

セイヨウミツバチの女王蜂と働き蜂の警報フェロモン

Yaacov Lensky and Pierre Cassier

I. 女王蜂の警報フェロモン

ミツバチの社会は基本的に単女王制である。どの齢でも複数の女王蜂を一つのコロニーに王に入れずに共存させようとしても、相互に攻撃し合って失敗に終わる。複数の女王蜂による多王群は、隔王板などで物理的に女王蜂を隔離した場合に成立する (Farrar, 1953 など) が、隔離しない場合は、女王蜂同士が最後の 1 頭になるまで戦いを続ける。未交尾の女王蜂は交尾済のものより攻撃的である (Darchen and Lensky, 1963)。

女王蜂自身の攻撃性のほかに、実験条件下でも自然条件下でも他の女王蜂の排除には働き蜂が主要な役割を果たす。一つのコロニーに複数の女王蜂の存在が許されるのは、分蜂の時期だけである (Darchen and Lensky, 1962)。相互の攻撃ができないように女王蜂の大顎や刺針に手を加え、うまくコロニーに導入したとしても、1 頭以外のすべての女王蜂は、働き蜂の蜂球形成によって 4 週間から 6 週間後には排除されてしまう (Lensky et al., 1970)。

一般に、女王蜂の大顎腺由来のフェロモンは、女王蜂に対する働き蜂の攻撃行動に影響すると信じられている (Gary, 1962; Yadava and Smith, 1991a)。ところが、女王蜂の相互認知だけでなく、働き蜂の示す女王蜂への攻撃行動 (蜂球形成) には、刺針部あるいはその付近から発せられる揮発性物質が関与しているらしい。

働き蜂のコシェブニコビ腺 (Koshewnikow gland, WKG; 本誌 p. 119 図 1 参照) は警報フェロモンを分泌する (Grandperrin and

Cassier, 1983; Mauchamp and Grandperrin, 1982) が、女王蜂のコシェブニコビ腺 (QKG) の機能はそれと異なる。Butler and Simpson (1965) は、QKG が働き蜂に対する嗅覚的に非特異的な誘引活性を持つとしているが、それに関して十分な証明はなされていない。女王蜂に対する働き蜂の攻撃時には、蜂球に包まれた女王蜂は繁に刺針室を開き、刺針と付属突起を突き出す。蜂球に参加している働き蜂は、この刺針付属突起に誘引され、それを舐める (Robinson, 1984)。また、働き蜂は女王蜂の頭部よりも腹部の方によく誘引され、このことはおそらく背板腺およびコシェブニコビ腺の分泌物が原因であると思われる (De Hazan et al., 1989)。

女王蜂のフェロモン様分泌物には、次のような効果があると考えられる。(a) 2 頭の女王蜂の攻撃行動を活性化し、一般的には出会ったどちらか一方の死を招く。(b) 分蜂期以外では、導入された女王蜂、あるいは巣内の複数の女王蜂のうちの 1 頭に対する働き蜂の蜂球形成を引き起こす。働き蜂の蜂球形成行動は「ストレスフェロモン」仮説によって説明される。すなわち、攻撃を受けた女王蜂はその女王蜂自身に対する蜂球形成および自己の死を招く「ストレスフェロモン」を分泌する (Yadava and Smith, 1971b; 1971c)。しかしながら、「ストレスフェロモン」がどの分泌腺から分泌されるのか、またその化学的成分が何なのかについてはまだわかっていない。

QKG および WKG の抽出物が働き蜂のどのような反応を引き出すのか、QKG 処理を施した「疑似女王蜂 (PQ)」に対する働き蜂の蜂球

表1 疑似女王蜂 (PQ) に対する働き蜂の行動

行 動	処理**			
	処理区 1	処理区 2	対照区 1	対照区 2
	PQ+T+ 2 μ l QKG	PQ+T+ 2 μ l WKG	PQ+T+ 2 μ l EtOH	PQ+T
通常の興奮	+	+	+	-
触角での接触	+	+	+	-
攻撃行動 (翅, 肢, その他の部位を噛む)	+	+	-	-
蜂球形成	+	-	-	-
蜂球形成時間 (分)	7~10	-	-	-
蜂球への参加働き蜂数	35*	-	-	-

*蜂球に参加した働き蜂の行動: 押す, 引っ張る, 翅や肢をつかむ, 翅, 肢その他を噛む, なめる

**PQ=疑似女王蜂, T=胸部のペイントマーク, QKG=女王蜂のコシエブニコピ腺のエタノール抽出物, WKG=働き蜂のコシエブニコピ腺のエタノール抽出物, EtOH=エタノール

形成について研究を行った。この実験で、疑似女王蜂としてQKG抽出物を塗布した働き蜂を用いたのは、女王蜂の大顎腺、ふ節腺 (Cassier et al., 1991)、背板腺 (De Hazan et al., 1989) からのフェロモン様分泌物による効果を除外するためである。QKG成分の分析にはガスクロマトグラフィー質量分析 (GC-MS) 法を用いた。働き蜂によるPQに対する蜂球形成の観察は、Lensky et al. (1991) にしたがってガラス製観察巣箱を用いて行った。

1. QKGあるいはWKGを塗布したPQに対する働き蜂の反応

QKGを塗布した場合、導入したすべての疑似女王蜂 (PQ) は巣内の働き蜂にすぐに取り囲まれ、15~35頭の働き蜂による密な蜂球が形成された (表1)。蜂球は5~10分間継続し、その後も約2頭の働き蜂が残った。その後約4分で残っていた蜂はPQから離れた。蜂球に参加していた働き蜂は、PQの翅や肢をつかむ、かむ、引っばるといった攻撃的な行動を示した。働き蜂の中には、触角で触れる、舐めるといった非攻撃的な行動をとるものもいた。10頭のPQのうち、7頭は蜂球に取り込まれた。2頭は導入後に激しく攻撃されたが、働き蜂による密な蜂球形成は起こらなかった。残りの1頭は働き蜂の攻撃を受けた後、巣箱から逃げ出すことに成功して飛び去った。蜂球による攻撃を受け

た9頭の中で、死亡したPQはなかった。蜂球が解散した後、PQは動き回ることができたが、たいていの場合、翅に損傷を受けていた。

WKGを塗布した場合は、導入後すぐに、6~8頭の働き蜂がPQに近寄り、PQを押し、針を刺すときと同様に腹部を曲げた。一方、他の働き蜂はPQに触角で触れただけでその場を去った。巣内の働き蜂による攻撃行動は継続的ではなく、PQに近づいては引き下がった。この特異な行動は1.0~1.5分間継続した。

対照区として白いペイントでマークしただけのPQは、巣内で働き蜂の関心をまったく引かなかった。白いペイントに加え、さらに2 μ lのエタノールを塗布したPQは、約5頭の働き蜂によって約30秒間念入りに調べられ、触角で触れられた。

ガスクロマトグラフィー質量 (GC-MS) 分析の結果、分子量112から604までの、28種類の化合物が見い出された。これらの化合物 (C_8H_{16} - $C_{43}H_{88}$) には、有機酸、アルコール、飽和および不飽和炭化水素が含まれていた。これらの化合物は、働き蜂のコシエブニコピ腺が生成する警報フェロモンには一つも含まれていない (Mauchamp and Grandperrin, 1982)。

我々は、QKGを塗布して「疑似女王蜂」とした働き蜂を用い、女王蜂に対して引き起こされるのと同様の蜂球を疑似女王蜂に対して形成させることができた。疑似女王蜂に用いた働き蜂

は、試験に用いた働き蜂と同じコロニーから取り出したので、導入した働き蜂または女王蜂に対する攻撃行動の原因となり得るよそ者の匂いによる影響は排除されている。

WKG 抽出物を塗布した働き蜂に対する巣内の働き蜂の攻撃的な反応は、門番が侵入しようとする他のコロニーの働き蜂に対して警報フェロモンを出しながらとる行動に似ていた。しかし、この反応は女王蜂に対して蜂球を形成するときの行動パターンとは異なっていた。

我々は、蜂球に覆われた女王蜂の例に記したように、QKG 処理した疑似女王蜂に対する攻撃的または非攻撃的な行動をいくつか観察した (Yadaba and Smith, 1971c)。QKG 処理した疑似女王蜂に対する蜂球形成は、疑似女王蜂を観察巣箱へ導入した後ほとんどすぐに起こったが、女王蜂を導入した場合には、Robinson (1984) の報告によれば、蜂球の形成までには 8.5 分を要する。さらに、蜂球形成後の持続時間は、無処理の女王蜂 (58 分, De Hazan et al., 1989) に比べて疑似女王蜂では短い (7 分)。これらの差は、無処理の女王蜂では、分泌腺から持続的に分泌物を生成し棘状膜から放出しているのに対して、疑似女王蜂である働き蜂では、体表からエタノール抽出物が速い速度で揮散するためによると思われる。

QKG 分泌物は 2 頭の女王蜂が互いを認知することと、その後の殺し合いにおいて重要な役割を果たすと推測される。女王蜂の刺針室を塞ぐか、触角をワックスで覆うかの両方、またはいずれかの処理を行うと、女王蜂はお互いを認知できず殺し合わない (Lensky et al., 1970)。さらに、女王蜂の背板腺と刺針室をパラフィンで塞ぐと、働き蜂に対する誘引活性を変化させることもできる (De Hazan et al., 1989)。

棘状膜に放出される QKG 由来のフェロモン様分泌物は、働き蜂が警報フェロモンに対して示す特徴的な行動パターンを解発しなかった。この分泌物は「自殺」フェロモンとでも言うべき働きをもっており、したがって各コロニー内の単女王制維持に役立つ。過剰な女王蜂や

QKG 抽出物を塗布した疑似女王蜂は蜂球形成の対象となり、コロニーから排除される。

WKG および QKG に含まれるフェロモンの成分組成は、まったく異なる。QKG 抽出物には、働き蜂の警報フェロモン成分 (Boch et al., 1962; Pickett et al., 1982; Free et al., 1988) はひとつも検出されなかった。

大顎腺 (Gary, 1962; Yadava and Smith, 1971a) や背板腺などから分泌される他の女王蜂フェロモンが、QKG 分泌物と共力的に作用する可能性も否定できない (未発表)。

II. 働き蜂の警報フェロモン

働き蜂は、巣を襲い、花蜜や蜂蜜、花粉、蜂児あるいは蜂自身を盗み出そうとする多くの侵入者から、自分達のコロニーを守る。そのための防衛システムは、コロニーが生き残るために必要不可欠である (Lensky et al., 1995; Winston, 1987)。巣の入り口にいる門番は、入ろうとするすべての蜂を途中で止め、触角を使って念入りに調べる。彼等は、侵入者および他のコロニーからの盗蜂を、匂いとその他の手がかりを使って識別することができる。蜂の体についているコロニーに特異的な匂いは、ある程度は遺伝的に決まっており、また一部は集めた餌の性質による (Hyams, 1988; Crance, 1990)。

侵入者に襲われたとき、門番はある特徴的な行動を示し、それは「警戒段階」、「活性化段階」、「誘引段階」、そして「絶頂段階」の 4 段階 (Collins and Blum, 1983) に分類できる。警戒と絶頂の間では、門番は刺針室を開けて刺針を突き出すか刺針行動の結果として警報フェロモンを放出する。刺針部に付随する分泌腺で生成した警報フェロモンにより侵入者はマークされ、その結果、他の働き蜂が誘引されて連続的に刺針が起こる。刺針行動は刺針対象が暗い色をしていたり、ざらざらした表面をもっていたり、動きがあるとより激しくなる (Farrar, 1953)。

働き蜂が侵入者を刺し、針が働き蜂の体から外れた後、針は毒を送り出しながらさらに深く

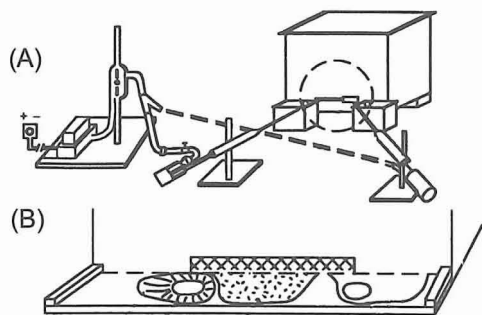


図1 巣門前で門番蜂に特定の匂いに対する反応を調べる装置 Lensky et al. (1995) を改変
(A) 気流を用いる方法
左のポンプで送風し左右の送風管から匂いを巣門送る通常、右側は対照区として空気だけを送る
(B) 巣門前の部域
滴下した溶媒に溶いたフェロモンを滴下(直径2cm)し、右側には溶媒だけを同じような量、滴下して巣門の働き蜂の反応を調べる

侵入し続ける。それと同時に、警報フェロモンを発して他の働き蜂を動員し、警戒を促す。

働き蜂の警報フェロモンは、大顎腺が分泌する2-ヘプタノン(2-H)と刺針部に付属する分泌腺由来の他の化合物からなるといわれている。

あるコロニーの示す防衛行動の強さは、働き蜂の齢およびコロニーの勢い、さらに遺伝的要素、気象条件により影響される(De Hazan et al., 1989)。防衛反応の強さは、巣の入り口にいる個々の働き蜂、あるいは働き蜂のグループの行動を調べるような試験によって評価できる(De Hazan et al., 1989; Blum, 1992)。最近我々は、警報フェロモンの揮発性成分のみを使って、実験室内の個体毎の、または観察巣箱内や巣門にいるグループの働き蜂に刺激を与えるような実験装置と生物試験法を開発した(Cassier et al., 1991; 1994, 図1)。

門番と外勤蜂は大顎腺に2-Hを生成し、この物質は2つのフェロモン作用を示す。

(a) 刺針部の示す効果よりは低いものの、警戒行動を解発する(Boch and Shearer, 1967; Boch et al, 1970; Maschwitz, 1964; Shearer and Boch, 1965)。

(b) コシエブニコビ腺から主に分泌される酢酸イソアミル(De Hazan et al., 1989; Free and Simpson, 1968)と同程度の刺針行動を解発する。

ところが、2-Hは刺針部から分泌される警報フェロモンの1/20から1/70の効力しかない。2-Hは外勤蜂に対してある程度の忌避活性も示す(Boch and Shearer, 1967; Melksham et al., 1988; Simpson, 1966)。実際、アルファルファの花に2-Hを処理すると、短期間の忌避が観察された(Rieth et al., 1986)。

我々は、警報フェロモンとしての2-Hの役割を検討した(Vallet et al., 1991)。

1. 日齢と仕事に伴う2-H量の変化

2-Hは出房中の働き蜂の大顎腺のヘッドスペースガス中から検出された(ヘッドスペース当たり0.1 μ l, Vallet et al., 1991)。その量は幼若ホルモンIII(Cassier and Lensky, 1991)と同様に、加齢とともに増加し、門番および外勤蜂でピークに達した(ヘッドスペース当たり7 μ l)。以前の報告では、2-Hの分泌は羽化後2から3週間経過してから始まるとされていた(Boch and Shearer, 1967; Crewe, 1976; Crewe and Hastings, 1976; Kalmus and Ribbands, 1952)。この相違は次の点が原因であると思われる。すなわち、これまでの報告では、破碎した頭部を溶媒で抽出して2-Hを得ているのに対して、我々は溶媒を使わず、切除して磨砕した大顎腺から出る揮発性成分を含むヘッドスペースガスを用いてGLC分析を行ったのである。

イタリアン品種、アフリカ蜂化ミツバチ、そしてそれらの交雑種の攻撃性と2-Hの量との間に正の相関があるとの報告がある(Kalmus and Ribbands, 1952)。我々の分析では、「おとなしい」イタリアン種のコロニーから採取した働き蜂と、「荒い」雑種(*Apis mellifera ligustica* x *A. m. syriaca*)のコロニーから得た働き蜂との間に、2-H量の有意な差はなかった。さらに、南アフリカ産の*A. m. adansonii*とカナダ産の*A. m. ligustica*が生成する2-H

量は同程度であった (Crewe and Hastings, 1976). 品種が異なる蜂の防衛行動の強さと、大顎腺から分泌される 2-H の量は関連がないと思われる。

2. 2-H の警報フェロモンおよび餌場マーキングフェロモンとしての役割

2-H は一般的に警報フェロモンであると考えられているが、我々の結果はこの考えを支持しなかった。2-H の刺針部から放出される警報フェロモンに対する共力作用 (Tel-Zur, 1993) も無視できるものであった。一方、門番および外勤蜂は 2-H を忌避する。例えば、2-H を処理したワックス製の花には、外勤蜂に対する短期間の忌避効果を持つ。したがって、2-H は「餌場マーキングフェロモン」として作用すると思われる。これらの結果により、以前の、および最近の報告を確かめることができた (Free et al., 1985; Giufra and Nunez, 1992 ほか)。

3. 刺針部と付属腺

機械的な、そして化学的な防御器官として効果的に機能する刺針部は第 7 節の背板と腹板の間の刺針室の中にある。いくつかの分泌腺と器官が働き蜂の刺針部に接続していて、そこから警報とコロニー防御に使う匂いのブレンドが生成される (Winston, 1987)。毒腺、毒囊およびデュフォー腺がフェロモンを生成するとの報告はない (Blum, 1992)。方形基板の上部に位置するコシェブニコビ腺は、棘状膜 (Mauchamp and Grandperrin, 1982; Maschwitz, 1964) に蓄積される警報フェロモンの分泌 (Blum, 1992; Cassier and Lensky, 1992) に関与している。この膜は刺針を突き出したときに放出されるフェロモンの重要なブレンドを行う部位であるにも関わらず、攻撃された蜂に非常に特徴的なこの化学シグナルの分泌源となることに関してはこの膜に対する認識は未だ定着していない (Blum, 1992)。その他の分泌腺も刺針から放出される警報フェロモンの生成に関わっている。

働き蜂の刺針部抽出部から、40 種類以上の

化合物が同定され、6 種の主成分は警戒行動を解発する (Collins and Blum, 1983; Blum, 1992; Rieth et al., 1986)。ところが、コシェブニコビ腺だけが少なくとも警報フェロモン成分のいくつかを生成することが明らかとなった (Grandperrin and Cassier, 1983)。刺針部の様々な部分を使って門番を刺激し、門番の示した防御反応の強さ (警戒, 誘引, 刺針) を調べたところ、以下の順で弱くなることがわかった (Vallet et al., 1991)。

針全体 > 棘状膜 > 刺針付属突起 > 毒腺および毒囊 > 毒 > コシェブニコビ腺 > Dufour 腺

4. 警報フェロモンの分泌およびその分布に関連する分泌腺および器官

4. 1. コシェブニコビ腺

WKG と QKG のフェロモンの成分組成はまったく異なる。Mauchamp and Grandperrin (1982) によると、溶媒を使わずに WKG の揮発性成分をガスクロマトグラフィで分析した結果、酢酸イソアミル、イソアミルアルコール、酢酸ヘキシル、ノナノール、酢酸ベンジル、ベンジルアルコールが検出された。

4. 2. 刺針付属突起

コシェブニコビ腺の揮発性成分によって起こる防御行動の強さは、付属突起による反応よりもずっと弱い。付属突起とコシェブニコビ腺の両方から放出される揮発性成分は、動員活性をもっており、したがって共力作用があると思われる。付属突起から分泌される揮発性成分と、棘状膜の表面に蓄積される物質が同一の化合物であるかどうかは、現在検討中である。実験室内で個々の働き蜂による刺針行動は、棘状膜あるいは付属突起で刺激したときのみに見られ、その他の分泌腺または器官で刺激しても見られなかった。巣門において門番を刺激した場合でも同様の結果が得られた (Cassier et al., 1994; Tel-Zur, 1993)。

4. 3 棘状膜

巣の入り口にいる門番に、棘状膜由来の揮発性成分を与え、門番の誘引、警戒、刺針行動を観察した。その結果は Cassier and Lensky

(本誌 p. 118-124) に示した。

試験した器官の中で、棘状膜の揮発性成分が門番に対して最も強い防衛反応を起こさせた (Lensky et al, 1991)。

棘状膜の表面に存在する分泌物には、酢酸イソアミル、イソアミルアルコール、酢酸ヘキシル、ノナノール、酢酸ベンジル、ベンジルアルコールが含まれていた (Mauchamp and Grandperrin, 1982)。棘状膜 (第9背板) は付属突起に直接つながっていて、針の基部の周囲を取り囲んでいる。棘状膜は、クチクラの陥入および無数に分裂したとげに厚く覆われていて、蒸散面積を非常に大きくしている。棘状膜は、ほかの場所で分泌されその表面に蓄積された警報フェロモンを放出するブラットホームの役割をしている。

(著者の住所は下記参照 翻訳 松山 茂)

主な引用文献

- Boch, R. et al. 1970. *J. Insect Physiol.* 16:17-24.
- Boch, R. and D. A. Shearer. 1967. *Zeitsch. Vergl. Physiol.* 54:1-11.
- Boch, R. et al. 1962. *Nature* 195:1018-1020.
- Butler, C. G. 1966. *Nature* 212:530.
- Cassier, P. et al. 1994. *J. Insect Physiol.* 40:23-32.
- Cassier, P. and Y. Lensky. 1991. *C. R. Acad. Sci. III* 312:343-348.
- Cassier, P. and Y. Lensky. 1992. *Année Biol.* 31:61-95.
- Collins, A. M. and M. S. Blum. 1983. *J. Chem. Ecol.* 9 (1):57-65.
- Darchen, R. 1960. *C. R. Acad. Sci.* 250:934-936.
- Darchen, R. and Y. Lensky. 1962. *C. R. Acad. Sci.* 255:2300-2302.
- Darchen, R. and Y. Lensky. 1963. *Ann. Abeille* 6:69-73.
- De Hazan, M. et al. 1989. *Int. J. Morph. Embryol.* 18 (5-6):311-320.
- De-Hazan, M. et al. 1989. *Comp. Biochem. Physiol.* 93A:777-783.
- Farrar, C. L. 1953. *Bee World* 34, 189-194.
- Free, J. B., A. W. Ferguson and J. R. Simpkins. 1988. *J. Apic. Res.* 28:7-21.
- Free, J. B. et al. 1985. *J. Agr. Sci.* 105:255-260.
- Free, J. B., Simpson J. 1968. *Z. Vergl. Physiol.* 61:361-365.
- Gary, N. E. 1962. *Bee World* 42:14-17.
- Grandperrin, D. and P. Cassier. 1983. *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 12:25-42.
- Lensky, Y et al. 1995. *J. Insect Physiol.* 41:589-595.
- Lensky, Y. and P. Cassier. 1995. *Bee World* 76 (3):119-129.
- Lensky, Y. et al. 1991. *Comp. Biochem. Physiol.* 100A (3):585-594.
- Lensky, Y. et al. 1970. *Rev. Comp. Animal.* 4:50-62.
- Mauchamp, B. and D. Grandperrin. 1982. *Apidologie* 13:29-37.
- Melksham, K. J. et al. 1988. *Bee World* 69:104-124.
- Pickett, J. A. et al. 1982. *J. Chem. Ecol.* 8:163-175.
- Rieth, J. P., W. T. Wilson and M. D. Levin. 1986. *J. Apicult. Res.* 25:78-84.
- Robinson, G. E. 1984. *Insectes Soc.* 31:254-263.
- Vallet, A., P. Cassier and Y. Lensky. 1991. *J. Insect Physiol.* 37:789-804.
- Winston, M. L. 1987. *The biology of the honey bee.* Harvard University Press, Cambridge, 281 pp.
- Yadava, R. R. S. and M. V. Smith. 1971a. *Can. J. Zool.* 49:1179-1183.
- Yadava, R. R. S. and M. V. Smith. 1971b. *Can. J. Zool.* 49:1359-1362.
- Yadava, R. R. S. and M. V. Smith. 1971c. *Behaviour* 39:211-236.
- YAACOV LENSKEY¹⁾ and PIERRE CASSIER²⁾. Alarm pheromones of the queen and worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Honeybee Science* (1996) 17 (3):125-130. ¹⁾The Hebrew University of Jerusalem, Faculty of Agriculture, Triwaks Bee Research Center, 76100 Rehovot, Israel. ²⁾Universit Pierre et Marie Curie, Laboratoire d'Evolution des Etres organisés, 105 boulevard Raspail, 75006 Paris, France.

Both queen and worker honey bees secrete specific alarm pheromones which trigger different behavioral pattern in each female caste.