

女王蜂の交尾に伴う生理学的・行動学的変化と そのメカニズム

原野 健一

ミツバチの女王蜂は生涯の早いうちに交尾飛行を行うが、それまでは卵巣を発達させず、コロニーを機能的に維持する能力をもたない。交尾による刺激は、女王蜂の卵巣を急速に発達させて産卵を開始させるだけでなく、交尾飛行の停止、大顎腺フェロモン (Queen Mandibular Pheromone; QMP) 合成速度の増加などの様々な生理および行動変化をもたらす (図 1, 表 1)。

このような交尾に伴う女王蜂の変化は非常に劇的であり、しかもコロニーの生存に不可欠であるにもかかわらず、それを引き起こすメカニズムには不明な点が多い。この総説では、この女王蜂の変化とその基盤となるメカニズムについて、もっとも研究が進んでいるセイヨウミツバチ *Apis mellifera* の例を中心に紹介する。

交尾に伴う生理状態および行動の変化

交尾飛行の停止

セイヨウミツバチの女王蜂は、羽化後の数日間間は出巢することはないが、性的成熟を迎える

羽化後 6~9 日齢になると、10 分程度の定位飛行を 1~数回行った後、同日あるいは翌日に 20~30 分間の交尾飛行を行う。女王蜂は、数 km も離れていることもある雄蜂の集合場所 (drone congregation area; DCA) まで飛行し、そこで複数の雄蜂と交尾を行った後、母巢へと帰還する。遺伝マーカーを用いて調べてみると、セイヨウミツバチの女王蜂は平均 12 匹の雄と交尾をしている (Tarpy et al., 2004)。十分な量の精子を受け取った女王蜂は、交尾飛行を停止し、その後は巣の中での活動に専念するようになる。分蜂や逃去を除けば、交尾飛行を停止した女王蜂が飛行することはない。交尾飛行を 2-3 回行う女王蜂もいるが (Crane, 1990)、これは一回の交尾飛行で十分な量の精子を受け取れなかったためだと考えられる (Kocher et al., 2009)。

交尾飛行の生起はおそらく光走性の変化と関係している。Berthold and Benton (1970a) は、一方の通路を暗くした Y 字管を用いて、女王

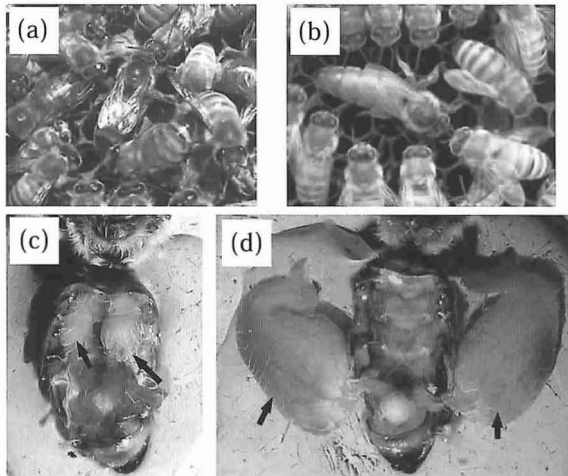


図 1 セイヨウミツバチの未交尾女王蜂と既交尾女王蜂とその卵巣 矢印は卵巣を示す。

未交尾女王蜂 (a) の卵巣は未発達な状態に留められているが (c)、交尾を行うと卵形成の過程が進む (d)。

交尾によって大顎腺フェロモンの生合成量が増加し、組成も変化するため、既交尾女王蜂の周囲には働き蜂によるローヤルコートが形成される (b)。

表1 セイヨウミツバチ女王蜂の交尾前後に見られる変化

形質等	交尾前	交尾後	文献
生理学的変化			
卵巣	未発達	発達	Patricio and Cruz-Landim, 2002
血中ピテロジェニン濃度	低い	高い	Engels et al., 1990
QMP 合成量	低い	高い	Engels et al., 1997; Richard et al., 2007
働き蜂による追従行動	弱い	強い	Kocher et al., 2009
血中アミノ酸	少ない	多い (特にプロリン)	Hrassingg et al., 2003
キノコ体のニューロパイル: ケニオン細胞容積比	低い	高い	Fahrbach et al., 1995
触角葉	小さい	大きい	Arnold et al., 1988
脳内・血中ドーパミン濃度	高い	低い	Harano et al., 2005; 2008b
遺伝子発現の変化			
<i>Amfor</i> (PKG) 発現量	高い	低い	Richard et al., 2007
<i>Amdat</i> (ドーパミントランス ポーター) 発現量	高い	低い	Nomura et al., 2009
行動変化			
交尾飛行	あり	なし	
産卵行動	なし	あり	Ohtani, 1985
巣房のぞき	少ない	多い	Ohtani, 1985
日周リズム	あり?	なし	Free et al., 1992; Harano et al., 2007; Johnson et al., 2010
光走性	負または正	負	Berthold and Benton, 1970a
活動性	高い	低い	Harano et al., 2007
働き蜂からの給餌頻度	低い	高い	Ohtani, 1985
パイピング	あり	なし	

蜂の光走性の変化について報告している。女王蜂にこのY字管を歩かせ、分岐地点で暗い通路と明るい通路を選ばせたところ、出房直後の未交尾女王蜂と、交尾後の女王蜂は暗い通路を選んだが、定位飛行あるいは交尾飛行に出巣しようと巣門まで出てきた女王蜂は、明るい通路を選んだ。光走性の負から正への変化は、交尾飛行を行おうとする雄蜂や (Berthold and Benton, 1970a), 外勤活動をはじめた働き蜂でも見られている (Berthold and Benton, 1970b; Ben-Shahar et al., 2003)。暗いコロニー内部から、明るい外環境に出ていくために、正の光走性を獲得するという説明は合理的である。しかし、女王蜂の交尾飛行は 13:30 ~ 15:30 という短い時間帯に限られているので、この光走性の変化は非常に短期的に起こっていると考えるべきだろう。ガラス壁の観察巣箱で

未交尾女王蜂を観察していても、出巣の直前までは巣門からの光にはまったく興味を示さないが、あるとき突然巣内を走り回り、出巣していく。また、定位飛行や充分量の精子を得られなかった交尾飛行から帰ってきた女王蜂は、交尾時間帯であってもしばらくは (多くの場合 1 時間ほどは) 出巣しない。このことから、体内時計やその他の生理状態が交尾飛行への動機付けに関わっており、条件が整ったときのみ正の光走性を示して、出巣すると考えられる (図 2)。

生体時計、とくに約 24 時間のリズムを示す概日時計は、日周変動する環境に適応しなければならない生物では重要な役割を果たしている。ミツバチの女王蜂も、交尾時刻を知るためにこの概日時計を用いていると考えられている (Sasaki, 1990) が、女王蜂の生涯で概日時計が機能する機会というのは、交尾のときを除い

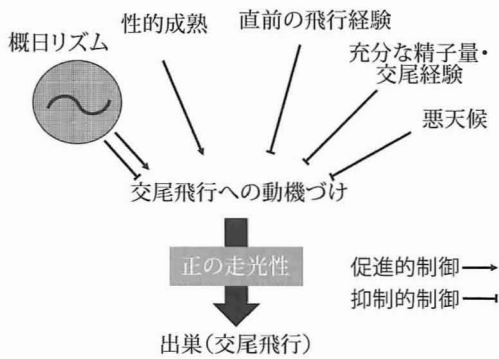


図2 ミツバチ女王蜂の交尾飛行の生起に関わる因子

でありそうもない。実際に Free et al. (1992) や Johnson et al. (2010) は、観察巣箱を用いて既交尾産卵女王蜂の産卵や移動を含む様々な行動を観察しているが、日周リズムは検出されていない。また、女王蜂に追従してローヤルコートを形成する若い働き蜂の数にも日周変化は確認されていない。女王蜂への追従行動は、女王蜂が分泌する大顎腺フェロモン (QMP) によって解発されるため、この結果は女王蜂のフェロモン生合成にも日周期性がないことを示唆している。これらの結果は、既交尾女王蜂で概日時計が失われてしまっていることを意味しているのだろうか？ この問題に取り組むために、私たちは、女王蜂を 12L:12D の明暗サイクルで維持した後、全暗条件に移し、その活動リズムを調べた。その結果、未交尾・既交尾女

王蜂共に、弱いながらも 5 日間は約 24 時間周期のリズムを示し続けることが分かった (図 3: Harano et al., 2007)。このとき、環境条件は一定なので、このリズムは概日時計によって生み出されたものと考えられる。すなわち、概日時計は交尾によって失われてはいないのである。では、コロニーの中では既交尾女王蜂に日周リズムが見られないのはなぜなのか？ ゴキブリ (Lin and Lee, 1996; Tsai and Lee, 2000) やアリの仲間 (McCluskey, 1967; McCluskey and Carter, 1969) では、生殖周期の特定の時期や交尾後に活動性リズムが失われることが知られている。これらの種でも、やはり概日時計そのものを失ってしまっているのではなく、概日時計の振動は継続しつつも、それが行動に反映されなくなるため、活動性にリズムが見られなくなるようだ (Sharma et al., 2004)。ミツバチの既交尾女王蜂で、同様のしくみがあるのかどうかについては、今後の研究を待ちたい。

活動性そのものは、交尾後に減少することがわかっている (図 4: Harano et al., 2007)。未交尾女王蜂が産卵女王蜂よりも活発に歩き回るのは、経験的に知られていたが、私たちは、シャーレを利用したサーキット (図 4 左) を用いて、様々な日齢の女王蜂の自発的な活動レベルを定量的に測定した。出房後間もない女王蜂の活動性は低かったが、加齢に伴って増加し、

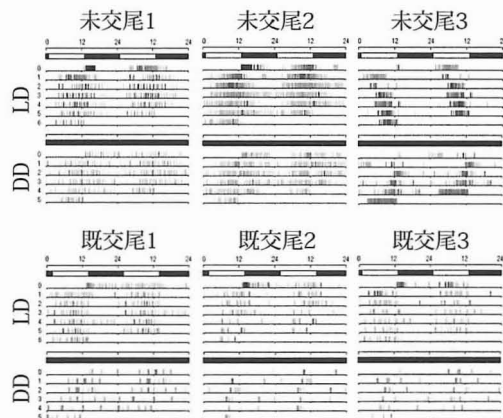


図3 活動リズム解析用の装置であるアクトグラフ (左: 赤外線センサーにより、活動が記録される) とセイヨウミツバチ未交尾および既交尾女王蜂の活動パターン (右: ダブルプロットで示したもの) 縦線はアクトグラフによって活動が検知されたことを表す。未交尾・既交尾女王蜂を 12L:12D の明暗サイクルで 5~6 日維持した後、全暗 (DD) 条件下に移し、活動リズムを測定した。DD での周期的な活動は、概日リズムの存在を示す。Harano et al. (2007) より改変。

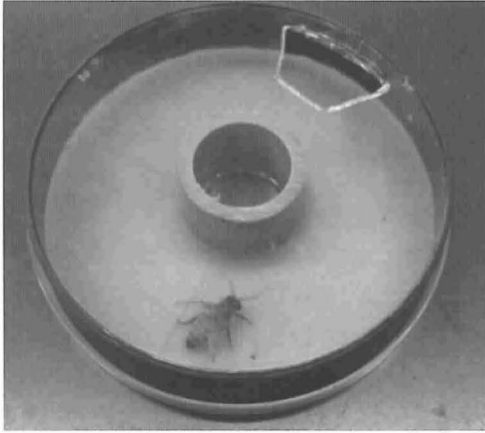
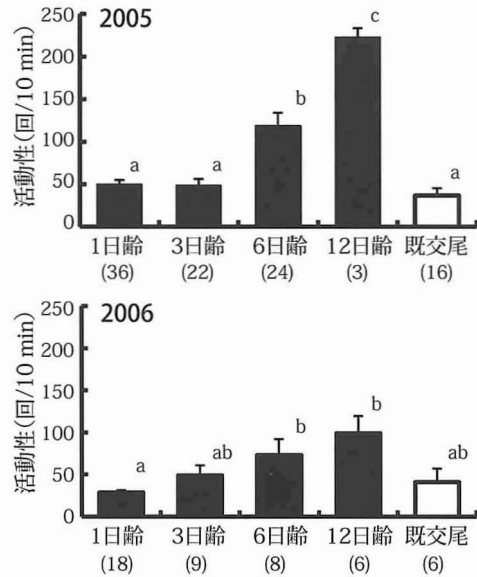


図4 セイヨウミツバチ女王蜂の活動性の変化
(左) 活動性の定量に用いたサーキット。落ち着かせた状態で活動性を測定するため、床は蜂ろうでコーティングし、測定時には赤色のアクリル板で覆った。4つに区切った区画を移動した回数で活動性を評価。写真は働き蜂。(右) 日齢および交尾状態と活動性の関係。2005年(上段)と2006年(下段)のデータ。黒棒は未交尾、白棒は既交尾女王蜂。カッコ内はサンプル数。縦線は標準誤差。Harano et al. (2007) より改変。



交尾飛行を行う12日齢の個体では高い活動性を示した。一方で、産卵女王蜂の活動性は低く、ほぼ出房直後の個体と同様のレベルを示した。このことから、交尾後に活動性の減少があることは明らかである。1～3か月齢の産卵女王蜂ではすでに活動性の減少が見られるが、この減少が起きるタイミングの詳細はまだ調べられていない。活動性の減少を引き起こしている要因を特定するためにも、このタイミングを明らかにすることは重要である。

交尾前後には、女王蜂の体重と体内の水分量が変化する(図5: Harano et al., 2007)。女王蜂の生体重は出房直後では平均約210 mgであったが、加齢に伴って減少し、12日齢までにその23%を失った。飛行中に消費されるエネルギーは体重の関数であり(Wolf et al., 1989)、軽い体は飛行能力の向上に貢献するであろうことを考えると、交尾飛行へ向けて水分を失い、生体重を減少させることは、未交尾女王蜂に有利に働くはずである。こういった飛行前の生体重の減少は、エンドウヒゲナガアブラムシ *Acyrtosiphon pisum* の有翅虫でも知られている(Kobayashi and Ishikawa, 1993)。私たちの結果では、加齢に伴って乾重量はわずか

に増加していたことから、セイヨウミツバチ女王蜂における生体重の減少は、体内から水分が失われたためであることがわかる。この水分が体内のどの部分から失われているかは明らかではないが、体液をサンプリングすると、水分含量の少ない日齢の女王蜂からは少量しか採取できないことから、喪失される水分の少なくとも一部は体液を構成しているものであると考えられる。産卵女王蜂は、生体重・乾重量ともに未交尾女王蜂に較べて増加しているが、これは卵

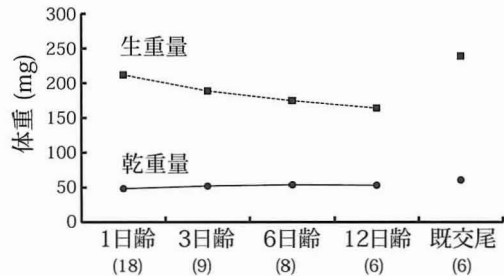


図5 セイヨウミツバチ女王蜂の体重変化
1～12日齢は未交尾。既交尾女王蜂は1年齢。未交尾女王蜂の乾重量は加齢とともにわずかに増加するが(ANOVA, $P < 0.05$)、生重量は大きく減少する(ANOVA, $P < 0.001$)。交尾飛行に備えて、体内の水分を減少させて体を軽くしている可能性がある。

巢の発達のためであろう。交尾前に失われた水分が、交尾後に回復しているかどうかはわかっていない。

卵巣の発達と産卵の開始

卵巣の発達とそれに伴う産卵行動の発現は、交尾後の変化の中でも顕著なものの一つである。交尾を行った女王蜂は、卵巣を発達させ(図1) 3日ほどで産卵を開始する。しかし、女王蜂の卵形成は交尾後に突然始まるのではなく、その初期段階は交尾前にも進んでいる。羽化直後の未交尾女王蜂の卵巣小管中には、未分化な生殖細胞しか見られないのに対し、羽化後8日齢ほどになると、卵母細胞 oocyte と保育細胞 nurse cell の分化が確認できるようになり (Patricio and Cruz-Landim, 2002), 交尾前でも卵胞 follicle 形成がみられる (Tanaka and Hartfelder, 2004)。この卵胞は卵黄タンパクの前駆体であるピテロジェニンの取り込みを行う前の状態で留められており、その先の段階には進まない。交尾を終えた女王蜂では、卵胞がピテロジェニンの取り込みを始め、卵巣は成熟卵を持つようになるが、12～15日齢になっても交尾が行われなかった場合には、卵母細胞と保育細胞の分化途中の生殖細胞

に、プログラムされた細胞死 programmed cell death や細胞の再吸収 cell reabsorption が起こる (Patricio and Cruz-Landim, 2002; Tanaka and Hartfelder, 2004)。有王群の働き蜂も、ピテロジェニン取り込み前の卵胞までは形成するが、老齢の未交尾女王蜂同様に細胞死が起こっており、その先の段階には進まない (Tanaka and Hartfelder, 2004)。無王群では、働き蜂でも卵形成の過程が進み、卵巣を発達させるが、この過程を進ませるキューとなる刺激が女王蜂と共通しているのかどうかは不明である。

交尾前に卵胞によるピテロジェニンの取り込みが行われないのは、未交尾女王蜂の血中にピテロジェニンがないからではない。ピテロジェニンは脂肪体で合成され、血中に放出される。未交尾女王蜂のピテロジェニン生合成速度は、羽化直後ですえ、有王働き蜂のピーク時 (8～16日齢) の4倍ほどもある (Engels et al., 1990)。おそらく、交尾はピテロジェニン取り込みの引き金を引くことで、卵巣の発達を開始させているのだろう。ピテロジェニン合成速度は交尾後に2倍に急増することから、交尾はピテロジェニンの取り込みと同時に生合成も促進するようである (Engels et al., 1990)。交尾は、血中の遊離アミノ酸の量を増加させる

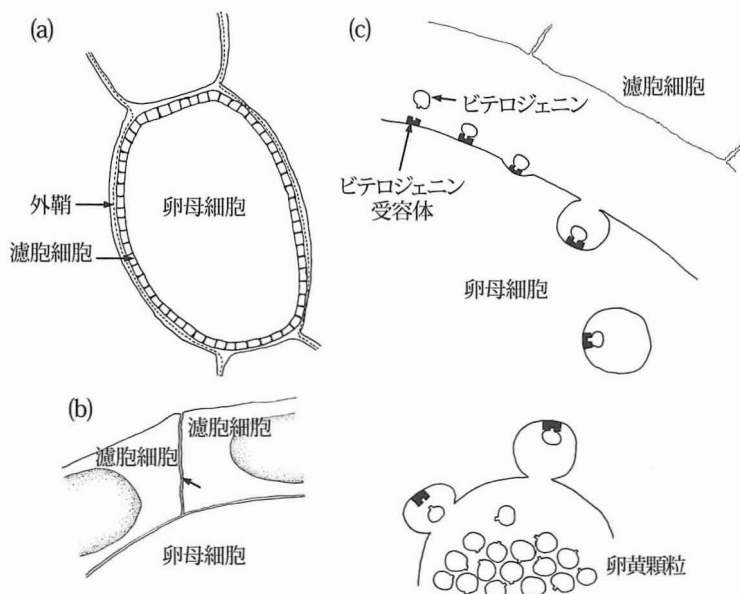


図6 昆虫の卵母細胞へのピテロジェニンの取り込みについての模式図

(a) ピテロジェニン取り込み前の卵胞。簡略化のため、保育細胞等を省略して描く。(b) ピテロジェニンを通過させるための、濾胞細胞間につくられた細い通路(矢印)。Raikhel and Dhadialla (1992) Fig.1 を基に描く。(c) 卵母細胞への受容体を介したピテロジェニンのエンドサイトーシス。実際には、1分子ずつではなく、多くの分子が同時に小胞内に取り込まれる。Raikhel and Dhadialla (1992) Fig.3 を大幅に改変。

ことが示されており (Hrassnigg et al., 2003), これらのアミノ酸がピテロジェニン合成や卵生産に関わっている可能性がある。しかし, 交尾後に最も大きな増加を示すプロリンは, 働き蜂や雄蜂でも主要な遊離アミノ酸であり, 他の昆虫では飛行用の燃料としての役割が示唆されていることから, 卵の材料としてよりも, 卵生産のためのエネルギー源などとして用いられているのかもしれない。

ミツバチにおける卵胞へのピテロジェニン取り込み過程の詳細は明らかではないが, ネットアイシマカ *Aedes aegypti* やセクロピアサン *Hyalophora cecropia* などを材料に, その研究がすすんでいる (総説 Raikhel and Dhadialla, 1992)。昆虫の卵胞は, 卵母細胞を取り巻く単層の濾胞細胞 follicle cell とその外側からこれらを含み込む外鞘構造 follicular sheath (basal lamina または tunica propria) からなる (図 6a)。ピテロジェニンが卵母細胞に取り込まれるためには, まずこの外側の構造を通過しなくてはならない。卵胞の外鞘は篩状の構造になっており, ピテロジェニンはこれを容易に通過することができるが, 濾胞細胞層を通過するためには特別なしくみが必要である。濾胞細胞層には, 細い通路 interfollicular channel が開いており, そこを広げることでピテロジェニンを通過させる (図 6b)。この通路を通して, 卵母細胞表面にたどり着いたピテロジェニンは, 受容体介在型のエンドサイトーシスで卵母細胞に取り込まれると考えられている (図 6c)。このタイプのエンドサイトーシスは, ピテロジェニンのような大きな分子を細胞内に取り込むしくみとして, 広い分類群でよく見られる現象のようである (Raikhel and Dhadialla, 1992)。ミツバチの女王蜂では, 交尾による刺激がこういった過程を促進し, ピテロジェニンの取り込みを進めていると考えられる。

ミツバチの女王蜂は, 働き蜂からタンパク質を多く含むローヤルゼリーを口移し (栄養交換) で与えられることで, 大量の造卵を可能にしているが, 交尾前の栄養交換頻度は, 交尾後と比べると低い (Ohtani, 1985; 原野, 未発表:

図 7) このような給餌頻度の変化を起こす要因としては, 女王蜂からの要求だけではなく, 大顎腺フェロモンの変化 (下記参照) が働き蜂の反応を変えていることも考えなければならないだろう。

産卵は, 交尾後に卵巣が発達してから開始されるので, 当然のことながら産卵関連行動にも交尾前後で違いが見られる。女王蜂が産卵するときには, 一連の行動パターンをとる。まず, 巣房に頭部と胸部を挿入し, 中を覗き込む (巣房のぞき)。もし, 巣房が空で育児に相当そうであれば, 女王蜂はその巣房に腹部を挿入し, 産卵を行う。セイヨウミツバチの女王蜂では, 交尾前にも巣房のぞき行動は見られるが, その頻度は産卵行動の頻度と共に交尾後に著しく増加する。未交尾女王蜂は, 実際の産卵を伴わな

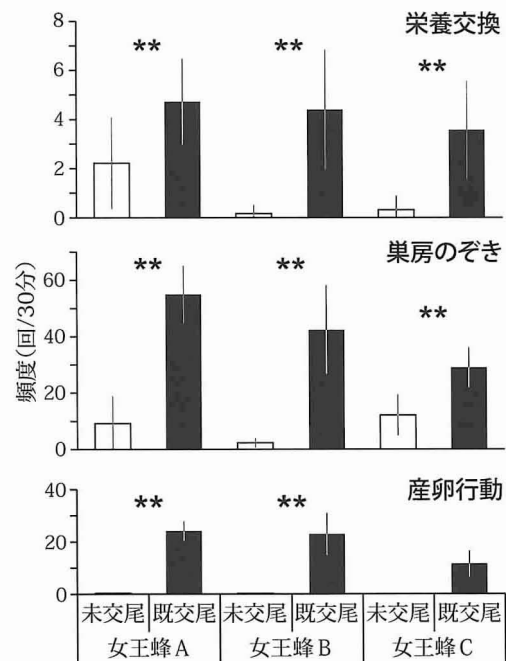


図 7 セイヨウミツバチ女王蜂の交尾後の行動変化
ガラス観察巣箱を用いて, 異なるコロニーの 3 匹の女王蜂について, 30 分間の連続観察を交尾前と交尾後にそれぞれ 18 回行った結果を示す。既交尾女王蜂の観察は, 産卵開始後に行った。観察時の日齢は, 未交尾 2 ~ 6 日齢, 既交尾 12 ~ 20 日齢。縦線は標準偏差。それぞれの個体で, 3 つの行動全てにおいて, 交尾後に有意な増加がみられた (t-検定, $P < 0.01$)。ただし, 女王蜂 C については, 未交尾時に産卵行動がまったく観察されなかったため, 検定を行っていない。

い産卵行動（巣房への腹部の挿入）を行うことがあるが、それはごくまれにしか観察されない（図7）。

フェロモンの生合成

ミツバチの女王蜂は、働き蜂とは異なる様々なフェロモンを分泌している。その中でも、女王蜂の大顎腺フェロモン（QMP）は、コロニーの統合と働き蜂の行動の調節に中心的な役割を果たしていることが知られている。QMPは9-オキソ-(E)-2-デセン酸(9-ODA)、(R)-および(S)-9-ヒドロキシ-(E)-2-デセン酸(9-HDA)、メチルp-ヒドロキシ安息香酸エステル(HOB)および4-ヒドロキシ-3-メチオキシフェニルエタノール(HVA)から構成される混合物である(Slessor et al., 1988)。QMPは、コロニー内の働き蜂に産卵能力のある女王蜂が存在することを示すオネストシグナルとして働くと考えられており(Oldroyd and Wongsiri, 2006)、働き蜂に女王蜂への追従行動 *retinue behavior*（ローヤルコート形成）を引き起こさせる(Slessor et al., 1988; Kaminski et al., 1990; Pankiw et al., 1994; 1995)ほか、働き蜂の卵巣発達の抑制(Butler and Fairey, 1963; Hoover et al., 2003)、新女王蜂生産の抑制(Pettis et al., 1995a; Melathopoulos et al., 1996)、採集活動と育児の促進(Higo et al., 1992; Pettis et al., 1995b; Pankiw et al., 1998)などの機能をもつ。QMPは雄蜂に対して誘引性を持つことから(Gary, 1962)、交尾時においても重要な役割を担っていると考えられる。

羽化後のセイヨウミツバチ女王蜂のQMPの量的変化については、Slessor et al. (1990)とEngels et al. (1997)によって独立に調べられている。QMPを構成する各成分は、羽化個体ではほとんど検出されないが、すくなくとも交尾を行う日齢までは加齢にしたがって大きく増加するという点はどちらの研究でも共通している。しかし、交尾の影響については、結果が異なっている。Engels et al. (1997)では、未交尾の8日齢に比べて、交尾を終えた10日齢の女王蜂で、9-ODAが大きく増加しているのに

対し、Slessor et al. (1990)では、12日齢の未交尾女王蜂と交尾後1日の既交尾女王蜂では、どの成分に関しても大きな差は認められなかった。この不一致により、QMPの生合成が交尾の影響を受けるかどうかは結論されていなかった。そこで近年、Richard et al. (2007)はこの問題に人工授精技術を用いて取り組み、QMP生合成における交尾の重要性を指摘した。彼らは、同日齢の未交尾女王蜂、1匹の雄の精子1 μL を授精させた女王蜂(SDI)、10匹の雄の精子10 μL を受精させた女王蜂(MDI)の大顎腺内容物を分析・比較した結果、9-ODA、9-HDA、HVAの量が未交尾 < SDI < MDIの順で高くなっていることを見出した。このことから、QMP生合成が交尾および受精された物質の影響を受けることが強く示唆される。QMP生合成の違いは、働き蜂の女王蜂への追従行動としても評価され、有意な差が検出されている。また、受精量の違いは遺伝子発現にも影響を与えていることが示されている(後述)。Richard et al. (2007)の研究はセイヨウミツバチを対象としているが、Plettner et al. (1997)がトウヨウミツバチ *A. cerana*の未交尾女王蜂と既交尾女王蜂のQMPを比較したところ、有意な差は検出されなかった。これが、サンプルサイズが十分でない(n=8, 7)ためなのか、あるいはトウヨウミツバチがセイヨウミツバチと異なるしくみを持っているためなのかは未だ不明で、アジアのミツバチについてのより一層の研究が望まれる。

その他の変化

ミツバチのコロニーでは、新女王蜂が生産される際には数匹～十数匹の新女王蜂候補が育てられることがしばしばある。これらの新女王蜂候補は、二次分蜂で母巢を離れる場合を除いて、他の女王蜂を排除しない限り、次世代の女王蜂になることはできない。この競争では、新女王蜂候補は、勝ち残ればコロニーの繁殖をすべて引き受けられるので、高い適応度を獲得できるが、負けは死を意味し、直接適応度をすべて失うことになる。そのため、未交尾女王蜂は、こ

の競争に様々な形で適応している (Bernasconi et al., 2000; Harano et al., 2004ab; 原野 2005; Gilley and Tarpy, 2005; Harano et al., 2008a). いったん競争に勝ち抜き、交尾を成功させれば、以後このような競争にさらされることはないの、競争へ適応した形質が、交尾前後で変化している可能性はある。そのひとつの例が、クイーンパイピングに見られるかもしれない。未交尾女王蜂は、トゥーティングとクワッキングと呼ばれる胸部の筋肉を収縮させることで出す2種類の音を用いて、お互いに鳴き交わすことが知られている (Michelsen et al., 1986). この行動の意義については様々な議論があるが、他の女王蜂候補の出房を遅らせたり (Grooters, 1987), 働き蜂からの攻撃的行動を回避する機能が示唆されており (Gilley, 2001), 何らかの形で新女王蜂間の競争に関わっていると考えられる。未交尾女王蜂のクイーンパイピングは、巣箱を開けたり、多数の未交尾女王蜂を研究室内で個別維持したりするときに、比較的良好に聞くことができるが、既交尾女王蜂での報告はなく、交尾後に消失する行動であると思われる。

このような交尾をきっかけに起こる変化のすべてが、必ずしも同時に起こるわけではない。たとえば、交尾を行っても十分な精子を受け取らなかった女王蜂は、交尾飛行をやめずにその後何日間かにわたって出巣をつづけるが、このような行動的には変化がみられない女王蜂においても、ピテロジェニン遺伝子の発現量は産卵女王蜂同様のレベルまで上昇しており、卵巣はすでに発達を開始している (Kocher et al., 2008). このことから、交尾に伴う女王蜂の変化が一元的ではなく、複雑な制御を受けていることがうかがわれる。

変化の基盤となるメカニズム

ミツバチにおける交尾は女王蜂に様々な刺激をもたらす。たとえば、女王蜂は性成熟まで巣内に留まっているため、交尾飛行時には外界からのまったく新しい刺激を受容することになる。また、交尾時に挿入された雄の生

殖器は、女王蜂の生殖器を押し広げることで物理的な刺激を与える。雄によって女王蜂体内に射出された精液も、物理的あるいは化学的な刺激として受容されるかもしれない。このような交尾に関連した刺激が神経系と内分泌系に働きかけ、時には遺伝子発現を通じて、前述のようなさまざまな変化を女王蜂にもたらすと考えられる。

変化を引き起こす刺激

女王蜂は定位飛行・交尾飛行中に、太陽光や視界に映る景色、低温の空気、飛翔筋を動かすための神経系の活動などによる刺激を受ける。働き蜂では、採餌経験が外勤蜂型の脳への発達を促すことが示唆されている (Farris et al., 2001). 女王蜂でも同様に、飛行による刺激が女王蜂の交尾に伴う変化を引き起こすのだろうか? Fahrback et al. (1995) は、この問いに部分的に答えている。彼女らは、ほぼ同日齢の自然交尾女王蜂、飛行経験のない人工授精女王蜂、未交尾女王蜂の脳を比較し、その構造変化には飛行よりも受精嚢内の精子の存在などがより大きな影響をあたえていると考察している (詳細は後述)。

女王蜂が受け取った精子 (液) の量を認識するためのしくみとしては、輸卵管のストレッチレセプターを含むメカニズムが推測されている。交尾時に雄蜂によって女王蜂に受け渡された精子は、まず中央あるいは側部輸卵管に一時的に貯められ、その後受精嚢に移動する (総説 Page, 1986). このときに、輸卵管壁は受け取った精子量に応じて伸長すると考えられるため、その伸長度合をストレッチレセプターが感受し、神経系など通じて女王蜂の変化を引き起こしているのかもしれない。輸卵管のストレッチレセプターはまだ同定されていないが、同様のメカニズムは他の昆虫で知られている (Nijhout, 1984). Richerd et al. (2007) は、人工授精で女王蜂に注入された精液の量によって、女王蜂の QMP 生合成、遺伝子発現、女王蜂に対する働き蜂の追従行動が影響を受けることを示した。この結果は、女王蜂が何らか

の形で受け取った精液の量をモニターしていることを示唆している。

一方で、飛行や雄蜂との交尾が卵巣発達などの変化を引き起こすのに重要な刺激を与えていることを示唆する結果もある。Kaftanogle and Peng (1982) は自然交尾した女王蜂と二酸化炭素処理をした未交尾女王蜂および人工授精女王蜂が、各処理または交尾から産卵を始めるまでにかかる日数を測定した。自然交尾女王蜂は、二酸化炭素処理をした未交尾女王蜂や人工授精女王蜂に比べて、4-5日早く産卵を開始した。最近の Kocher et al. (2009) による報告も、精液の存在以外にも交尾後の変化を引き起こす要因があるという考えを支持している。彼らは、自然交尾女王蜂と人工授精女王蜂の卵巣発達および QMP の成分構成と働き蜂への作用を比べた結果、交尾あるいは人工授精 2 日後の個体では、受精の方法はこの 3 つの要素全てに影響を及ぼし、人工授精女王蜂の値は、未交尾女王蜂と自然交尾女王蜂の中間を示すことを報告した。

上で述べた研究で用いられているように、人工授精はどのような刺激が交尾後の変化を引き起こしているのかという問題を解決する上で有用な技術である。人工授精した女王蜂は、交尾飛行の経験がなくとも卵巣を発達させ、自然交尾の女王蜂と同様にコロニーを維持することが出来る。しかし、人工授精によって交尾後に見られる変化が観察されたとしても、飛行や雄蜂との交尾経験が重要ではないとは言いきれない。注意しなくてはならないのは、多くの場合、人工授精時に女王蜂を二酸化炭素で麻酔しているという点である。二酸化炭素麻酔はミツバチ女王蜂の卵巣発達の引き金を引いたり (Mackensen, 1947; Engels et al., 1976)、交尾飛行を行う頻度を引き下げたりする (Woyke et al., 1995) だけではなく、交尾後に起こる脳内の生理的变化を引き起こす (Harris et al., 1996)。そのため、人工授精された女王蜂では、精液の注入による刺激に加えて、二酸化炭素によるアーティファクトが生じている可能性が高い。このような実験では、二酸化炭素麻酔の効

果がどの程度現れているのかを示すコントロールが必要であるが、ほとんどの研究ではこの点が考慮されていない。

受精時には精子の他に雄の付属腺 mucus gland 由来の分泌物も女王蜂の生殖器官の中に射出される。この分泌物の一部は、射出されるとすぐに凝固し、交尾後も雄の内陰茎 endophallus や cornual gland 分泌物と共に交尾標 mating sign を形成して、女王蜂の針室内に残る。ミツバチの交尾標は、次に交尾しようとする雄によって容易に取り除かれてしまうので、雄による配偶者ガードのための交尾プラグではないと考えられている。ショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* では、雄の付属腺分泌物に含まれる物質がメスの交尾受容性や卵形成、排卵などに影響を及ぼすことが知られている (総説 Chapman, 2001)。セイヨウオオマルハナバチ *Bombus terrestris* の雄も付属腺分泌物からなる交尾プラグを形成するが、ここに含まれるリノール酸が雌の交尾受容性を著しく低下させる (Baer et al., 2001)。これらの報告から、ミツバチ雄蜂の付属腺分泌物にも女王蜂の生理状態や行動に影響を及ぼす因子が含まれている可能性が考えられてきた。しかし、今のところミツバチの雄付属腺分泌物がそのような効果を持つという証拠は得られていない。Colonnello and Hartfelder (2005) は、セイヨウミツバチの雄蜂分泌腺の水抽出物を女王蜂の生殖腔 genital cavity に注入したところ、卵形成への影響は観察されなかったが、女王蜂の生存率が濃度依存的に減少することを報告している。彼らは、付属腺分泌物が形成する交尾プラグは次に交尾する雄蜂によって、あるいはコロニーに帰還したときに働き蜂によってすぐに取り去られるため、自然条件下ではこの成分が女王蜂の健康に悪影響を及ぼすことはなく、むしろ抗菌作用により女王蜂が病気に感染するのを防いでいるのではないかと考察している。Kocher et al. (2009) も、人工授精技術によって精液を注入した女王蜂と生理食塩水を注入した女王蜂で、卵巣や QMP を比較しているが、有意な違いは検出されていない。

脳の構造

女王蜂は交尾後に様々な行動変化を見せることから、交尾経験が女王蜂の脳を変化させている可能性が考えられる。実際、女王蜂の脳—特にキノコ体と触角葉—の構造は交尾後に変化しているという報告がある (Arnold et al., 1988; Fahrbach et al., 1995)。昆虫の脳は、ニューロパイルと呼ばれる樹状突起と軸索で構成された機能的なコンパートメントと、それらの細胞体が塊状に存在する部分に大きく分かれる (図8)。ニューロパイルには、嗅覚情報の一次処理領域である触角葉 *antennal lobe*、視覚情報の一次処理領域である視葉 *optic lobe*、それらの入力情報を処理し、記憶や学習などの脳の高次機能を担うキノコ体 *mushroom body* などがあり、それぞれ異なる機能を持つと考えられる。働き蜂では、脳の構造は加齢や経験などによって変化することが知られており、とくに内勤蜂から外勤蜂に移行する際の脳の構造変化については精力的な研究が行われてきた。若い働き蜂のキノコ体は、ニューロパイル部分とその細胞体であるケニオン細胞の容積はほぼ等しいが、採餌蜂になるとケニオン細胞領域が減少し、ニューロパイルが増大するためキノコ体ニューロパイル:ケニオン細胞の体積比は約2:1になる (Withers et al., 1993)。この変化は、高度な情報処理を必要とする採餌のために必要であると考えられているが、女王蜂でも交尾に伴って、キノコ体の構造に変化が起きているのだろうか？

Fahrbach et al. (1995) は日齢および交尾条件の異なる女王蜂のキノコ体の体積を測定することで、この問題に取り組んだ。その結果、女王蜂のキノコ体も働き蜂のそれと同様に、加齢によってケニオン細胞容積が減少しニューロパイル容積が増大することが明らかになった。また、ほぼ同日齢の未交尾女王蜂と既交尾女王蜂、人工授精女王蜂におけるキノコ体ニューロパイルのケニオン細胞に対する体積比を比較すると、未交尾女王蜂がわずかではあるが有意に低いことから、交尾によってその変化が促進されるとしている。

交尾後の脳の構造変化は、嗅覚情報の一次処理領域である触角葉でも起きている。Arnold et al. (1988) は、8日齢の未交尾女王蜂と1年齢の産卵女王蜂の触角葉を組織学的に調べ、前者にくらべて後者の総体積や糸球体体積が50%近く増加し、女王蜂特異的な構造である巨大糸球体 *macroglomerulus* の体積も60%以上増加していることを報告している。

アリの仲間では、交尾後にみられる女王の脳の構造変化は、より顕著である。視髄 *medulla* とよばれる視葉の構造は、クロナガアリの1種 *Messor pergandei* の女王では、交尾後3~5日の間に未交尾個体と比べて20%も減少する。シュウカクアリ属の *Pogonomyrmex rugosus* の女王では、交尾後の変化はより長期的に起こり、5か月後には未交尾の同月齢個体とくらべ、視髄の体積は半分以下にまで減少する (Julian and Gronenberg, 2002)。こ

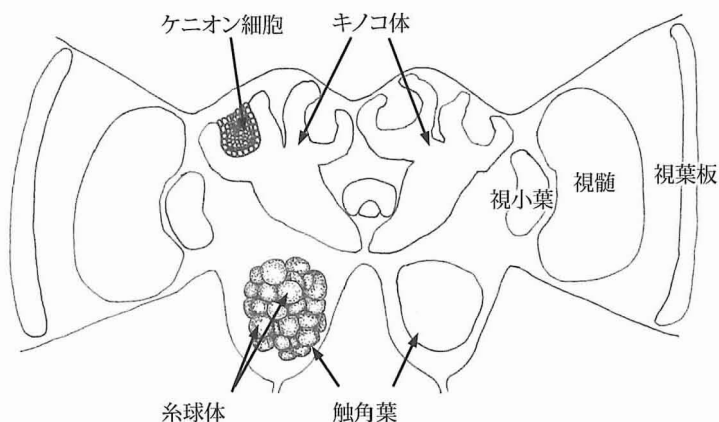


図8 ミツバチの脳の模式図

のような既交尾女王における脳の構造変化と、交尾後の行動変化との関係は不明であるが、不要な組織を退縮させることで、エネルギー代謝を抑えることができるのではないかと考察されている。アリの女王は一度交尾をすると翅を落とし、二度と飛行を行うことはない。しかし、ミツバチの場合は、繁殖分蜂や逃去の際には既交尾女王蜂も飛行を行わなくてはならず、そのときには脳を含む身体の状態を未交尾女王蜂に近いものに戻している可能性がある。ミツバチの女王蜂がアリの女王のような劇的な脳の構造変化を見せないのは、このような生態学的な理由によるものなのかもしれない。

脳の生理状態

脳の生理状態を変えることは、おそらく構造変化よりも少ないコストで実現可能であり、可塑性を維持しながら機能に変化を与えるには良い方法であると思われる。私たちの研究グループは、脳内で神経伝達物質や神経修飾物質、神経ホルモンとして働き、生理状態や行動の制御に関する生体アミン類に注目して、このような脳の生理的变化が女王蜂で起きていないか調べた。その結果、脳内のドーパミン量は羽化1日前から交尾までは高いレベルで維持されているが、交尾をきっかけにしてほぼ半分の量まで減少することを発見した (Harano et al., 2005, 2008b: 図 9)。ドーパミンは神経細胞から放出されて受容体に結合した後、細胞外に存在する酵素の働きで、*N*-アセチルドーパミンへと代謝されるか、前シナプス神経膜に発現しているドーパミントランスポーターによって、細胞内に再取り込みされる。交尾後は、この代謝産物の量だけではなく、ドーパミントランスポーター遺伝子の発現量も減少している (Nomura et al., 2009) ことから、交尾後の女王蜂では、ドーパミン神経の働きが抑えられ、その神経終末からのドーパミンの放出が減少していることが示唆される。この物質は、セイヨウミツバチの産卵働き蜂を含む数種の昆虫で、卵巣の発達を促進させることが知られている (セイヨウ

ミツバチ: Harris and Woodring, 1995; Sasaki and Nagao, 2001; Dombroski et al., 2003; アシナガバチ: Sasaki et al., 2007; 2009; ヒアリ: Boulay et al., 2001; ショウジョウバエ: Neckameyer, 1996)。しかし女王蜂では、卵巣は交尾後に発達するので、ドーパミン量と卵巣発達はパラレルな関係にはない。そこで私たちは、交尾後のドーパミンの減少は、卵巣発達以外の変化に関わっているのではないかと考え、次のような実験を行った。

ドーパミンは卵巣発達以外にも、記憶・学習、化学的・機械的刺激の受容や運動の制御などに関わることが、働き蜂では知られてい

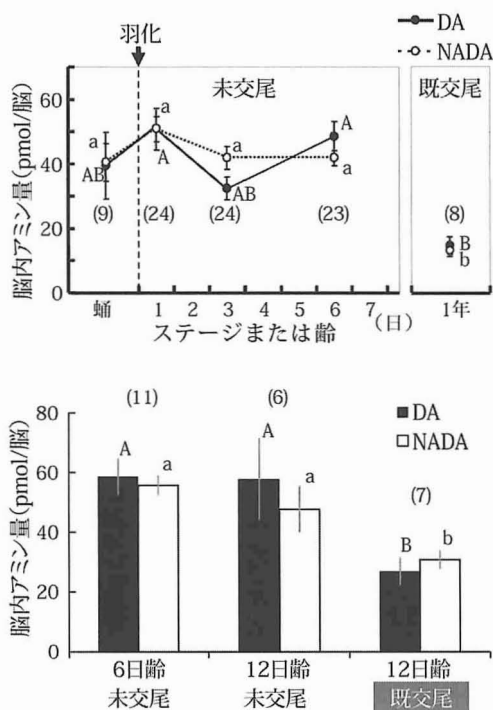


図9 セイヨウミツバチ女王蜂の脳におけるドーパミン (DA) およびその代謝産物 *N*-アセチルドーパミン (NADA) の日齢および交尾状態による変化 (上) 脳内での2つの物質の量は、蛹期後期から交尾前の期間中には比較的多いが、既交尾産卵女王蜂では少ない (Tukeyの検定, $P < 0.05$)。蛹: 羽化1日前。既交尾女王蜂: 約1年齢。縦線は標準誤差。カッコ内の数字はサンプル数。Harano et al. (2008b) より改変。(下) 日齢をそろえての比較。同日齢でも脳内のDAおよびNADA量は既交尾女王蜂で有意に少ない (FisherのPLSD検定, $P < 0.05$)。縦線は標準誤差。カッコ内の数字はサンプル数。Harano et al. (2005) より改変。

る (Mercer and Menzel, 1982; Macmillan and Mercer, 1987; Menzel et al., 1999; Scheiner et al., 2002; Vergoz et al., 2007; Mustard et al., 2010). その中でも、脊椎動物から昆虫までの幅広い分類群で保存されている機能に、活動性亢進作用がある。先に述べたように、女王蜂は交尾後にその活動性を減少させる。この行動変化がドーパミンレベルの変化と関係しているかどうか調べる目的で、私たちはドーパミン受容体に作用する薬剤を女王蜂に注射する実験を行った。すると、ドーパミン受容体アンタゴニストである *cis* (Z)-Flupenthixol を注射した未交尾女王蜂の活動性は有意に減少し、アゴニストである 6,7-ADTN (2-amino-6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene) を注射した場合は有意な増加が見られた (図 10: Harano et al., 2008b)。このことから、女王蜂でもドーパミンは活動性を制御しており、交尾後の脳内ドーパミン量の減少は、女王蜂の活動性の減少を引き起こす一因となっていると考えられる。ドーパミンの交尾飛行への関与は、同種の雄蜂でも示唆されている。雄の脳内ドーパミンレベルは、飛行開始を促進的に制御している幼若ホルモン (JH) の制御下にあり、飛行を開始する日齢 (7~8 日齢) でピークを示す (Harano et al., 2008c)。さらに、ドーパミンの受容体アンタゴニストおよびアゴニストの注射も、未交尾女王蜂と同様の影響を活動性にあたえる (Akasaka et al., 2010)。このようなことから、ドーパミンは運動系の活性化などを通じて、女王蜂や雄蜂の生理状態を交尾飛行に適したかたちに調整する上で、重要な働きをしているのではないかと予想される。

幼若ホルモンとエクジステロイド

多くの昆虫において、幼若ホルモン (JH) は繁殖、とくに雌の卵巣発達を制御しているが、ミツバチの雌成虫ではこの機能が失われ、その代わりに働き蜂の日齢分業を制御するペースメーカーホルモンとしての機能を獲得している (総説 Robinson and Vargo, 1997; Hartfelder, 2000)。女王蜂における JH の機能は不明だが、

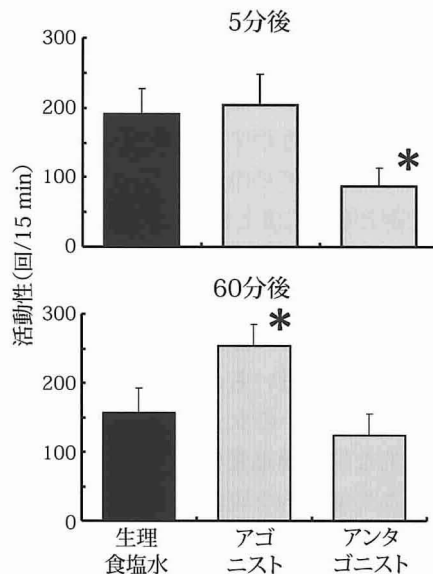


図 10 セイヨウミツバチ未交尾女王蜂における活動性へのドーパミン受容体アゴニストおよびアンタゴニスト注射の影響

注射 5 分後と 60 分後に活動性を測定した。サンプル数はそれぞれの処理について 16。縦線は標準誤差。アスタリスクは、Dunnett の検定で生理食塩水注射区との間に有意差があることを示す ($P < 0.05$)。Harano et al. (2008b) より改変。

その血中濃度は交尾やその後の卵巣発達時にもほとんど変化しないことから (Fahrbach et al., 1995)、繁殖における中心的な役割を担ってはいないと考えられている。雄や働き蜂では、JH が飛行の開始を制御していることが分かっているが (Robinson, 1985; 1987; Giray and Robinson, 1996)、女王蜂の交尾飛行における役割は調べられていない。エクジステロイドも、多くの昆虫で卵形成にかかわっていることが知られており、いくつかの報告では社会性昆虫の繁殖にも関与している可能性が示唆されているが (Robinson et al., 1991; Bloch et al., 2000; Colonello and Hartfelder, 2003)、ミツバチ女王蜂の交尾前後の変化にこのホルモンが関わっているかどうかについての研究はない。

遺伝子発現

交尾に関連した刺激は、直接あるいは間接的に女王蜂のさまざまな遺伝子の発現に影響を与える。Kocher et al. (2008) はマイクロ

アレイ法を用いて、交尾前後の女王蜂の脳および卵巣での遺伝子発現パターンを比較した。脳で発現している 10,468 遺伝子と卵巣で発現している 7,377 遺伝子を調べたところ、それぞれ 971 遺伝子と 366 遺伝子が交尾あるいは産卵開始によって発現量を有意に変化させていた。しかし、交尾後の変化の軸となるような遺伝子の候補はまだ見つかっておらず、これらの遺伝子の働きがどのように、どの変化を引き起こすのかという問題は、今後の課題として残っている。

セイヨウミツバチの *Amfor* 遺伝子はキイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* の *foraging* 遺伝子と相同の遺伝子で、cGMP 依存性タンパク質キナーゼ (PKG) をコードしている。Richard et al. (2007) は、一匹当量の精液 (1 μ L) を人工授精された女王蜂と比べ、10 匹当量の精液 (10 μ L) を人工授精された女王蜂では、脳内 *Amfor* 発現量が有意に減少していることを報告している。自然交尾を行った時にも、この遺伝子の発現量は交尾後に減少するようだ (野村, 未発表)。この遺伝子は、働き蜂では脳 (とくに視葉とキノコ体) で強く発現しており、外勤蜂は内勤蜂より高い発現量を示す (Ben-Shahar et al., 2002; 2003)。また、cGMP の投与が正の光走性を誘導することから、PKG を含む cGMP シグナリング系は飛行開始や外勤化に関与していることが示唆されている (Ben-Shahar et al., 2003)。女王蜂の交尾飛行の開始や停止も、光走性の変化を伴う (Berthold and Benton, 1970a)。十分に精子を受け取った女王蜂によって *Amfor* の発現が下方調節され、cGMP シグナリング系が抑制されることが、交尾飛行の停止に関わっているのかもしれない。

おわりに

交尾前のミツバチの女王蜂では、卵巣の発達は抑制され、コロニーを統合するのに必須のフェロモンも十分に生産されていない。交尾に関連する刺激が、神経系や内分泌系を介して、また遺伝子発現を通じて、様々な形質に変化をもたらすことで、女王蜂は繁殖カーストとしての

役割を果たせるようになる。一方で、働き蜂もコロニーから女王蜂が失われた時には、繁殖の抑制が解け、産卵や女王蜂フェロモン様物質の生産を行う。真社会性昆虫では、繁殖の分業がその社会の基盤をつくっているために、これら 2 つのカーストの繁殖制御機構の解明は、昆虫の社会性を理解する上できわめて重要である。一つの興味深い疑問は、働き蜂の繁殖制御に、交尾前の女王蜂にみられる卵巣発達の抑制と共通のメカニズムが用いられているのか? というものである。働き蜂では、交尾による刺激がないために、その繁殖が抑えられたままなのだろうか? あるいは、まったく異なる仕組みで 2 つのカーストの繁殖は制御されているのだろうか? 今後、このような視点から 2 つのカーストを比較することで、社会性の進化についての理解が進むかもしれない。

謝辞

本稿について貴重なご意見をいただいた金沢工業大学の佐々木謙博士に、深く感謝いたします。

主な参考文献

- Arnold, G., S. Budharugsa and C. Masson. 1988. *J. Insect Morphol. Embryol.* 17: 185-195.
- Berthold, R. and A.W. Benton. 1970a. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 63: 1113-1115.
- Berthold, R. and A.W. Benton. 1970b. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 63: 136-139.
- Colonello, N.A. and K. Hartfelder. 2003. *Apidologie* 34: 257-267.
- Colonello, N.A. and K. Hartfelder. 2005. *Apidologie* 36: 231-244.
- Engels, W., H. Kaatz, A. Zillikens, Z. Simoes, A. Trube, R. Braun and F. Dittrich. 1990. *Advances in Invertebrates Reproduction* 5. pp 495-502.
- Engels, W., P. Rosenkranz, A. Adler, T. Taghizadeh, G. Luebke and W. Francke. 1997. *J. Insect Physiol.* 43: 307-313.
- Fahrbach, S.E., T. Giray and G.E. Robinson. 1995. *Neurobiol. Learn. Memory* 63: 181-191.
- Free, J.B., A.W. Ferguson and J.R. Simpkins. 1992. *Physiol. Entomol.* 17: 43-55.
- Gilley, D.C. and D.R. Tarpy. 2005. *Apidologie* 36: 461-474.
- 原野健一. 2005. *ミツバチ科学* 26: 1-7.
- Harano, K. and Y. Obara. 2004a. *Insect. Soc.* 51:

- 253-258.
- Harano, K. and Y. Obara. 2004b. *Appl. Entomol. Zool.* 39: 611-616.
- Harano, K., K. Sasaki and T. Nagao. 2005. *Naturwissenschaften* 92: 310-313.
- Harano, K., M. Sasaki and K. Sasaki. 2007. *Sociobiology* 50: 189-200.
- Harano, K., Y. Shibai, T. Sonezaki and M. Sasaki. 2008a. *Sociobiology* 52: 31-46.
- Harano, K., M. Sasaki, T. Nagao. and K. Sasaki. 2008b. *Physiol. Entomol.* 33:395-399.
- Harano, K., K. Sasaki, T. Nagao. and M. Sasaki. 2008c. *J. Insect Physiol.* 54: 848-853.
- Harris, J.W. and J. Woodring. 1995. *Comp. Biochem. Physiol.* 111C: 271-279.
- Harris, J.W., J. Woodring and J.R. Harbo. 1996. *J. Apic. Res.* 35: 69-78.
- Hartfelder, K. 2000. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 33: 157-177.
- Hoover, S.E., C.I. Keeling, M.L. Winston and K.N. Slessor. 2003. *Naturwissenschaften* 90: 477-480.
- Hrassnigg, N., B. Leonhard and K. Crailsheim. 2003. *Amino Acids* 24: 205-212.
- Johnson, J.N., E. Hardgrave, C. Gill and D. Moore. 2001. *J. Insect Physiol.* 56: 761-773.
- Julian, G.E. and W. Gronenberg. 2002. *Brain Behav. Evol.* 60: 152-164.
- Kaftanoglu O. and Y.S. Peng. 1982. *J. Apic. Res.* 21: 3-6.
- Kocher, S.D., F. Richard, D.R. Tarpy and C.M. Grozinger. 2008. *BMC Genomics* 9: 232.
- Kocher, S.D., F. Richard, D.R. Tarpy and C.M. Grozinger. 2009. *Behav. Ecol.* 20: 1007-1014.
- Menzel, R., A. Heyne, C. Kinzel, B. Gerber and A. Fiala. 1999. *Behav. Neurosci.* 113: 744-754.
- Mercer, A.R. and R. Menzel. 1982. *J. Comp. Physiol.* A. 145: 363-368.
- Nomura, S., J. Takahashi, T. Sasaki, T. Yoshida and M. Sasaki. 2009. *Appl. Entomol. Zool.* 44: 403-411.
- Oldroyd, B.P. and S. Wongsiri. 2006. *Asian honey bees. Biology, Conservation, and human interactions.* Harvard Univ. Press, Cambridge. pp. 340.
- Page, R.E.J. 1986. *Annu. Rev. Entomol.* 297-320.
- Pankiw, T., Z. Huang, M.L. Winston and G.E. Robinson. 1998. *J. Insect Physiol.* 44: 685-692.
- Pettis, J.S., M.L. Winston and A.M. Collins. 1995a. *Insect. Soc.* 42: 113-121.
- Pettis, J.S., M.L. Winston and K.N. Slessor. 1995b. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 88: 580-588.
- Plettner, E., G.W. Otis, P.D.C. Wimalaratne, M.L. Winston, K.N. Slessor, T. Pankiw and P.W.K. Punchihewa. 1997. *J. Chem. Ecol.* 23: 363-377.
- Raikhel, A.S. and T.S. Dhadialla. 1992. *Annu. Rev. Entomol.* 217-251.
- Richard, F., D.R. Tarpy and C.M. Grozinger. 2007. *PLoS ONE* 2: e980.
- Robinson, G.E. 1985. *J. Insect Physiol.* 31: 277-282.
- Robinson, G.E. 1987. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 20: 329-338.
- Robinson, G.E., C. Strambi, A. Strambi and M.F. Feldlaufer. 1991. *J. Insect Physiol.* 37: 929-935.
- Robinson, G.E. and E. Vargo. 1997. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 35: 559-583.
- Sasaki, K. and T. Nagao. 2001. *J. Insect Physiol.* 47: 1205-1216.
- Sasaki, K., K. Yamasaki and T. Nagao. 2007. *J. Insect Physiol.* 53: 940-949.
- Sasaki, K., K. Yamasaki, K. Tsuchida and T. Nagao. 2009. *Naturwissenschaften* 96: 625-629.
- Sasaki, M. 1990. *Advances in Invertebrate Reproduction* 5: 503-508.
- Slessor, K.N., L.A. Kaminski, G.G.S. King, J.H. Borden and M.L. Winston. 1988. *Nature* 332: 354-356.
- Slessor, K.N., L.A. Kaminski, G.G.S. King and M.L. Winston. 1990. *J. Chem. Ecol.* 16: 851-860.
- Tanaka, E.D. and K. Hartfelder. 2004. *Arthropod Struct. Dev.* 33: 431-442.

KEN-ICHI HARANO. The phenomena and mechanisms of physiological and behavioral changes after mating in honeybee queens. *Honeybee Science* (2010) 28(1): 7-20. Brain Research Institute, Tamagawa University, Machida, Tokyo, 194-8610 Japan.

This article reviews the phenomena and mechanisms of physiological and behavioral changes triggered by mating in the honeybee *Apis mellifera* queens. Queens that received a large amount of semen from drones at mating cease mating flight and start developing ovaries, laying eggs and enhancing pheromone production. Mating also influences the structure and physiological state of queen brain, suggesting that some post-mating changes result from modulation of nervous system. Molecular basis of the changes is being explored by analyzing gene expression in virgin and mated queens. Although juvenile hormone and ecdysteroid are known to regulate some aspects of reproduction in many insect species, there is no evidence indicating the involvement of those hormones in the post-mating changes of honeybee queens.