

ミツバチ未交尾女王のライバル排除戦略 王台破壊の優先順位

原野 健一

ミツバチは単女王制の社会性昆虫である。コロニー構成員のほとんどを占める働き蜂は、採餌、育児、防衛などコロニー維持に関わる仕事を行い、繁殖はただ1匹の女王蜂が担当している。しかし、繁殖期のコロニーにおいては、10～25匹もの新女王蜂が育てられていることもめずらしくはない。コロニーが十分に大きければ、この中の1～3匹は後発分蜂（処女分蜂）により新しいコロニーを創設することもあるが、ほとんどの新女王は巣を受け継ぐために、ライバルである他の新女王を殺して、次世代女王の座を勝ち取ろうとする。

新女王はこのような状況で、ライバルを排除するために2通りの手段を用いることが知られている。まず1つ目は、すでに出房しているライバルに対して行われる「決闘」である。コロニーの中はほぼ完全な暗闇であるにもかかわらず、

新女王は無数の働き蜂の中から女王を識別することができるので（曾根崎, 1988; 佐藤, 1999; Pflugfelder and Koeniger, 2003）、ライバルを認識すると即座に相手に組みつき、毒針を用いて刺し殺してしまう（図1）。しかし、この試みは必ずしも簡単に成功するとは限らず、逆に殺されてしまったり、どうにか相手を倒したとしても大きな怪我をさせられることもある。決闘は非常にリスクの高い危険な手段だといえるだろう。一方、まだ出房していないライバルに対しては、2つ目の手段である「王台破壊」によって、より安全にこれを排除することができる。大顎で王台の側壁に穴をあけ、中の女王を殺してしまうのである。そのため新女王にとっては、できるだけ多くのライバルを、それが出房してくる前に王台破壊によって排除してしまうことが、次世代女王の座を勝ち取る



図1 新女王蜂同士の決闘

ために有利であると考えられる。

ではどのようにしたら、ライバルが出房するまえに王台を破壊していくことができるだろうか？コロニーの中には、蛹になったばかりの王台から出房直前のものまで、発育段階の異なる複数の王台が散在している。このような状況では、出会った王台から手当たり次第破壊していくやり方は、あまり効果的ではない。出房までまだ時間のある若い王台をいくつも壊している間に、より発育の進んだ王台からライバルが出房してきてしまう可能性が高いからだ。曾根崎 (1988) は観察巣箱を用いて、新女王が王台に遭遇してから穴をあけ、そこを離れるまでには 63.5 分間 (5 個体平均) も費やすことを観察している (穴あけには 35.1 分間)。これは、ライバルが出房するのに十分な時間であろう。しかし、もし新女王が出房しそうな王台を見分け、これを先に破壊することができれば、出房してくるライバルの数を最小限に留めることができるかもしれない。本研究では、実際に新女王がそのような行動ルールに則って王台破壊を行っているかどうかを確かめるために、2 つの実験をおこない、その後、出房直前の王台を認識させる手がかりを明らかにするため、さらに 2 つの実験を行った。

材料と方法

供試虫

実験には東京農工大学の実験蜂場で飼育されているセイヨウミツバチ *Apis mellifera* のコロニーを用いた。

実験 1：コロニー内での王台破壊の観察

この実験では、コロニーの中に出房直前の発育段階にある王台とより若い王台があった場合、出房した新女王はどちらを先に壊そうとするかを調べた。女王を取り除いた 4 つの無王養成群を作成し、それぞれの養成群において、プラスチック人工王腕に孵化直後の幼虫を移虫するドゥーリトル養成法 (Laidlaw and Page, 1997) により王台を養成した。ひとつの養成群につき 26 ~ 38 個の王台を養成したが、そ

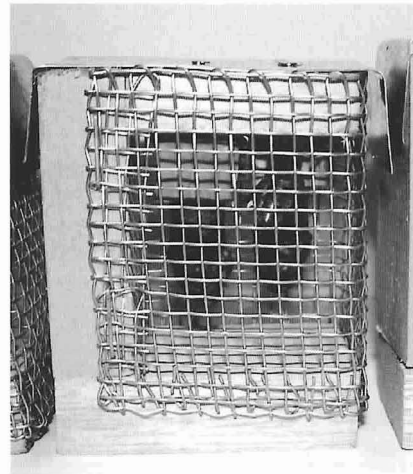


図 2 実験用金網ケージ

のうち約半分の移虫を 2 日間遅らせることで、発育段階が進んだ王台のグループ (「老齢王台」と呼ぶ) と 2 日分遅れたグループ (「若齢王台」) を同一養成群内でつくらせ、これらを新女王が出房するまでコロニー内で維持した。老齢王台から新女王が出房した後、まだ出房していない老齢王台と若齢王台がそれぞれいくつ破壊されたかを記録した。女王蜂の幼虫 / 蛹期間は 12 日間なので、王台破壊のチェックは、老齢王台の移虫後 12 日目までは毎日正午に 1 回、13 日目以降は 9:00 ~ 10:00 と 15:00 ~ 16:00 の 1 日 2 回行った。

実験 2：ケージ内での王台破壊の観察

この実験は、働き蜂の関与がない状況でも未交尾女王が選択的に王台を破壊することを確認するために行った。ドゥーリトル養成法で得られた 12 ~ 13 日齢 (出房直前) と 9 ~ 10 日齢あるいは 10 日齢と 7 日齢の王台 1 対を金網ケージ (5.5 × 7 × 3 cm; 図 2) の天井に取り付け、出房後 1 週間以内の未交尾女王 1 匹を導入したときに、この女王がどちらの王台を先に破壊するかを記録した。1 対の王台と未交尾女王は同じコロニーの幼虫を移虫して養成した。

養成した王台は実験当日に養成群から取り出され、32℃のインキュベーター内で実験まで維持された。実験に用いた女王は移虫後 11 日目に養成群から取り出され、同様にインキュベーター内におかれた。出房後は 50% ショ糖水

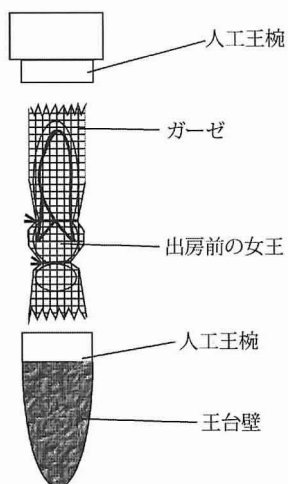


図3 ガーゼで動きを制限された王台内の新女王

を与えられて、実験まで維持された。

観察は、実験開始後1時間までは15分おきに行われ、その後は2, 3, 6, 12, 24, 48時間後に行われた。

実験3：化学的刺激の役割

もし、新女王が何らかの化学物質を用いて、出房直前の王台を識別しているとしたら、空の王台のワックス壁に残った物質が識別を可能にするかもしれない。このことを確かめるため、実験2で用いたのと同じ金網ケージに、12日齢（出房直前）と9日齢の空の王台をペアにして天井部分に取り付け、そこへ導入された未交尾女王がどちらの王台を先に破壊するかを10分おきに3時間観察した。人工王台は、王台から女王（の蛹）を取り出せるように、あらかじめ水平に切っておき、再び蜂ろうで元の通りに貼りつけてから移虫して王台をつくらせた。女王（の蛹）を取り出した後は、蜂蠟で王台を閉じた。12日齢の王台からは、中の女王が羽化し、翅が完全に伸びたことを確認してから、女王を取り出した。

実験4：物理的刺激の役割

王台の中ですでに羽化しているが出房前の12日齢王台を用意し、2つずつ金網ケージの天井に取り付けた。片方は実験3と同様にして王台から女王を取りだし、王台中での動きを

制限するため、約 2×2 cmのガーゼを巻いて王台に戻し（図3）、もう一方は対照区として、取り出した後、何も処理せずにもとの王台へ戻した。その後、このケージに導入された未交尾女王がどちらの王台を先に破壊するかを10分おきに3時間観察した。

結果

実験1

老齢王台からの出房は全て13日目に見られ、それと同時に多数の破壊された王台が観察された。この日に破壊された28個の王台のうち26個は老齢王台であり、4コロニーのうち3コロニーにおいて、王台破壊の老齢王台への偏りは統計的に有意であった（Fisherの正確確率検定： $p < 0.05$; 図4, 5）。有意な偏りが検出できなかったコロニーCにおいても、最初に破壊されたのは老齢王台であった。すべての老齢王台は13日目に出房するか破壊され、14日目以降には生存している老齢王台は存在しなくなった。一方、若齢王台の破壊の94.9%は、老齢王台がコロニー中からなくなった後の14, 15日目に見られた。コロニーAでは、最初の新女王が出房する前（7日目）に2つの王台が破壊されたが、これは働き蜂によるものと考えられる。これらの王台は下部が消失していたが、13日以降に破壊された王台にあげられた孔は全て側壁にあった。他の3コロニーでは新女王が出房するまで、王台破壊は観察されなかった。巣箱の底板の上に多数の女王の死体が見つ

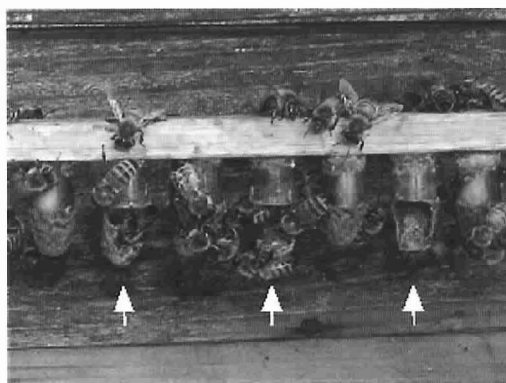


図4 選択的王台破壊。出房直前の王台だけが、まず壊された（矢印）

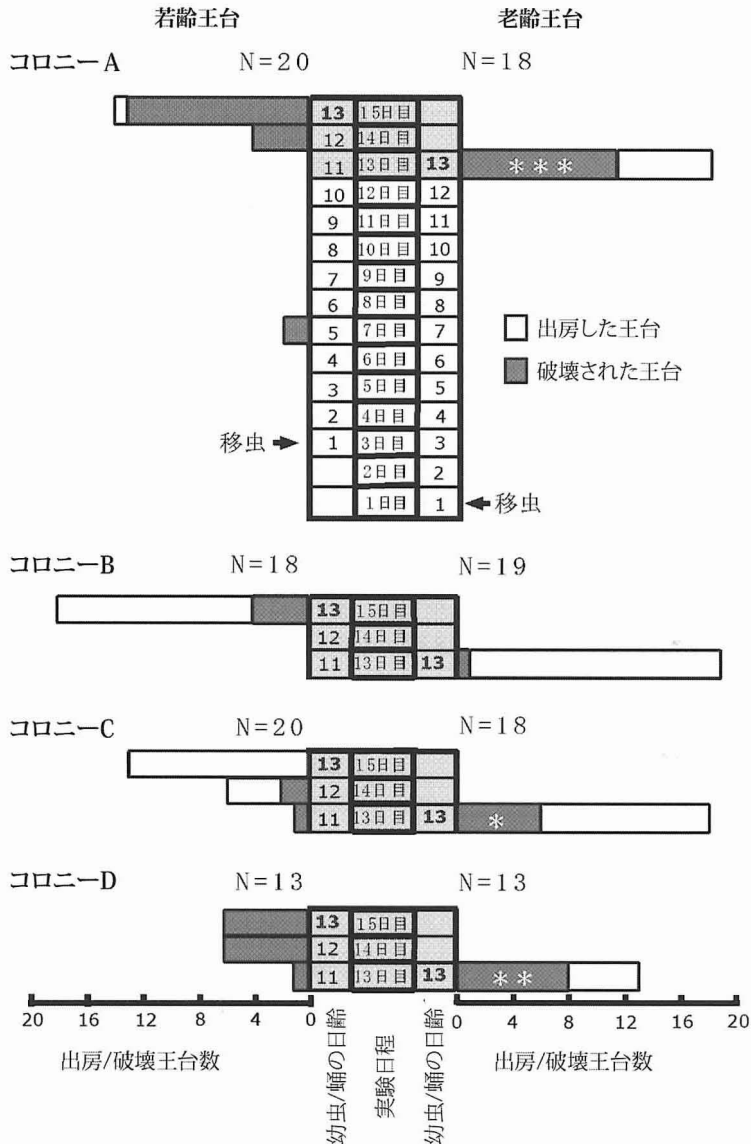


図5 コロニー内での王台破壊. 13日目に最初の女王が出房し, 王台破壊が始まったが, 先に壊されたのは, 老齢王台だった. *: $p < 0.05$ **: $p < 0.01$ ***: $p < 0.001$

かったことから, 出房した新女王間で決闘が行われたことが推測されるが, それを直接観察することはできなかった.

実験2

新女王は実験ケージの中でも積極的に王台を破壊し(図6), 出房直前王台と9-10日齢王台をペアにした場合には, 有意に前者を先に破壊することが多かった(χ^2 検定: $p < 0.01$; 図7上). しかし, 10日齢と7日齢の王台をペアにした場合には, 有意差は検出されなかった($p > 0.05$;

図7下). また, 出房直前の王台は, 他の王台よりも壊されるまでの時間が短いという点も特徴的であった. 出房直前の王台では, 王台破壊の50%が実験開始後15分以内に観察されたのに対し, より若い王台が15分以内に破壊されることはほとんどなかった(図8).

実験3, 4

新女王蜂は王台が空であっても積極的に王台を破壊し, 出房直前の王台を若い王台より先に破壊することが有意に多かった(二項検定: p

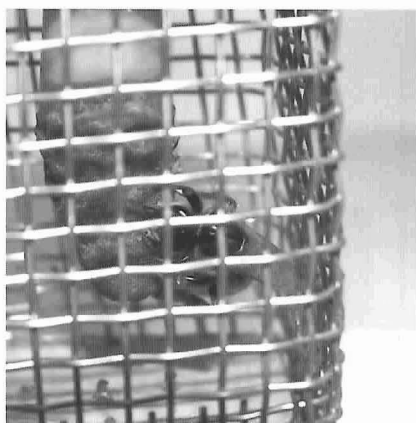


図6 ケージ内で王台に孔をあける女王

<0.001 ; 図9)。また、同じ出房直前であっても、ガーゼで動きを制限された女王の入った王台は、対照の王台より先に破壊されることが有意に少なかった ($p<0.05$; 図10)。

考察

王台破壊に優先順位はあるか？

一連の実験結果は、未交尾女王が出房直前の王台をより若い王台から識別し、これを優先的に壊していることを強く示唆している。実験1では、女王の出房と同期して、出房直前

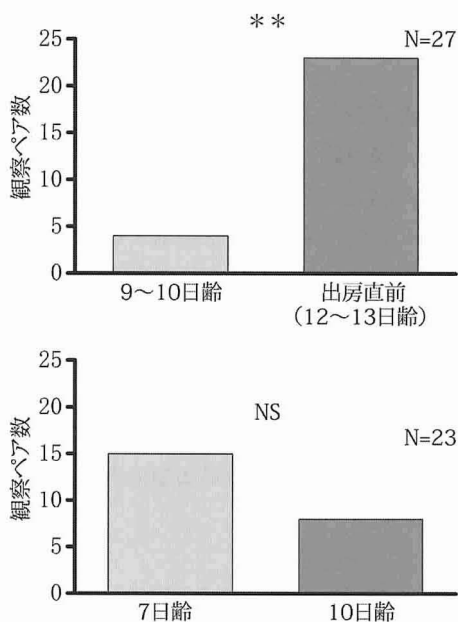


図6 ケージ内で日齢の異なる王台をペアにした時の未交尾女王による王台破壊。グラフは先に破壊された王台を示している (** = $p<0.01$)

王台の選択的破壊が観察された。この選択的破壊に働き蜂が関与していた可能性は否定できないが、1) 女王が出房するまで、ほとんど王台破壊が見られなかったこと、2) 王台に開けられた穴は全て側壁にあり、これまで知られている女王の破壊様式と一致すること、3) ケージ中の働き蜂の関与を除いた条件下 (実験2) でも同様の傾向が見られたことから新女王によって選択的破壊が行われたと考えられる。

優先的に破壊されるのは出房直前の王台か、最も発育の進んだ王台か？

実験2は、未交尾女王が出房直前の王台と9~10日齢の王台は識別するが、10日齢と7日齢の王台は識別しないことを示した (図6)。これは未交尾女王が、出房直前の王台をその他の王台から識別して優先的に破壊しているものであり、コロニーの中の最も発育段階の進んだ王台から順に破壊しているのではないことを示唆している。出房直前の王台を他の王台より先に

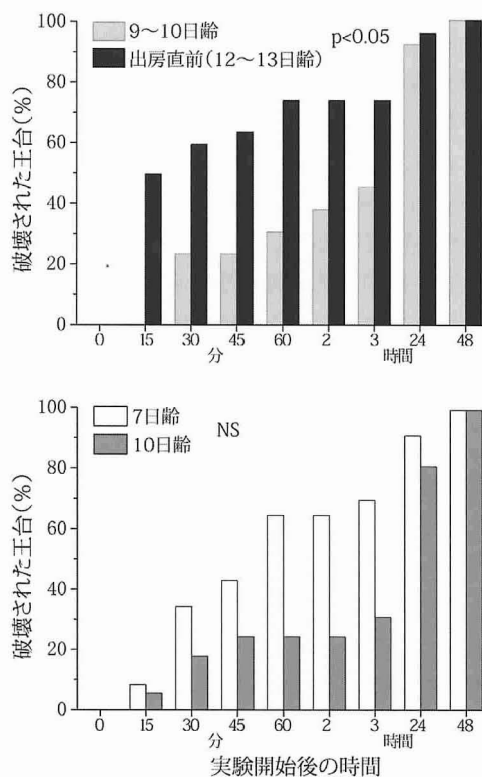


図8 実験開始後に破壊された王台の累積パーセント (48時間以内に破壊されたものについて)

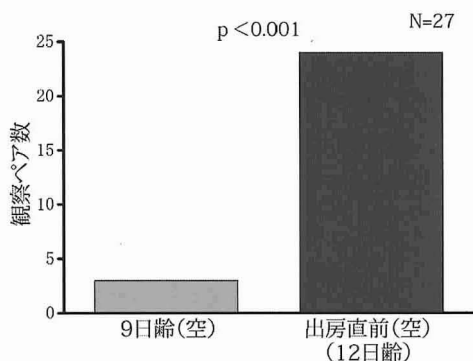


図9 空の王台に対する王台破壊
グラフは先に破壊された王台を示している

破壊するということは、出房してくるライバルの数を減少させるために重要であるが、出房まで長い時間がかかる10日齢や7日齢の王台を見分けて、その発育段階の順に壊すことではほとんど利益が生じないためではないかと考えられる。

出房直前の王台を認識するための手がかり

Le Conte et al. (1995) は、セイヨウミツバチの働き蜂が王台中の女王が分泌する脂肪酸を手がかりにその存在を認識していることを報告している。また、Boch (1979) および Free and Ferguson (1982) によれば、王台は女王フェロモン様の物質を放出しており、働き蜂による女王生産や採餌行動に影響を与えているという。このような物質の量や組成が発育段階によって変化し、それを手がかりに未交尾女王が出房直前の王台を見分けている可能性は十分ありうる。本研究は、未交尾女王は王台が空であっても出房直前のものを優先的に破壊できることを示し、王台の選択的破壊に何らかの化学的刺激が関わっていることを示唆した(図9)。

一方、女王は王台壁を食い破って出房してくるため、この時生じる音や振動が出房直前を知らせる手がかりとなっている可能性も考えられる。本研究は、実験的に王台中の女王の動きを制限すると、その王台よりも無処理の王台が先に破壊されることを示した(図10)。この結果は、手がかりとして音や振動などの物理的刺激

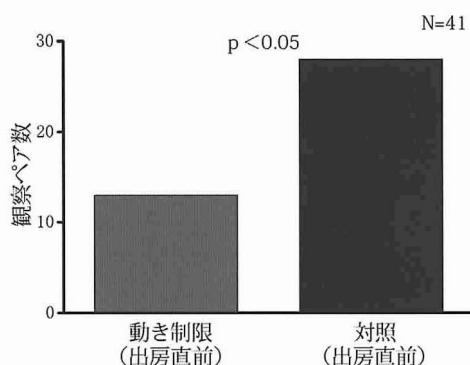


図10 動きを制限した女王の入った王台と制限しなかった女王の入った王台に対する王台破壊
グラフは先に破壊された王台を示している

が関与しているという考えと矛盾しない。動きを制限するために用いたガーゼが、女王由来の化学物質が王台の外側へ拡散するのを阻害した可能性は排除できないが、もしそうでなければ、この結果は物理的刺激が手がかりとして使われていることを示していると思われる。

コロニーの中でどのようにして出房直前の王台だけを優先的に壊すか？

出房直前の王台は破壊されるまでの時間が他の王台より短かった(図8)。このことは、出房直前の王台に遭遇した時に高い確率で破壊行動を行い、若い王台に対しては低い確率でしか破壊行動を起こさないという、未交尾女王の行動ルールを反映しているのかもしれない。若い王台に遭遇しても破壊行動を起こさないで通りすぎることは、その王台を破壊するのに費やす時間を節約し、出房直前の王台を探す時間に充てることになるだろう。もし、未交尾女王が離れた場所から出房直前の王台を定位できず、王台との遭遇がランダムに起こる場合であっても、このようなルールにしたがって行動すれば、出房直前の王台を選択的に破壊できるだろうと考えられる。

新女王間の競争への働き蜂の関与

本研究でも観察されたように(図3)、王台破壊は働き蜂によっても行われるが、それが選択的に行われているかどうかはいまだ明らかに

なっていない。ミツバチの女王は多数の雄と交尾するため、コロニーの中には雄親の異なる働き蜂のグループが複数存在する。働き蜂にとって、自分と同じ雄親を持つ姉妹を次世代の女王にすることができれば、その女王を通じて自分の遺伝子をより多く次世代に残せるので、そういった新女王を競争に勝たせようとする行動が進化してきたかもしれない。また、王台破壊や決闘に優れた女王が、産卵などの「女王としての資質」に必ずしも優れているわけではない可能性がある (Tarpy et al., 2000)。そのため、働き蜂はより質の良い新女王を次の繁殖個体として選ぶとしているかもしれない。すくなくとも、働き蜂はいくつかの方法で新女王間の競争に介入することができるはずだと考えられている。まず、王台に近づいてきた女王を追いかけることで、特定の女王を王台破壊から守ることができるかもしれない (Gilley, 2001)。後発分蜂をしようとするコロニーでは、出房した新女王は王台破壊を行わないが、これは働き蜂が王台を守っているからなのかもしれない。また、働き蜂が決闘の結果に影響を及ぼしている可能性を指摘する報告もある。決闘の時には働き蜂は一見なんの加勢もしていないように見えるが、Tarpy and Fletcher (1998) は、戦っている女王と周りにいる働き蜂に血縁がないと、その女王は決闘に負けやすくなることを実験的に示した。Gilley (2001) の観察巣箱を使った観察でも、働き蜂が未交尾女王を激しく追いかけたり、噛みついたりする行動が観察されているが、特に父親の異なる女王に対して行なわれているわけではなく (Gilley, 2002)、その行動の理由はまだ明らかにはなっていない。

謝辞

この研究は、東京農工大学大学院農学研究科の修士論文としてまとめられ、2つの学術論文 Harano and Obara (2004a, b) として発表された。指導教官であった東京農工大学の小原嘉明教授と佐藤俊幸講師に、この場をお借りして感謝いたします。

(〒 194-8610 町田市玉川学園 6-1-1

玉川大学大学院農学研究科)

引用文献

- Boch, R. 1979. J. Apic. Res. 18: 12-15.
 Free, J. B. and A. W. Ferguson. 1982. Physiol. Entomol. 7: 401-406.
 Gilley, D. C. 2002. Proc. IUSSI 2002 in Sapporo.
 Gilley, D. C. 2001. Ethology 107: 601-622.
 Harano, K. and Y. Obara. 2004a. J. Appl. Entomol. Zool. 39: 611-616.
 Harano, K. and Y. Obara. 2004b. Insect. Soc. 51: 253-258.
 Laidlaw, H. H. Jr. and Page, R. E. Jr. 1997. Queen rearing and bee breeding. 224 pp.
 Le Conte, Y., L. Sreng, N. Sacher, J. Trouiller, G. Dasticier and S. H. poitout. 1995. Chemoecology 5/6: 6-12.
 Pflugfelder, J. and N. Koeniger. 2003. Apidologie 34: 249-256.
 佐藤 篤. 1999. 玉川大学農学部卒業論文.
 曾根崎 猛史. 1988. 玉川大学農学研究科修士論文.
 Tarpy, D. R. and D. J. Fletcher. 1998. Anim. Behav. 55: 537-543.

HARANO KEN-ICHI. Selective queen cell destruction in honeybee *Apis mellifera* virgin queens. *Honeybee Science* (2005) 26(1): 1-7. Department of Agricultural Research, Graduate school, Tamagawa University, Machida, Tokyo, 194-8610 Japan.

Honeybee virgin queens often destroy queen cells and kill sister queens which will be competitors for the succession of the colony. Experiments were carried out to examine how they destroy queen cells. Virgin queens were able to distinguish queen cells which are short before emergence using chemical and auditory cues, and preferentially destroyed such queen cells. This manner is probably more efficient to eliminate competitors before they emerge because random destruction may allow rivals to emerge while the emerged virgin queen is destroying younger queen cells.