs, and A. A. Barbosa. 2004. Moth pollination of woody species in the Cerrados of Central Brazil : a case of so much owed to so few ? *Plant Systematics and Evolution* 245:41–54.
- Ollerton, J. 2017. Pollinator diversity: distribution, ecological function, and conservation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 48:353–376.
- Ollerton, J., R. Alarco, N. M. Waser, M. V Price, S. Watts, L. Cranmer, A. Hingston, C. I. Peter, and J. Rotenberry. 2009. A global test of the pollination syndrome hypothesis. *Annals of Botany* 103:1471–1480.
- Ollerton, J., R. Winfree, and S. Tarrant. 2011. How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos* 120:321–326.
- Osada, N., S. Sugiura, K. Kawamura, M. Cho, and H. Takeda. 2003. Community-level flowering phenology and fruit set: comparative study of 25 woody species in a secondary forest in Japan. *Ecological Research* 18:711–723.
- Pauw, A. 2006. Floral syndromes accurately predict pollination by a specialized oil-collecting bee (*Rediviva peringueyi*, Melittidae) in a guild of South African orchids (Coryciinae). *American Journal of Botany* 93:917–926.
- Pauw, A. 2019. A bird's-eye view of pollination : biotic interactions as drivers of adaptation and community change. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 50:477–502.
- Pauw, A., A. A. Cocucci, and A. N. Sérsic. 2020. The least effective pollinator principle: specialized morphology despite generalized ecology. *Plant Biology* 22:924–931.
- Peng, D.-L., Z.-Q. Zhang, B. Xu, Z.-M. Li, and H. Sun. 2012. Patterns of flower morphology and sexual systems in the subnival belt of the Hengduan Mountains, SW China. *Alpine Botany* 122:65–73.
- Pérez-Barrales, R., P. Vargas, and J. Arroyo. 2006. New evidence for the Darwinian

- hypothesis of heterostyly: Breeding systems and pollinators in *Narcissus* sect. Apodanthi. *New Phytologist* 171:553–567.
- Peter, C. I., and N. Venter. 2017. Generalist, settling moth pollination in the endemic South African twig epiphyte, *Mystacidium pusillum* Harv. (Orchidaceae). *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 232:16–21.
- Proctor, M., P. Yeo, and A. Lack. 1996. *The Natural History of Pollination*. Timber Press, Portland.
- R Core Team. 2016. *R: a language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- R Core Team. 2017. *R: a language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- R Core Team. 2018. *R: a language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Rader, R., S. A. Cunningham, B. G. Howlett, and D. W. Inouye. 2020. Non-bee insects as visitors and pollinators of crops: biology, ecology, and management. *Annual Review of Entomology* 65: 391–407.
- Roquet, C., L. Sáez, J. J. Aldasoro, A. Susanna, M. L. Alarcón, and N. Garcia-jacas. 2008. Natural delineation, molecular phylogeny and floral evolution in *Campanula*. *Systematic Botany* 33:203–217.
- Rosas-Guerrero, V., R. Aguilar, S. Martén-Rodríguez, L. Ashworth, M. Lopezaraiza-Mikel, J. M. Bastida, and M. Quesada. 2014. A quantitative review of pollination syndromes: do floral traits predict effective pollinators? *Ecology Letters* 17:388–400.
- Satoh, A., M. Kinoshita, and K. Arikawa. 2016. Innate preference and learning of colour in the male cotton bollworm *Helicoverpa armigera*. *Journal of Experimental Biology* 219:3857–3860.

- Stebbins, G. L. 1970. Adaptive radiation of reproductive characteristics in angiosperms, I: pollination mechanisms. *Annual Review of Ecology and Systematics* 1:307–326.
- 多田内修・村尾竜起・宮永龍一・幾留秀一・長瀬博彦・三田井克志・塩川信・伊藤誠夫. 2014. 日本産ハナバチ図鑑. 多田内修・村尾竜起編. 文一総合出版, 東京.
- 高橋秀男. 2000. キブシ科. 高橋秀男・勝山輝男監修. 樹に咲く花・離弁花 1. 山と溪谷社, 東京.
- 竹内正人. 2009. 写真集 ハナアブ300 双翅目談話会研究資料 (3). 双翅目談話会.
- 田中肇. 1997. 花と昆虫がつくる自然. 保育社, 大阪.
- Thomson, J. D., and P. Wilson. 2008. Explaining evolutionary shifts between bee and hummingbird pollination: convergence, divergence, and directionality. *International Journal of Plant Sciences* 169:23–38.
- Tiusanen, M., P. D. N. Hebert, N. M. Schmidt, and T. Roslin. 2016. One fly to rule them all—muscid flies are the key pollinators in the arctic. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 283:20161271.
- Tong, Z. Y., and S. Q. Huang. 2018. Safe sites of pollen placement: a conflict of interest between plants and bees? *Oecologia* 186:163–171.
- Totland, Ø. 1994. Influence of climate, time of day and season, and flower density on insect flower visitation in alpine Norway. *Arctic and Alpine Research* 26:66–71.
- Ushimaru, A., and F. Hyodo. 2005. Why do bilaterally symmetrical flowers orient vertically? Flower orientation influences pollinator landing behaviour. *Evolutionary Ecology Research* 7:151–160.
- Van der Niet, T. 2021. Paucity of natural history data impedes phylogenetic analyses of pollinator-driven evolution. *New Phytologist* 229: 1201–1205.
- Van der Niet, T., and S. D. Johnson. 2012. Phylogenetic evidence for pollinator-driven diversification of angiosperms. *Trends in Ecology and Evolution* 27:353–361.

- Van der Niet, T., M. D. Pirie, A. Shuttleworth, S. D. Johnson, and J. J. Midgley. 2014. Do pollinator distributions underlie the evolution of pollination ecotypes in the Cape shrub *Erica plukenetii*? *Annals of Botany* 113:301–315.
- VanZandt, P. A., D. D. Johnson, C. Hartley, K. A. LeCroy, H. W. Shew, B. T. Davis, and M. S. Lehnert. 2019. Which moths might be pollinators? Approaches in the search for the flower-visiting needles in the Lepidopteran haystack. *Ecological Entomology*:13–25.
- Walton, R. E., C. D. Sayer, H. Bennion, and J. C. Axmacher. 2020. Nocturnal pollinators strongly contribute to pollen transport of wild flowers in an agricultural landscape. *Biology Letters* 16:20190877.
- Wang, H., C.-L. Xiao, R. W. Gituru, Z. Xiong, D. Yu, Y.-H. Guo, and C.-F. Yang. 2014. Change of floral orientation affects pollinator diversity and their relative importance in an alpine plant with generalized pollination system, *Geranium refractum* (Geraniaceae). *Plant Ecology* 215:1211–1219.
- Wardhaugh, C. W. 2015. How many species of arthropods visit flowers ? *Arthropod-Plant Interactions* 9:547–565.
- Warrant, E., and M. Dacke. 2011. Vision and visual navigation in nocturnal insects. *Annual Review of Entomology* 56:239–254.
- Waser, N. M., L. Chittka, M. V Price, N. M. Williams, and J. Ollerton. 1996. Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology* 77:1043–1060.
- Weissmann, J., and H. Schaefer. 2018. The importance of generalist pollinator complexes for endangered island endemic plants. *Arquipélago - Life and Marine Sciences* 35:23–40.
- Willmer, P. 2011. *Pollination and Floral Ecology*. Princeton University Press, Princeton.
- Yeo, P. F. 1993. Secondary pollen presentation: form, function and evolution. *Plant*

Systematics and Evolution, Supplementa 6. Springer-Verlag Wien, New York.

Yu, Y. -M., X. -X. Li, D. Xie, and H. Wang. 2021. Horizontal orientation of zygomorphic flowers: significance for rain protection and pollen transfer. *Plant Biology* 23: 156–161.

Yumoto, T. 1986. The ecological pollination syndromes of insect-pollinated plants in an alpine meadow. *Ecological Research* 1:83–95.