

# セイヨウミツバチの毒液の殺虫活性 女王蜂、働き蜂間の相違とその意義

加藤 学

セイヨウミツバチの女王蜂と働き蜂の毒は、同種でありながら成分や合成速度が異なることが知られている。本誌においては、井上(1984)による詳しい研究報告がある。

女王蜂、働き蜂の毒成分の相違は、2カストの行動や機能が全く異なるためだと考えられている (Marz et al., 1981)。特に蜂毒を使用する刺針行動は大きく異なっている。女王蜂の刺針対象は同じコロニー内の姉妹関係にある女王蜂 (昆虫) に対してである (曾根崎, 1988)。ミツバチのコロニー内は、単女王制で複数の女王蜂の存在が許されていない。それにもかかわらず繁殖期に何頭かの新女王蜂候補がほぼ同時に生産されてしまうためである。一方の働き蜂の刺針対象は、コロニーや自分自身を脅かす外敵に対してである。すなわち昆虫だけでなく哺乳類など種々の動物が相手となる。この場合、必ずしも刺針対象を致死させる必要はない。

これまでに行われた働き蜂の毒性に関する研究は、ほとんどが哺乳類に対するものであり、昆虫に対してはあまり行われていなかった。しかし Quistad (1988) らにより昆虫に対しても強い毒性を示すことが分かってきた。

本研究においては、刺針行動の異なるセイヨウミツバチの女王蜂、働き蜂両カストの蜂毒の昆虫 (ミツバチ) に対する殺虫活性を比較した。

## 材料および方法

### 1. 供試虫の扱い

生物検定に用いた働き蜂は、出房後 0~1 日齢のものと正常なコロニーの外側の巣板から無作為に採集した加齢の進んだものである。

### 2. 毒液の採取

日齢別の働き蜂の毒を得るために働き蜂は、0 日齢のもの以外は出房後腹部背面にマークを施して群に戻し、7, 14, 21, 28, 35 日齢に達したものを採集して使用した。女王蜂は、0, 3 日齢は羽化後恒温器内で 7~14 日齢はクィーンバンク内で飼育した処女王を材料とした。産卵中の約半年齢の女王蜂は、正常なコロニーから秋に採集した。採集後いずれもそのまま -20°C に冷凍しておいた。

毒液を採取するにあたってはまず、凍結したままのミツバチの刺針器官を湿らせた濾紙の上へ載せ、実体顕微鏡下で毒嚢だけをピンセットで摘出した。それを 10 $\mu$ l 程度の生理食塩水を入れた毒採取容器 (エッペンドルフ遠沈管の底部を利用) に移した。そこで変形させたガラス棒の先端で毒液を絞り取りマイクロピペットを用いて集めたものを原液とした。

また容量当たりの毒性を評価する目的で定量的な採取も行った。個体当たりの毒液の採取と同様の方法で刺針器官を摘出し湿らせた濾紙の上へ載せ、毒嚢を軽く押すことによって 1 ancet の先端から出てくる毒液を 1~5 $\mu$ l 目盛りつきマイクロキャピラリーで吸い取った。

### 3. 毒性の検定

毒の原液を生理食塩水で希釈し各濃度区を作った。それらの毒液をマイクロシリンジにより 1 $\mu$ l ずつミツバチの腹腔内に注射した。各濃度区の試験個体数は 10 匹とした。処理した蜂はプラスチックケースに入れ、34°C の恒温器内で飼育した。48 時間後に死亡数を記録し、LD<sub>50</sub> 値を求めた。

## 結果と考察

### 1. 加齢に伴う毒液の殺虫活性

女王蜂の加齢に伴う個体当たりの毒液の殺虫活性を図1に示す。活性は出房後0~1日齢では低かったが、7~8日齢で最高レベルに達し、14日齢以降では再び低下した。産卵中の約半年齢でもある程度維持されていた。0~1日齢の毒液の殺虫活性については、次項で後述する。7~8日齢にかけての殺虫活性の急激な高まりは、蜂毒の著しい増加を示していると考えられる。今回の14日齢での殺虫活性の急激な低下は、井上(1984)の蜂毒の化学分析の報告とは一致せず、実情よりも低くなりすぎているかもしれない。産卵中の約半年齢の殺虫活性の低下は刺針行動の著しい低下と一致する。

女王蜂の殺虫活性と刺針行動とは、密接な関係にあることが考えられる。羽化後7~8日齢では、すでに単女王になっている場合が普通で、ライバルの女王蜂殺しのための殺虫活性は必ずしも必要としないと考えられる。ではなぜピークが現れたのだろうか。女王蜂にとっては刺針行動を最も必要とする出房後間もない時に毒液を最大量貯えたいところだが、それは生理的に不可能なためかもしれない。7~14日齢は交尾飛行の時期であり、この飛行中の外敵に対する防御用のためと考えられないこともない。しかし女王蜂は、ライバルの女王蜂以外は積極的に

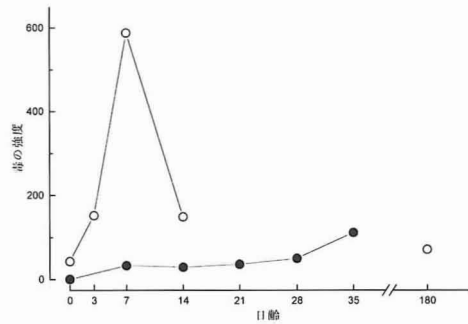


図1 女王、働き蜂毒液の加齢に伴う殺虫活性の推移  
殺虫活性: 毒の強度は一匹当りの毒で殺すことのできる働き蜂数の半値で示した。○: 女王蜂の毒液(0~14日齢は未交尾, 180日齢は産卵中); ●: 働き蜂の毒液

刺針を行わない。そのため可能性は極めて低い。ただ試しに人体に刺させてみると激痛と腫れを生じるため完全には無用ともいえない。

一方、働き蜂の加齢に伴う個体当たりの毒液の殺虫活性は、出房後0~1日齢で低く7~8日齢で高くなった。その後は女王蜂と異なり35日齢まで徐々に増していった。この殺虫活性の増加は、井上(1984)の加齢に伴う各種毒成分の増加と一致した。

0~1日齢で低かったのは、この時期の働き蜂が毒をほとんど必要としないためだと思われる。この時期の働き蜂は巢内の中心部の安全な

表1 0~1日齢女王蜂の0.025匹分の毒液を働き蜂<sup>a)</sup>に注射した場合の殺虫活性(死亡率%)

注射後の時間(h)	個体数	反復回数	働き蜂の種類	
			0~1日齢	a)
24	10	3	51.9±28.0*	33.3±20.8
48	10	3	55.6±22.8	33.3±20.8

a) 外側の巣板で採集した働き蜂; \*標準偏差

表2 働き蜂<sup>a)</sup>の0.025匹分の毒液を働き蜂<sup>a)</sup>に注射した場合の殺虫活性(死亡率%)

注射後の時間(h)	個体数	反復回数	働き蜂の種類	
			0~1日齢	a)
24	10	7	98.6±3.8* <sup>b)</sup>	51.4±25.4 <sup>b)</sup>
48	10	7	98.6±3.8 <sup>c)</sup>	54.3±27.0 <sup>c)</sup>

a) 外側の巣板で採集した働き蜂; b) t検定(Welch法)で有意な差がある(P<0.01); c) t検定(Welch法)で有意な差がある(P<0.01); \*標準偏差

表3 女王蜂と働き蜂の0.02 $\mu$ lの毒液を働き蜂に注射した場合の時間経過に伴う死亡率(%)

使用した蜂 毒のカスト	個体数	反復回数	経過時間 (h)			
			1*	3*	24	48
女王蜂 (7日齢) <sup>a)</sup>	10	3	20.0 $\pm$ 10.0	73.3 $\pm$ 15.3 <sup>b)</sup>	93.3 $\pm$ 11.5	93.3 $\pm$ 11.5
働き蜂 (35日齢)	10	3	3.3 $\pm$ 5.8※	33.3 $\pm$ 15.3 <sup>b)</sup>	73.3 $\pm$ 25.2	76.7 $\pm$ 20.8

a): 出房後72時間以内に queen bank に預け7~8日齢で採集; b): t検定で有意な差がある ( $P < 0.05$ ); \*: ノックダウン率 (%) を示す; ※: 標準偏差

場所におり刺針行動を行う場面はない。7~8日齢における殺虫活性の増加は、門番や外勤が近づきつつあることを考えると自然であろう。28~35日齢に殺虫活性が最高レベルに達した点は、警報フェロモンに対する感度が最高になるという報告と一致する (Collins, 1980)。それに加え多種の毒成分が最高付近に達する (Owen et al., 1977; 井上, 1984)。働き蜂にとって外敵に対して刺針行動をすることは、針が抜ける場合が多くなるため命懸けとなる。そのことを考えると一番蜂毒の毒性の高まった年若い働き蜂が刺針行動をするのはコロニーの損失を軽減させるうえで有効ではないかと思われる。

## 2. 女王蜂の早期毒合成とその意義

女王蜂の出房後0~1日齢の個体当たりの殺虫活性は日齢の進んだものに比べれば低かった。しかし働き蜂の外勤蜂のそれに匹敵するものであり、出房後0~1日齢の働き蜂のよりず

っと強いものであった (図1)。従って羽化まもない女王蜂は、毒合成のピークには達していないものの働き蜂より早くから毒合成をしているものと考えられる。Bahmayer (1972) らは、女王蜂の毒腺のメリチン合成が出房時に最も高いことを報告している。また井上 (1984) は出房時の女王蜂の毒囊からメリチンを他の成分より多く認めている。メリチンは昆虫に対し強い毒性を示すことが知られている (Quistad et al., 1988)。そのために比較的強い殺虫活性が認められたのは、メリチンの高濃度の存在と関係しているのではないかと考えられる。

女王蜂の毒の殺虫活性は羽化後1週間目くらいにピークとなっているが (図1)、実際にはもっと若い時期にライバルの女王蜂に対して刺針行動を行わなければならない場合も多い。新女王蜂の刺針行動の対象は王台中の羽化成虫から出房後まもない時間の女王蜂に集中することから (曾根崎, 1988)、羽化後間もない蜂が毒に弱い可能性があると考えた。そこで女王蜂の代わりに日齢の異なった蜂を用いて蜂毒に対する感受性の日齢間差を調べたのが表1, 2である。出房後0~1日齢の若い働き蜂が日齢の進んだ蜂よりも蜂毒に弱いことが分かった。このことからおそらく女王蜂でも若いものの方が蜂毒に弱く0~1日齢の女王蜂でも多くの新女王蜂を殺すことができるのではないかと推察される。

## 3. 両カスト毒液の容量当たり殺虫活性の比較

両カストの個体当たりの毒液の殺虫活性は女王蜂の方がずっと強かったが、女王蜂の毒囊は働き蜂の2~3倍の大きさがある。従ってどちらの毒が昆虫に対して毒性が高いかは、毒量を等しくして比較する必要もあろう。その結果は、図2の通りである。48時間後のLD<sub>50</sub>値を

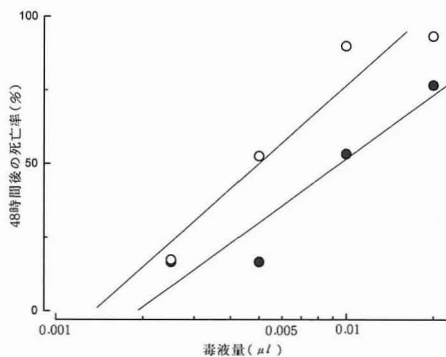


図2 働き蜂 (外側の巣板からランダムに採集) に対する女王蜂と働き蜂の毒液の容量当たりの殺虫活性の比較

○: 出房後7~8日齢女王蜂の毒液を使用;  
●: 出房後35日齢働き蜂の毒液を使用; 各濃度区の個体数は10匹

比較すると女王蜂の方が働き蜂より低く毒性が高いことが分かる。しかし大差は認められなかった。このことは、働き蜂の毒の昆虫に対する毒性は強いことを示すものである。そこで2%の毒希釈液  $1\mu\text{l}$  を注射された働き蜂の反応を時間的にみたところ表3のような結果となった。1ないし3時間後のノックダウン率から分かるように女王蜂の毒の方が即効性がある。この即効性は、女王蜂間の闘争の際に役だっているかもしれない。なぜなら2匹の女王蜂が闘争時に一刺しした相手がノックダウンせず、なかなか決着がつかなければ自分もダメージを受ける可能性が高まるためである。

2カストの毒の合成速度だけでなくその作用においても差異があることはたいへん興味深い。女王蜂は、働き蜂と異なりもっぱらライバルの女王蜂(昆虫)を相手とした刺針行動を進化させてきた。働き蜂の毒の用途が『防御』であるのに対し、女王蜂のものは昆虫(女王蜂)への『攻撃』に変化しているように思われる。同種であるミツバチの女王蜂と働き蜂をカストという観点で研究することは社会性ハチ類の蜂毒を追究するうえで重要なことかもしれない。

(〒194 町田市玉川学園6-1-1 玉川大学農学部)

#### 主な参考文献

- Bachmayer, H., G. Kreil and G. Suchanek. 1972. J. Insect Physiol. 18:1515-1521.
- Collins, A. M. 1980. Ann. Entomol. Soc. Am. 73:307-309.
- 井上秀雄. 1984. ミツバチ科学 5:63-66.
- 加藤学. 1994. 玉川大学農学部卒業論文. pp. 48.
- Marz, R., Co. Mollary and G. Keil. 1981. Insect Biochem. 11:685-690.
- Owen, M. D., J. L. Braidwood and A. R. Bridges. 1977. J. Insect Physiol. 23:1031-1035.
- Quistad, G. B., W. S. Skinner and D. A. Sooley. 1988. Insect Biochem. 18:511-514.
- 曾根崎猛史. 1988. 玉川大学農学部修士論文. pp. 59.
- KATO, MANABU. Caste-specific and age-related toxic activities of honeybee venom on the same species of honeybees. *Honeybee Science* (1994) 15 (3):119-122. Fac. Agric., Tamagawa Univ., Machida-shi, Tokyo, 194 Japan.
- Toxic activities of queen and worker honeybee (*Apis mellifera*) venom, evaluated as worker-cidal activity per venom reservoir, increased remarkably until 7 day after eclosion. Afterward queen venom activity decreased and maintained for a long time while worker venom activity showed further increase until 35 day after eclosion.
- The activity of worker venom, which has been reported to be highly toxic to insect, was lower than that of queen venom. This might reflect that the only target of the queen bee venom is her rival queen.