



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

アシナガバチ類のワーカー繁殖に関する生理・生態学的研究

メタデータ	言語: ja 出版者: 公開日: 2015-03-23 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 山崎, 和久 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/49100

アシナガバチ類のワーカー繁殖に関する
生理・生態学的研究

2013 年

岐阜大学大学院連合農学研究科

生物環境科学

(岐阜大学)

山崎 和久

目次

第 1 章 緒論	-----	1
第 2 章 キアシナガバチの早期羽化オスの調査	-----	5
緒論	-----	5
材料と方法	-----	6
1.コロニーの採集	-----	6
2.DNA マイクロサテライト領域の分析	-----	6
1)DNA の抽出	-----	6
2)PCR	-----	8
3)ゲルの作成と電気泳動	-----	8
4)ゲルの染色およびフラグメントサイズの解析	-----	9
結果	-----	10
考察	-----	10
第 3 章 野外のコアシナガバチの生存率と営巣規模の調査	-----	17
緒論	-----	17
材料と方法	-----	18
1.コロニーの記録と採集	-----	18
2.メス成虫の卵巣発達および交尾の確認	-----	20
3.創設女王およびコロニーの生存率の調査	-----	20
4.女王コロニーと孤児コロニーの発達の比較	-----	21
結果	-----	22
1.創設女王およびコロニーの生存率	-----	22
2.女王コロニーの孤児コロニーの規模	-----	23
1)生殖カースト出現期の規模(2006年)	-----	23
2)営巣規模の経時的変化(2007-2009年)	-----	23
2-1)育房数	-----	24
2-2)ワーカー数	-----	25
2-3)卵数	-----	26
考察	-----	27
第 4 章 コアシナガバチの女王の喪失がコロニーに及ぼす影響の調査	-----	44

緒論	-----	44
材料と方法	-----	44
1.コロニーの採集と飼育	-----	44
2.創設女王と既交尾・後継女王の優位行動の記録	-----	45
3.創設女王と未交尾・後継女王の優位行動の記録	-----	46
4.コロニーの発達の計測	-----	47
5.解剖	-----	48
結果	-----	48
1.創設女王と既交尾・後継女王の優位行動	-----	48
2.創設女王と未交尾・後継女王の優位行動	-----	49
3.創設女王の除去後のコロニー発達	-----	51
考察	-----	52
第5章 コアシナガバチの体表ワックス成分の調査	-----	64
緒論	-----	64
材料と方法	-----	65
1.体表ワックスの抽出	-----	65
1)野外の女王とワーカーからの抽出	-----	65
2)個体を生かしたままの抽出	-----	65
2.CHC成分の推定	-----	66
2.CHC組成比の比較	-----	67
1)分析	-----	67
2)分析結果の標準化	-----	68
3)ピーク面積の計算	-----	68
結果	-----	69
1.コアシナガバチのCHC成分	-----	69
2.カーストおよび繁殖生理とCHC組成比	-----	69
3.ワーカーのCHC組成比の変化	-----	70
考察	-----	71
第6章 総合考察	-----	79
摘要	-----	82
謝辞	-----	85
引用文献	-----	86

第 1 章

緒論

社会性昆虫のコロニーでは、1 個体あるいは少数の繁殖メスが女王として産卵を独占し、他の多くのメスは外役や幼虫の育児などの労働を行い直接の繁殖をしない分業が見られる (Wilson 1971)。半数倍数性の性決定機構を持つ真社会性膜翅目では、ワーカーによる協力行動は包括適応度に基づいた血縁選択説によって説明される。ワーカーにとっては妹への血縁度が弟に対してよりも高いという血縁度の非対称性がある一方で、女王から娘・息子への血縁度は等しい。1 回交尾の単女王コロニーの生産する雌雄の最適な性比は、ワーカー制御であれば 3:1、女王制御であれば 1:1 であり、血縁度非対称性は子孫の性比とオス生産を巡って、個体間の競争がコロニー内で生じることを予測している (Trivers and Hare 1976)。社会性膜翅目では女王が産卵を独占するのが一般的であるが、ワーカーも潜在的には産卵能力を持つことが、特に原始的な真社会性の種において知られている。例えば、日本産のフタモンアシナガバチ *Polistes chinensis antennalis* では 39% のオスがワーカー由来であると推定されており (Tsuchida *et al.* 2003)、新熱帯産マルハナバチの *Bombus wilmattae* でもワーカー由来のオスが 90% 近くを占めている (Huth-Schwarz *et al.* 2011)。アシナガバチ類のコロニーには多女王制と単女王制がある。多女王制のコロニーでは、最優位の女王が失われた場合に生存している創設メスのうち最優位の個体がコロニーの繁殖を引き継ぐが、単女王制の場合は娘であるワーカーによって引き継がれる (Pardi 1948; Reeve 1991)。独立創設型のアシナガバチ類では、女王

は 1 回交尾が一般的である (Peters *et al.* 1995; Arévalo *et al.* 1998; Field *et al.* 1998; Queller *et al.* 2000; Strassmann 2001; Sappä *et al.* 2002; Tsuchida *et al.* 2003; Sayama and Takahashi 2005)。そのため単女王制のコロニーでは、娘であるワーカー同士は父親由来の染色体を共有した姉妹である。女王が失われた孤児コロニーでは、ワーカー同士は直接の繁殖(実子への期待血縁度 $r=0.5$)と間接の繁殖(甥への期待血縁度 $r=0.375$)を巡る競争関係にある。どの個体が孤児コロニーにおいて次の女王になるかは、日齢などの指標に基づいて決定されている。例えば温帯産や亜熱帯産単雌創設のアシナガバチ類では、女王が失われるとワーカーの中の最優位個体が後継女王としてコロニーを引き継ぐことが報告されてきた (Strassmann and Meyer 1983; Suzuki 1987; Hughes and Strassmann 1988; Reeve 1991; Miyano 1991)。しかし、孤児コロニーの生産性が女王コロニーの生産性と比較してどの程度高いかは、ほとんど明らかにされてこなかった。野外の個体群で孤児コロニーが占める割合は決して低くは無く、例えばキボシアシナガバチ *P. nipponensis* では 46%のコロニーがワーカー羽化前の時期に女王を失うことが報告されている (Hagiwara and Kojima 2002)。フタモンアシナガバチでは 8 月上旬までに約 20-35%のコロニーが創設女王を失う (Suzuki 1981; Miyano 1986; Tsuchida *et al.* 2003)。北米産アシナガバチの一種 *P. exclamans* では、51.6-62.9%のコロニーが 7 月より以前に創設女王を失う (Strassmann 1981)。同じく北米で調査された *P. dominula* の個体群では、6 月下旬までに 20%のコロニーが創設女王を失う (Strassmann *et al.* 2004)。多くのアシナガバチ類では娘世代のワーカーは交尾する機会が無く、未受精卵によるオス生産だけに関与すると考えられている。したがって、

孤児コロニーの生産するオスは個体群性比とコロニー性比の両方に大きな影響を与えると予想される (Crozier and Pamilio 1996)。Tsuchida *et al.* (2003)はワーカー産卵を考慮した性比モデルを作成し、それと野外のフタモンアシナガバチのコロニーの性比を比較する研究を行った。しかし、この研究以外に、ワーカーによるオス生産の影響を評価した研究はほとんどなされてこなかった。

北米産の *P. exclamans* では、生活史の初期に第1ブルードのワーカーとともに少数のオス(早期羽化オス *early male*)が生産され、早期羽化オスと交尾したワーカーが創設女王の喪失後に受精卵を産むことが報告されている (Strassmann 1981)。この研究以降、複数の種で早期羽化オス生産が報告され、結果として生ずる既交尾ワーカーがオスに育つ無精卵とメス(新女王)に育つ受精卵の両方を産むことが示されてきた(コアシナガバチ, Suzuki 1985, 1997, 1998; Ono 1989; 北米産アシナガバチの一種 *P. fuscatus variatus*, Page *et al.* 1989; キボシアシナガバチ, Hagiwara and Kojima 2002)。このような種では、ワーカー繁殖はオス生産だけでなくメス生産にも寄与する。繁殖の可塑性が高いこれらのアシナガバチ類のワーカーが、実際にコロニーの生産性にどの程度寄与するかを明らかにすることは重要な意味を持つが、これまでの知見はごく一部の種の個体群に限られてきた。

本研究では、近年に早期羽化オスの生産が知られるようになったキアシナガバチ *P. rothneyi iwatai* において早期羽化オスの倍数性を調査し、その繁殖能力を評価した。また、既に早期羽化オスの繁殖能力が知られているコアシナガバチを材料として野外の個体群の調査と室内実験を行い、創設女王とワーカーの繁殖能力および行動、繁殖生理、体表物質の化学組成を比較した。これらの結果から、日

本産アシナガバチ類のワーカー繁殖と早期羽化オス生産の適応的意義について検討した。

第 2 章

キアシナガバチの早期羽化オスの調査

緒論

半数倍数性の性決定様式を示す社会性膜翅目では、メスは卵が受精して性決定遺伝子座がヘテロ接合体になった 2 倍体の個体で、オスは通常は性決定遺伝子座がヘミの半数体の個体である。一方、性決定遺伝子座がホモ接合体になった 2 倍体オスは 2 倍体の精子を生産し、仮に受精能力を持っていても受精卵からは不稔の 3 倍体を生じることから、2 倍体オスとの交尾はメスにとって大きな遺伝的負荷となると考えられている (Hung *et al.* 1974; Naito and Suzuki 1991; Stouthamer *et al.* 1992; Ayabe *et al.* 2004)。日本産アシナガバチ類のうち、コアシナガバチでは早期羽化オスは半数体であることが報告されている (Hoshiya and Ono 1984)。一方でフタモンアシナガバチでは早期羽化オスは性決定遺伝子座がホモ接合体になった 2 倍体の個体であることが確認されている (Tsuchida *et al.* 2002, 2004)。早期羽化オスが 2 倍体のフタモンアシナガバチでは、早期羽化オス生産は有効な繁殖戦略としての意味を持たないとされている (Tsuchida *et al.* 2002, 2004)。アシナガバチ類では、この他にも 2 倍体オスの出現が直接的あるいは 3 倍体メスの存在から間接的に確認されている (北米産アシナガバチの一種 *P. apachus*, Liebert *et al.* 2004; *P. dominulus*, Liebert *et al.* 2005)。

早期羽化オス生産の意義は、早期羽化オスの倍数性が半数体か 2 倍体かによって全く異なる。そのため、早期羽化オスの生産とその繁殖が適応的なものであるかを論じる上では、早期羽化オスの倍数

性を調査することが重要である(Liebert *et al.* 2004)。日本産アシナガバチ類では前述の3種にセグロアシナガバチ *P. jokahamae*(Kasuya 1983)を加えた4種でのみ早期羽化オスが確認されていたが、近年キアシナガバチでも早期羽化オスが発見され、実験条件下でその交尾が確認された(山崎 2005, 図 1)。本研究では分子マーカーを用いたDNAマイクロサテライト領域の分析により、キアシナガバチの早期羽化オスの倍数性を明らかにし、その繁殖能力を評価した。

材料と方法

1. コロニーの採集

キアシナガバチの早期羽化オス生産コロニーを2004年と2006年の6月下旬に東京都町田市にて(コロニー04019、06001)、2004年の7月上旬に埼玉県狭山市にて(コロニー04020)、2007年7月中旬に長野県茅野市にて(コロニー07001)、それぞれ採集した。全てのコロニーは第1ブルードの羽化直後の段階であり、合計13個体の早期羽化オスが得られた。コロニーの採集は、全ての成虫が帰巢した日没後にプラスチックカップを用いて行った。採集したコロニーは保冷箱に入れ、生きたまま実験室に運んだ。持ち帰った早期羽化オス生産コロニーについては、第一ブルードの成虫の個体数と性比(成虫メス/成虫オス)を算出した。

2. DNAマイクロサテライト領域の分析

1) DNAの抽出

採集した早期羽化オスの成虫からDNAを抽出した。抽出には各

個体の触角 1 本を切り離して用いた。DNA のコンタミネーションを防ぐため、試料の切断と取り出しに用いたピンセットは個体毎に 70%エタノールで洗い、キムワイプ(日本製紙クレシア社製)で拭いた。試料は 1.5ml マイクロチューブに入れ、液体窒素を用いて完全に凍結させたのち、ペッスル(トーヨー株式会社製)で破碎した。試料の入ったチューブに Chelex 法による混合抽出液(1M Tris-HCl1ml、0.5M EDTA200 μ l、1M NaCl15ml、DW²78.8ml)を 1 試料あたり 95 μ l とプロテナーゼ K(20mg/ml)を 1 μ l、Chelex(0.1g/5ml)を 4 μ l 加えた。これらのチューブは 56 $^{\circ}$ C のオーブン内に 2 時間静置し、溶液を反応させた。その後、全量の溶液を 0.2ml のチューブに移し、溶液中のタンパク質を変性させるためにサーマルサイクラー(TP600, タカラバイオ株式会社製)を用いて 99.9 $^{\circ}$ C で 3 分間加熱した。溶液の入ったチューブを 10 秒間振とうした後、12000rpm で 3 分間遠心分離した。上清を 50 μ l 取り出し、新しい 0.2ml チューブに移し、3M 酢酸ナトリウム 5 μ l と 99%エタノール 100 μ l を加えて攪拌し、-20 $^{\circ}$ C の冷凍庫内で 1 晩静置した。その後 12000rpm で 15 分間遠心分離し、チューブ内の溶液を捨ててチューブの口を下にしてキムワイプに軽く叩きつけ、チューブ内壁の DNA ペレットを残し内部の溶液を全て取り除いた。これらのチューブに 70%エタノールを 100 μ l 入れて 12000rpm で 2 分間遠心分離し、内部のエタノールを除去したのち、チューブの蓋を開けたまま 37 $^{\circ}$ C のオーブンに入れ、1-2 時間乾燥させた。最後に TE バッファーを 30 μ l 入れて乾燥した DNA ペレットを溶解し、早期羽化オスの DNA 試料とした。

2) PCR

キアシナガバチから設計された DNA マイクロサテライト領域のプライマー10 遺伝子座 (Takahashi and Yamasaki 2007, 表 1)のうち、2 遺伝子座 (Pr-4, Pr-7)において 13 個体の早期羽化オス DNA 試料の PCR を行った。この 2 遺伝子座の分析で PCR 産物の増幅および遺伝子型の多型がなく、倍数性を決定できなかった試料は、さらに 1 遺伝子座 (Pr-3)における PCR を行った。0.2ml チューブに $10\times$ Ex Taq DNA ポリメラーゼバッファー $1\mu\text{l}$ と $2.5\mu\text{M}$ dNTP 混合液 $0.1\mu\text{l}$ 、Ex Taq DNA ポリメラーゼ ($5\text{U}/\mu\text{l}$) $0.05\mu\text{l}$ 、 $5\text{pmol}/\mu\text{l}$ のフォワードプライマーとリバースプライマーを $0.5\mu\text{l}$ ずつ、 dH_2O $6.85\mu\text{l}$ を混ぜた反応液に、試料となる DNA $1\mu\text{l}$ を加えた。反応条件は Takahashi and Yamasaki (2007) に従い、サーマルサイクラー TP600 を用いて PCR を行った。

3) ゲルの作成と電気泳動

ラピダス・スラブゲル作製器 (AE-6210, ATTO 社製) に 2 枚のガラス板を挟み、装置を組み立てた。アクリルアミド 34.2g 、N.N'-メチレンビス アクリルアミド 1.8g を DW で溶解し、全量を 100ml にした 36% アクリルアミドを用いた。DDW 12.1ml と $5\times$ TBE 4.2ml 、36% アクリルアミド 4.7ml 、10% APS (過硫酸アンモニウム) $200\mu\text{l}$ 、TEMED $10\mu\text{l}$ を混合した後でゲル作製器に流し込み、異物が入らないように上から 70% エタノールを注ぎ込んだ。装置全体をラップフィルムで覆い、数時間静置してゲルを固化させた。その後、泳動用バッファー ($1\times$ TBE) を満たした泳動槽 (AE-6200、AE-6220 ATTO 製) にゲルプレートをセットし、あらかじめローディングバ

ッファー 2 μ l と混ぜておいた DNA サンプルをシャーコームのスリットに 5 μ l ずつ注入した。フラグメントサイズの目安として、Marker 10(NIPPON GENE 社製)1 μ l とローディングバッファー 10 μ l、TE49 μ l を混合したものを、PCR 産物と同量一緒に泳動した。泳動は室温で行い、250V 一定で、PCR 産物のフラグメントサイズに応じた各設定時間に基づいて行った(表 2)。

4) ゲルの染色およびフラグメントサイズの解析

泳動後のゲルは Bassam *et al.*(1991)の手法に従い、銀染色によってバンドを可視化した。電気泳動後のゲルをガラス容器に入れ、10%酢酸で浸して 20 分間振とうした。次に酢酸を捨て、イオン交換水を注いで 3 分間振とうしながら洗浄した。1 度容器内のイオン交換水を捨て、新たにこれを注いで振とうしながら 3 分間洗浄した。再度イオン交換水を捨て、DW 100ml に硝酸銀 0.1g、ホルムアルデヒド 150 μ l を混合した溶液でゲルを浸して 30 分間振とうした。硝酸銀水溶液を捨て、ゲルをイオン交換水で 20 秒間洗浄した後、DW 100ml に炭酸ナトリウム 3g、ホルムアルデヒド 150 μ l を混合した溶液に浸して 5 分間振とうした。炭酸ナトリウム水溶液を捨て、最後に 10%酢酸でゲルを浸して 5 分間振とうし、バンドを視覚化・固定した。銀染色後、ゲルをデジタルカメラ (Kodak Digital Science DC120, Kodak 社製) で撮影し、バンド解析ソフト(Kodak 1D, Kodak 社製)を用いてフラグメントサイズを解析した。解析後のゲルはセロファンで挟み、ラピドライミニ(AE-3711, ATTO 社製)を用いて乾燥させ、保存した。

結果

早期羽化オス生産コロニーでは、 7.8 ± 0.9 (平均 \pm 標準誤差) 個体の第 1 ブルードが生産され、早期羽化オスは 3.3 ± 0.9 個体であった。第 1 ブルードにおけるオス比は 0.5 と有意な差が見られなかった(二項検定, $P < 0.05$; 表 3)。

Pr-4 と Pr-7 の 2 遺伝子座を用いた DNA マイクロサテライト領域の分析では、4 つのコロニー由来の早期羽化オスのうち 2 つのコロニー(04019, 07001)由来の個体は全て 2 倍体オスであった。残りの 2 コロニー(04020, 06001)由来の個体について 1 遺伝子座(Pr-3)を加えて合計 3 遺伝子座で分析した結果、4 つのコロニーの早期羽化オス 13 個体は全て 2 倍体オスであった(表 3)。

考察

東京都町田市と埼玉県狭山市、長野県茅野市の互いに遠く離れた 3 つの個体群で得られたキアシナガバチの早期羽化オスは、全て 2 倍体であった。このことから、本種では創設女王の性決定遺伝子座がホモ接合体になる組み合わせで交尾したことにより、2 倍体オスが早期羽化オスとして生産されたと考えられた。膜翅目のうち 1 遺伝子座-相補的性決定機構を持つ種では、女王が 1 回交尾の場合に 2 倍体オスとメスは 1:1 の比率で生産される(Duchateau *et al.* 1994; Tsuchida *et al.* 2002; Takahashi *et al.* 2008)。キアシナガバチの女王は 1 回交尾であることが示唆されている(川添 1997)。本研究で調査したキアシナガバチの早期羽化オス生産コロニーでは、2 倍体早期

羽化オス比は 0.5 と有意差が無く、1 遺伝子座-相補的性決定機構モデルで期待される性比と一致していた。

膜翅目の 2 倍体オスは 2 倍体の精子を生産し、交尾した場合には受精によって不稔の 3 倍体メスが生まれることから、事実上の不稔個体であるとされている (Hung *et al.* 1974; Naito and Suzuki 1991; Stouthamer *et al.* 1992)。アシナガバチ類では *P. fuscatus*、*P. dominulus*、*P. aurifer* の 3 種において、3 倍体メスの存在から 2 倍体オスが繁殖能力を持つことが間接的に示されている (Liebert *et al.* 2004, 2005)。しかしこれらの種の 2 倍体オスの配偶行動については報告が無く、アシナガバチ類の 2 倍体オスが繁殖能力を持つことの直接的な証拠はこれまでに示されてこなかった。キアシナガバチでは、早期羽化オスの配偶行動およびメス受精嚢への精子の移動から、その交尾能力が確認されている (山崎 2005)。この報告と本研究の結果から、キアシナガバチの早期羽化オスは交尾能力を持つものの、2 倍体であるために不稔であることが明らかになった。

本種の早期羽化オスはワーカーに対して交尾行動をとらず、新女王との間でのみ交尾が確認されている (山崎 2005)。本種の 2 倍体の早期羽化オスと交尾した新女王は、仮に越冬して翌年まで生存できたとしても受精卵によって不稔の 3 倍体の子孫しか生産できないと考えられる。セイヨウオオマルハナバチ *Bombus terrestris* では、2 倍体オスは通常のオスよりも短命であると報告されている (Duchateau and Marien 1995)。キアシナガバチの交尾時期に関する情報は少ないが、オスは通常は 7 月中旬から 9 月上旬に羽化し、羽化から 2 ヶ月ほどが経過した 9 月から 10 月に新女王と交尾するとされている (松浦 1995)。本研究ではキアシナガバチの 2 倍体早期羽化オ

スの寿命を正確に調査しなかったが、山崎(2005)が交尾実験に用いるために実験室内で飼育した9個体の早期羽化オスは、羽化から約2ヶ月半後に液浸保存するために99%エタノール中に投入するまで、全ての個体が生存していた。仮に野外でもキアシナガバチの早期羽化オスが同様の期間を生存すれば、新女王と交尾する可能性が考えられる。

遺伝学的な分析の結果から、アシナガバチ類の2倍体オスは同巢内交配ではなく性決定遺伝子座における対立遺伝子の多様性の低下によって出現するとされている(Tsuchida *et al.* 2002; Liebert *et al.* 2005)。キアシナガバチではこれまでに分子マーカーを用いた個体群の遺伝的構造の詳細な調査が行われておらず、2倍体の早期羽化オスが生産される原因については現段階では不明であるが、早期羽化オスがワーカーに対して交尾行動をとらなかったという過去の報告と全ての個体が2倍体オスであったという本研究の結果から、キアシナガバチにおいて早期羽化オスの生産はワーカーの交尾と受精卵生産に寄与しないと推察できる。

表1. 早期羽化オスのDNA分析に用いたプライマーのリスト.

遺伝子座	繰り返し配列	プライマー (5'-3')	アニーリング温度 (°C)	サイズ (bp)
Pr-1	(TC) 14	CTACCCTAGTAGCGGCAGAGTAC GGTTTGCTTTGGTTTCGAGTGGTC	54	151
Pr-2	(TC) 18	GATGACGTGTTGCGGGCTACCGGT CGATACAGGGGAAAGAGTGAGGAG	54	126
Pr-3	(AG) 19	GTGAGTGTGGGATAGAAACGAC CTGGTCAGTAGCTGCGTCGAATGC	54	188
Pr-4	(GA) 13	GCCCATCTTTCTACCACCTTCCGC AACACCTTGGATCTTCGAGTAGGC	54	211
Pr-5	(TC) 16	TGACTTTGACCCGCGGCATCGTGAC CGGACAGTGATTAATGTCGTGCGG	46	156
Pr-6	(TC) 16	ACGATCGAACACGAAACGAAAC CCTGGCAAAGATGATTTCTCC	54	198
Pr-7	(AG) 16	ACGCCAAGAGAGAACGAGAG GTCTCCAGAGAAAGAGGAGAAAG	54	148
Pr-8	(CT) 21	GCATCGAGGGGAAAATCGTA GGGAGATATGACGTGCGAAG	44	169
Pr-9	(GA) 22	TCGAGGCACGTACATATACGGCGT GCACCGCAGTTAGCAITTCG	48	242
Pr-10	(GA) 29	TATCGCGTTGCCGGCGTTGTCGAG CCGGGAGCGGTGCTCACITTCCTAG	54	206

表2. 各プライマーのPCR条件と泳動時間.

遺伝子座	プライマー (5'-3')	アニーリング温度 (°C)	サイクル数	泳動時間(時間:分)
Pr-3	GTGAGTGTGGGATAGAAACGAC CTGGTCAGTAGCTGCGTCGAAATGC	57	23	4:30
Pr-4	GCCCATCTTTCTACCACITTTCCGC AACACCTTGGATCTTCGAGTAGGC	65	30	5:30
Pr-7	ACGCCAAGAGAGAACGAGAG GTCTCCAGAGAAAGAGAGAAAG	57	26	4:30

表3. 早期羽化オスのDNA分析の結果と性比. a第1ブルードの早期羽化オスとメスの個体数を示す. b第1ブルードの性比を二項検定により分析した. cカッコ内の数字は遺伝子型が検出された個体数を示す.

コロニー	n ^a	第1ブルードにおける 早期羽化オス比	P ^b	DNA分析に用いた 早期羽化オス	分析に用いた遺伝子座 ^c		
					Pr-3	Pr-4	Pr-7
04019	9	0.56	1.00	5	-	214/234(2) 214(3)	135/137(5)
04020	9	0.44	1.00	4	188/196(4)	214/234(3) 214(1)	149(4)
06001	8	0.13	0.07	1	190/192(1)	236(1)	135(1)
07001	5	0.60	1.00	3	-	214/234(2) 234(1)	151/153(3)



図1. 交尾を試みるキアシナガバチの早期羽化オス. 新女王との間でのみ交尾が成立し、ワーカーに対して交尾姿勢をとる例は観察されなかった。

第 3 章

野外のコアシナガバチの生存率と営巣規模の調査

緒論

一般的にアシナガバチ類では、女王の在巣時にはワーカー繁殖が抑制されており、女王がコロニー内で唯一の産卵個体である。年一化の生活史を持つ種では、女王の喪失後に開始されるワーカー繁殖の生産性は、営巣期間の長さに影響される。北米南部の亜熱帯地域に生息する *P. exclamans* では、ワーカーは早期羽化オスと交尾し、創設女王の喪失後には後継女王(産卵ワーカー)として母巣で繁殖するだけでなく、一部の個体は離巣して衛星巣(satellite nest)を創設することが知られている(Strassmann 1981)。本種に見られる早期羽化オスの存在およびワーカー繁殖の高い可塑性は、野外の本種のコロニーが高い割合で創設女王を喪失することと、営巣期間が 9 ヶ月の長期に及ぶことに深く関係する。ある種のアシナガバチにおける早期羽化オスの存在は、その種においてワーカーが高い繁殖の可塑性を持つことを示す指標になり得る。しかし、早期羽化オスの存在とワーカー繁殖がコロニーの生産性にどの程度寄与しているかを明らかにするためには、創設女王がどの程度の頻度で喪失しているか、また孤児コロニーの生産性が女王コロニーと比較してどの程度であるかを野外の個体群において調査することが不可欠である。早期羽化オス生産の有無や営巣期間の長さは、種によって、あるいは生息する気候によって多様である。しかし、ワーカー繁殖の生産性についての研究は、これまで一部の種あるいは個体群を対象としたものに限られていた。

コアシナガバチは温帯に分布するアシナガバチで、年一化性の生活史を持つ。本種では1回交尾の単女王が春に巣を創設する(Sayama & Takahashi 2005)。巣は開放空間に作られ、同心円状ではなく1つの方向に拡大される。本種は成虫が脱出して空き部屋となった育房に再度産卵することはなく、産卵メスは巣の縁に新設された育房にのみ産卵する。本研究では長野県諏訪市を調査地とし、本種の創設女王の喪失率とコロニーの生存率、女王コロニーとコロニーのコロニー発達の差異を調査した。これにより当地におけるコアシナガバチのワーカー繁殖の生産性について推察した。

材料と方法

1. コロニーの記録と採集

2006年から2009年の4年間に、長野県諏訪市の調査地(図2)で見られた全てのコロニーを記録し、創設女王の有無とコロニーの内訳を記録した。

2006年は8月上旬(8/4)に調査地で日中(10時から17時)にコロニーを探索した。コロニーの採集は、全ての成虫が帰巢した夜間(19時から0時)にビニール袋を用いて行った。コロニーの入った袋は個別にクリーンカップ(リスパック社製)に入れ、保冷箱を用いて生きのまま実験室に運んだ。持ち帰ったコロニーは直ちに-20℃の冷凍庫に入れて保存した。全てのコロニーは実験室にて採集時の育房数とブルードの個体数を記録した。

2007年と2008年はいずれも6月下旬と7月中旬、8月中旬に合計3回の調査を行った(図3)。はじめに6月下旬(6/27, 28)に第1回の

調査を行い、全ての女王コロニーの位置と育房数を記録した。記録後はピンセットで創設女王を捕捉し、山根(1986)に倣って不透明油溶性のカラーペン(オパックカラー,マジック社製)を用いて中胸背板に個体識別のためのマーキングを施した。マーキング後は創設女王を放ち、全ての創設女王がコロニーを放棄せずに数分から数十分の間に帰巢することを確認した。第2回の調査は7月中旬(7/19)に行い、コロニーの生存もしくは崩壊を記録した。生存していたコロニーについては創設女王の有無を記録した。アシナガバチ類では、何らかの要因により自巢を失った創設女王が、創設女王が存在する他のコロニーを乗っ取る、あるいは創設女王を失った他のコロニーを引き継ぐ性質が知られている(Yoshikawa 1955; Gamboa 1978; Klahn and Gamboa 1983; Klahn 1988; Makino 1985, 1989; Makino and Sayama 1991)。本研究においても創設女王の置き換わりが見られたため、他コロニー由来の置き換わり女王は新たにマーキングを施して個体識別した。第3回の調査は8月中旬(8/10, 11)に行い、日中にコロニーの生存もしくは崩壊を記録したのち、夜間に全てのコロニーを採集した。持ち帰ったコロニーは冷凍保存し、ブルードの個体数を記録した。

2009年は5月中旬と6月下旬、7月中旬、8月中旬に合計4回の調査を行った(図3)。はじめに5月中旬(5/14, 15)に第1回の調査を行い、2007・2008年と同様に全ての女王コロニーの位置と育房数を記録し、創設女王に個体識別のためのマーキングを施した。第2回目の調査は6月下旬(6/25)に行い、コロニーの生存あるいは崩壊、創設女王の置き換わりを記録した。第3回目の調査は7月下旬(7/26)に行い、第2回目と同様にコロニーの生存あるいは崩壊、創設女王

の置き換わりを記録した。第4回目の調査は8月中旬(8/13)に行い、2007・2008年と同様に日中にコロニーの生存あるいは崩壊を記録し、夜間にコロニーを採集して実験室に運んだ。持ち帰ったコロニーは冷凍保存し、実験室にてブルードの個体数を記録した。

2. メス成虫の卵巢発達および交尾の確認

2006年から2009年までに採集したコロニーのメス成虫は実体顕微鏡下で腹部を生理食塩水に浸して解剖し、卵巢と受精嚢を観察した。本種の卵巢発達は Suzuki(1997, 1998)の基準に従って4段階に評価し、卵巢小管内に成熟卵を持つもの(fully developed と normally developed の2段階)を卵巢発達個体、それ以外のものを卵巢未発達個体とした(図4)。受精嚢はピンセットを用いて腹部から取り出し、スライドガラス上でカバーガラスを用いて静かに圧迫・固定して生物顕微鏡下で観察した。受精嚢内に繊維状の精子が確認できたものを既交尾個体、精子が確認できず受精嚢内の内袋が空のものを未交尾個体とした(図5)。

3. 創設女王およびコロニーの生存率の調査

アシナガバチ類の創設女王は前・後翅が退色して明るいことから、娘世代のメス成虫(ワーカーと新女王)と判別することができる。これをもとに2006年の8月に調査地で採集したコロニーの創設女王の有無を確認し、女王コロニーと孤児コロニーの割合を比較した。2007年から2009年の3年間は、第1回から第3回まで(2009年は第4回まで)のコロニーの生存率(全コロニーから営巣に失敗したコロニーを差し引いたもの)と創設女王の生存率、女王の置き換わりの有無を

調査した。女王の置き換わりが見られたコロニーは、創設女王を喪失し営巣に失敗したものと定義した。これと同様に、巣が失われて営巣期間中に再建巣となったコロニーも営巣に失敗したものと定義した。

4. 女王コロニーと孤児コロニーの発達の比較

2006年に採集した女王コロニーと孤児コロニーについて、女王以外のメス成虫とオス成虫の個体数、育房数、コロニー内の卵数をもとに、両者の規模を比較した。また2007年から2009年の3年間は、6月の調査で創設女王を確認できたコロニーを(1)7月および8月の調査でも創設女王を確認できた女王コロニーと(2)7月の調査で創設女王の喪失が確認された孤児コロニーの2群に分け、育房数と成虫数、卵数において両群の営巣規模の変化を比較した。一般的にコアシナガバチのコロニーでは、生殖カースト生産の時期になると先にオスが羽化し、次いで新女王が羽化することが知られている(Suzuki 1986)。本研究の8月の調査・採集は、調査地のコアシナガバチではオス成虫の羽化が始まる時期に相当する。そのため、本研究で得られた子世代のメス成虫は便宜的に全てワーカーとして扱った。アシナガバチ類では、他コロニー由来の女王による置き換わりを経験したコロニーは、置き換わりを経験しないコロニーよりも発達が悪くなることが知られている(Makino and Sayama 1991)。そこで本研究では、他コロニー由来の女王による置き換わりが起こったコロニーのデータは比較から除外した。同様に、調査期間中に何らかの原因で巣が失われ再建したコロニーも、比較から除外した。調査地ではコアシナガバチの多くが石垣に営巣し、コロニーの発達とと

もに一部の育房が石垣に接するため、育房数を目視により確認することが困難になる。そこで、育房数については全てのコロニーの育房が目視により確認できた6月の調査での結果と、コロニーを採集して実験室にて確認できた8月の調査での結果をもとに、女王コロニーと孤児コロニーの規模を比較した。

結果

1. 創設女王およびコロニーの生存率

2006年8月上旬に調査地にて採集されたコアシナガバチは合計43コロニーで、巣が破壊されて一部を欠いたものや再建巣となったものを除くと40コロニーであった。そのうち52.5%(21/40)が女王コロニーであった。2007年は6月の調査で50コロニーを記録した。7月の調査でのコロニーの生存率は48.0%(24/50)であり、創設女王の生存率は36.0%(18/50)であった。8月の調査ではコロニーの生存率は24.0%(12/50)であり、創設女王の生存率は18.0%(9/50)であった(図6a)。2008年は6月の調査で85コロニーを記録した。7月の調査ではコロニーの生存率は65.9%(56/85)であり、創設女王の生存率は57.6%(49/85)であった。8月の調査ではコロニーの生存率は38.8%(33/85)であり、創設女王の生存率は24.7%(21/85)であった(図6b)。2009年は5月の調査で145コロニーを記録した。6月の調査ではコロニーの生存率は55.2%(80/145)であり、創設女王の生存率は49.7%(72/145)であった。7月の調査ではコロニーの生存率は20.7%(30/145)であり、創設女王の生存率は12.4%(18/145)であった。8月の調査ではコロニーの生存率は13.1%(19/145)であり、創設女王

の生存率は 4.1%(6/145)であった(図 6c)。

2. 女王コロニーと孤児コロニーの規模

1) 生殖カースト出現期の規模(2006年)

2006年の8月に採集したコロニーでは、女王コロニーの育房数は 61.8 ± 3.4 であり、孤児コロニーの育房数との間に有意差は見られなかった (59.8 ± 5.0 ; Mann-Whitney の U 検定, $P > 0.05$; 図 7)。女王コロニーの女王を除くメス成虫は 6.4 ± 0.6 個体であり、孤児コロニーのメス成虫数との間に有意差は見られなかった (7.3 ± 0.9 個体; Mann-Whitney の U 検定, $P > 0.05$; 図 7)。オス成虫は女王コロニーで 1.3 ± 0.5 個体、孤児コロニーで 0.3 ± 0.2 個体であり、卵は女王コロニーで 13.2 ± 2.0 個体、孤児コロニーで 14.3 ± 1.8 個体であった。オス成虫と卵の個体数についても、女王コロニーと孤児コロニーの間に有意差は見られなかった (Mann-Whitney の U 検定, $P > 0.05$; 図 7)。メス成虫の解剖の結果、卵巣発達ワーカーは女王コロニーでは 0.1 ± 0.1 個体、孤児コロニーでは 1.3 ± 0.2 個体が見られ、女王コロニーでの個体数は孤児コロニーでの個体数よりも有意に少なかった (Mann-Whitney の U 検定, $P < 0.0001$; 図 7)。孤児コロニーでは既交尾の卵巣発達ワーカーが 0.7 ± 0.1 個体見られ、女王コロニーでの個体数よりも有意に少なかった (0 個体; Mann-Whitney の U 検定, $P < 0.0001$; 図 7)。

2) 営巣規模の経時的変化(2007-2009年)

営巣規模の変化の調査では、女王コロニーと孤児コロニーはそれぞれ 9 コロニーと 2 コロニー(2007年)、20 コロニーと 3 コロニ

一(2008年)、6コロニーと7コロニー(2009年)が8月の調査まで生存したため、これらを用いた。2007年と2008年の結果については、孤児コロニーの標本数が少なかったため統計解析は行わなかった。

2-1) 育房数

6月の調査での女王コロニーと将来孤児コロニー(7月の調査までに創設女王を失う)の育房数は、それぞれ 25.0 ± 1.3 と 27.0 ± 2.0 (2007年)、 38.9 ± 2.3 と 30.0 ± 3.2 (2008年)であり、2007年、2008年ともに女王コロニーと将来孤児コロニーの育房数は同等であった。2009年6月の調査では、女王コロニーの育房数は 38.8 ± 5.1 、将来孤児コロニーの育房数は 35.7 ± 6.3 であり、両者の育房数には有意差が見られなかった(Mann-WhitneyのU検定, $P > 0.05$)。8月の調査における育房数は、女王コロニーと孤児コロニーでそれぞれ 68.3 ± 8.1 と 99.5 ± 1.5 (2007年)、 142.2 ± 13.1 と 92.7 ± 17.6 (2008年)、 94.8 ± 25.2 と 88.6 ± 19.6 (2009年)であった。2007年8月の調査では孤児コロニーの育房数が女王コロニーの育房数よりも大きく(図 8a)、2008年8月の調査では女王コロニーの育房数が孤児コロニーの育房数よりも大きかった(図 9a)。2009年8月の育房数は、女王コロニーと孤児コロニーの間に有意差が見られなかった(Mann-WhitneyのU検定, $P > 0.05$; (図 10a)。6月の調査から8月の調査までに増加した育房数は女王コロニーと孤児コロニーでそれぞれ 43.3 ± 7.1 と 72.5 ± 3.5 (2007年; 図 8b)、 103.2 ± 12.0 と 62.7 ± 14.9 (2008年; 図 9b)、 56.0 ± 23.1 と 52.9 ± 13.7 (2009年)であった。2007年と2008年は相反した。2009

年は女王コロニーと孤児コロニーの増加した育房数に有意差は見られなかった(Mann-WhitneyのU検定, $P>0.05$; (図 10b)。

2-2) ワーカー数

6月の調査では、2007年の女王コロニーのワーカー数は 0.1 ± 0.1 個体で、1つを除いて全てのコロニーは最初のワーカーが羽化する前の段階であった。将来孤児コロニーは全て最初の成虫が羽化する前の段階であり、ワーカーは1個体も見られなかった(図 11a)。2008年と2009年は全てのコロニーが成虫羽化前の段階にありワーカーは1個体も見られなかった(図 11b, c)。7月の調査では、女王コロニーと孤児コロニーのワーカー数はそれぞれ 2.3 ± 0.7 個体と 3.5 ± 1.5 個体(2007年; 図 11a)、 6.4 ± 1.0 個体と 5.0 ± 1.2 個体(2008年; 図 11b)、 7.0 ± 1.4 個体と 7.7 ± 2.1 個体(2009年; 図 11c)であった。7月の調査でのワーカー数は調査年によって差異はあるものの、各年の女王コロニーと孤児コロニーの間では差が小さく、2009年の女王コロニーと孤児コロニーではワーカー数に有意差が見られなかった(Mann-WhitneyのU検定, $P>0.05$; 図 11c)。8月の調査では、女王コロニーと孤児コロニーのワーカー数はそれぞれ 3.3 ± 0.6 個体と 7.5 ± 0.5 個体(2007年; 図 11a)、 13.0 ± 2.2 個体と 8.3 ± 3.5 個体(2008年; 図 11b)、 10.8 ± 2.8 個体と 11.0 ± 2.9 個体(2009年; 図 11c)であった。2007年8月の調査では孤児コロニーで、2008年8月の調査では女王コロニーでワーカー数がより多く、2009年8月の調査では女王コロニーと孤児コロニーのワーカー数の間に有意差は見られなかった(Mann-WhitneyのU検定, $P>0.05$; 図 11c)。卵巣発達ワーカーが存在した女王コロニーの割合はそれ

ぞれ 22.2%(2/9; 2007 年)、10.0%(2/20; 2008 年)、16.7%(1/6; 2009 年)であり、孤児コロニーでの割合は各年とも 100%(2/2; 2007 年、3/3; 2008 年、7/7; 2009 年)であった(図 12)。2009 年の調査において、女王コロニーで卵巣発達ワーカーが存在した割合は、孤児コロニーよりも有意に低かった(Fisher の正確確率検定, $P < 0.01$; 図 12)。各年の卵巣発達ワーカーの個体数は女王コロニーと孤児コロニーでそれぞれ 2007 年は 0.2 ± 0.1 個体 (0.1 ± 0.1 個体; 既交尾・卵巣発達ワーカー)と 1.0 個体 (1.0 個体; 同)、2008 年は 0.1 ± 0.1 個体 (0 個体; 同)と 1.0 個体 (1.0 個体; 同)、2009 年は 0.2 ± 0.2 個体 (0 個体; 同)と 1.6 ± 0.3 個体 (1.1 ± 0.2 個体; 同)であった(図 13a, b)。2009 年の調査において、女王コロニーの卵巣発達ワーカーおよび既交尾・卵巣発達ワーカーの個体数は、孤児コロニーでの個体数よりも有意に低かった(Mann-Whitney の U 検定, $P < 0.01$; 図 13a, b)。

2-3) 卵数

コロニー内の卵数は、女王コロニーと孤児コロニーでそれぞれ 14.0 ± 3.7 個体と 29.5 ± 6.5 個体 (2007 年)、 23.0 ± 3.0 個体と 20.3 ± 7.5 個体 (2008 年)、 10.8 ± 4.2 個体と 10.1 ± 2.7 個体 (2009 年)であった(図 14)。2007 年は孤児コロニーの卵数が女王コロニーの卵数よりも大きく、2008 年は女王コロニーと孤児コロニーの卵数が同等であった。2009 年も女王コロニーと孤児コロニーの卵数の間に有意差が見られず、同等であった(Mann-Whitney の U 検定, $P > 0.05$; 図 14)。

考察

コアシナガバチの諏訪市個体群では、最初のワーカーが羽化する前の創設期に半数程度あるいはそれ以上のコロニーが営巣に失敗し、生殖カーストの羽化時期よりも早く崩壊した。創設女王も同様に高い割合でコロニーから失われ、野外においてコロニーの孤児化が高頻度で起こっていることが明らかになった。本種のコロニーの生存率や営巣規模は年次変動が大きかったが、孤児コロニーでもワーカーによって巣が拡張され、育房数は女王コロニーと比較して必ずしも小さくならなかった。孤児コロニーには平均して1個体以上の卵巣発達ワーカーが存在し、その半数以上が既交尾の個体であった。卵巣発達ワーカーが存在する女王コロニーは非常に少なく、4年間の調査で既交尾・卵巣発達ワーカーが存在する女王コロニーは56コロニー中2例しか確認されなかった。孤児コロニーでは女王コロニーとほぼ同数あるいはそれ以上の卵が生産され、創設女王の喪失後もコロニーの生産性が高く維持されることが示唆された。

単女王によってコロニーが創設される社会性昆虫では、産卵個体である女王の喪失はしばしばコロニーの存続の危機に結びつく可能性がある。アシナガバチ類でも単女王制のコロニーは多女王制のコロニーよりも営巣に失敗しやすいことが報告されている (Metcalf & Whitt 1977; Gibo 1978; Litte 1981; Itô 1985; Queller & Strassmann 1988; Tibbetts & Reeve 2003)。本研究の結果から、長野県諏訪市のコアシナガバチは第1ブルードのワーカーが羽化する前の単独営巣期に半数程度あるいはそれ以上のコロニーが創設女王を失い、唯一の成虫を失ったコロニーはほぼ全て崩壊することが推察できた。創設女王の喪失要因およびはコロニーの崩壊要因は不明であるが、調

査地での観察中にクロオオアリ *Camponotus japonicus* やアカヤマアリ *Formica sanguinea*、ハヤシクロヤマアリ *F. hayashi* がコアシナガバチの初期コロニーに侵入しブルードを襲うことが確認されており、こうした捕食者の影響を受けてコロニーが崩壊した可能性が考えられる。2007年から2009年の調査結果から、調査地のコアシナガバチは7月の女王とワーカーの共同営巣期のコロニーのうち12.5-40.0%のコロニーが創設女王を失っていた。調査地のコアシナガバチは4月下旬から5月上旬に巣を創設し、9月上旬にブルードがコロニー内から消失し、営巣活動が終了する(山崎 未発表)。また、2007年から2009年の調査結果から、調査地では本種の第1ブルードのワーカーは6月下旬に羽化し始めることが明らかになっている。このことから、本種の第1ブルードは産下されてから羽化までに約1か月半から2ヶ月を要すると推察できる。北海道札幌市のコアシナガバチでは、気温の低い5月下旬に産下された個体よりも気温の高い7月上旬から中旬に産下された個体の方が、羽化までに要する日数が短縮されることが報告されている(佐山 2007)。本研究の調査地におけるコアシナガバチでも、ブルードが産下されてから羽化するまでに要する日数は季節の推移に伴う気温の上昇の影響を受けて短縮すると予想できる。これらのことから、本研究の調査地で7月中旬までに創設女王を喪失した孤児コロニーでは、ワーカー繁殖によって生産されるブルードの少なくとも一部は営巣周期までに羽化すると考えられる。

アシナガバチ類の単女王制のコロニーでは、女王の喪失後に一部のワーカーが女王に代わって孤児コロニーで産卵を行い、ブルードの生産を継続する。しかしフタモンアシナガバチや *P. dominula* では、

孤児コロニーが女王コロニーよりも小さい規模にしか発達せず、生産性が低いことが報告されている (Miyano 1986, Strassmann *et al.* 2004)。本研究の結果から、調査地のコアシナガバチでは女王コロニーの育房数と比較して孤児コロニーの育房数が多い場合と少ない場合、差が無い場合が確認された(図 8, 9, 10)。野外調査のため、結果は各年度の気象条件の違いやワーカー数の違いの影響を強く受けて変動したものと推察され、実際に孤児コロニーのワーカー数が多かった 2007 年は孤児コロニーの育房数が多く、女王コロニーのワーカー数が多かった 2008 年は女王コロニーの育房数が多い結果となった(図 8, 9, 10)。女王コロニーと孤児コロニーのワーカー数が同等であった 2009 年は両コロニーの育房数に有意差が見られなかったことから、女王コロニーと孤児コロニーの条件がほぼ同じ場合は、育房数の拡大における孤児コロニーの生産性は低下せずに女王コロニーと同程度に維持される可能性がある。卵巢発達ワーカーが存在した女王コロニーは孤児コロニーよりも少なく、10.0-22.2%であった。これはコアシナガバチの神奈川個体群の半分以下の割合であった(53.8%; Suzuki 1998)。一方で、本研究では孤児コロニーにおける卵巢発達ワーカーの個体数が $1.0-1.6 \pm 0.3$ 個体であり、Suzuki(1998)が報告した神奈川における個体数 1.4 ± 0.8 個体(平均 \pm SD)とほぼ同等であった。Suzuki(1998)ではコロニーの育房数などのデータが記載されていないので、女王コロニーにおいてのみ卵巢発達ワーカーの個体数に差が見られた要因は不明である。ただし、関東の個体群では本研究の調査地である諏訪市よりも半月程度早い 4 月上旬から下旬にコアシナガバチのコロニーが創設され、育房数が 200 を超える一部の巨大な女王コロニーでは複数の卵巢発達ワーカーが存在する

例が報告されている(素瀬 1995a, 1995b)。このような生活史や営巣規模の違いが、女王コロニーにおける卵巣発達ワーカーの個体数の違いに影響している可能性が考えられる。

コロニー内で見られた卵数の結果から、孤児コロニーの卵の個体数は、いずれの調査年度においても女王コロニーでの個体数と同等であることが明らかになった(図 14)。このことから、調査地のコアシナガバチでは女王の喪失後もワーカーによって活発に産卵が行われ、孤児コロニーの生産性が低下することなく維持される可能性が示唆された。



図2. 調査地遠景. 砂防ダムから続く護岸された川辺に営巣が見られる。

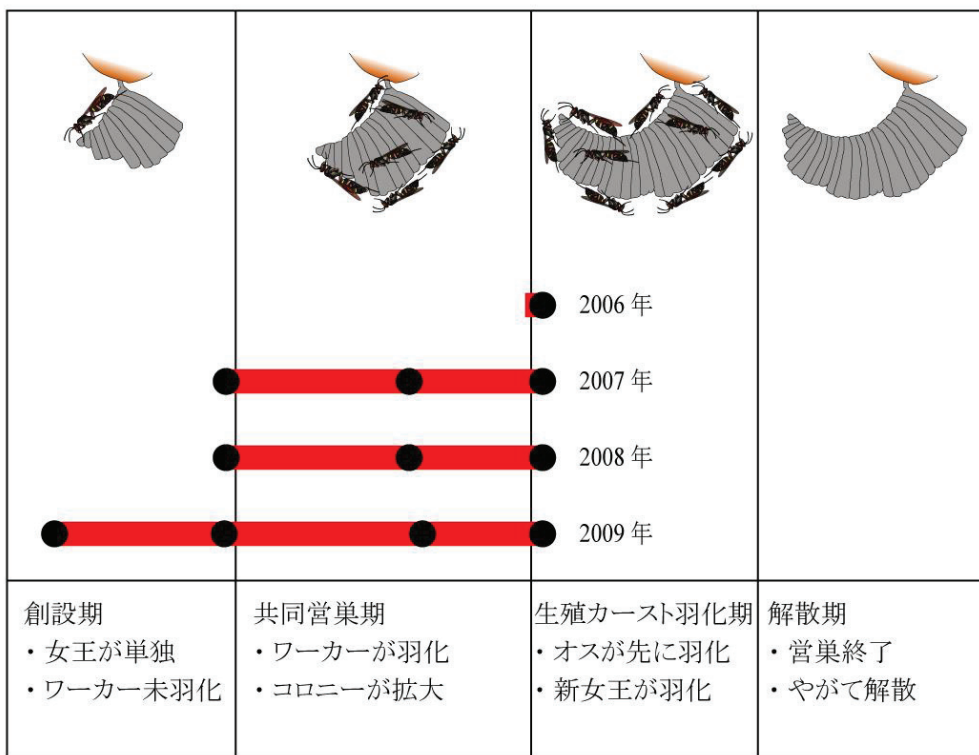


図3. コアシナガバチの生活史と調査期間.



卵巣発達段階④

最大の卵母細胞 5 つのうち、長径
1.5mm 以上の成熟した卵母細胞が
卵巣小管内に 4 つ以上



卵巣発達段階③

最大の卵母細胞 5 つのうち、長径
1.5mm 以上の成熟した卵母細胞が
卵巣小管内に 3 つ以下



卵巣発達段階②

最大の卵母細胞 1 つの長径が 0.3mm
以上 1.5mm 未満



卵巣発達段階①

最大の卵母細胞 1 つの長径が 0.3mm
未満

図4. コアシナガバチの卵巣発達の評価基準.

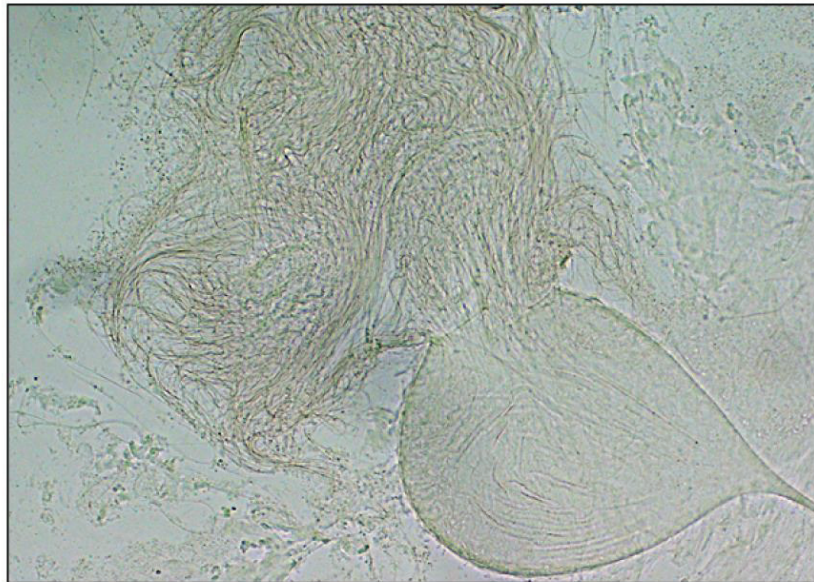


図5. 受精囊と精子. 既交尾個体の受精囊をライドガラス上で潰した様子。右下が受精囊で、破れた箇所から繊維状の精子が広がる。

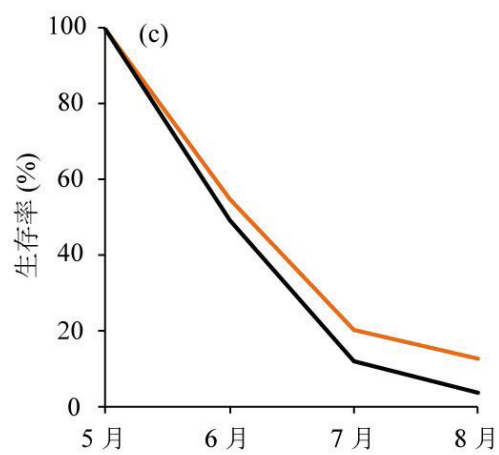
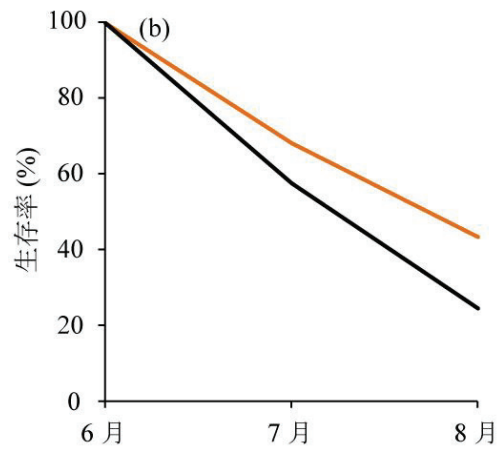
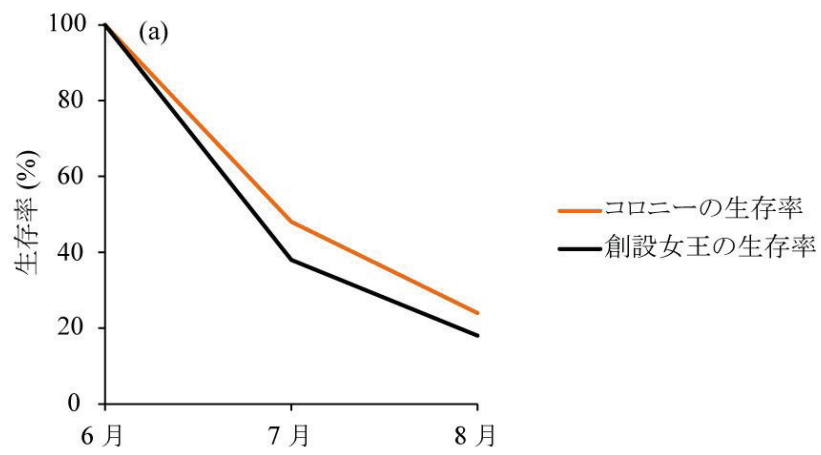


図6. コロニーと創設女王の生存率の推移. (a)2007年(b)2008年(c)2009年をそれぞれ示す。

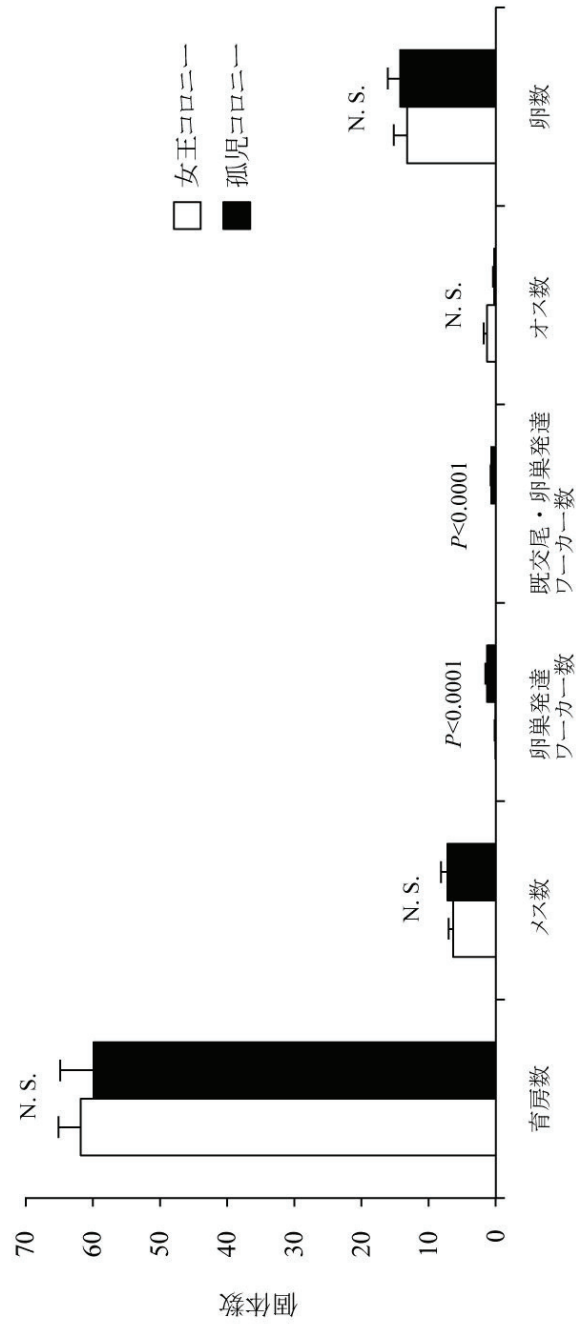


図7. 2006年の野外における女王コロニーと孤児コロニーの比較. エラーバーは標準誤差を示す。

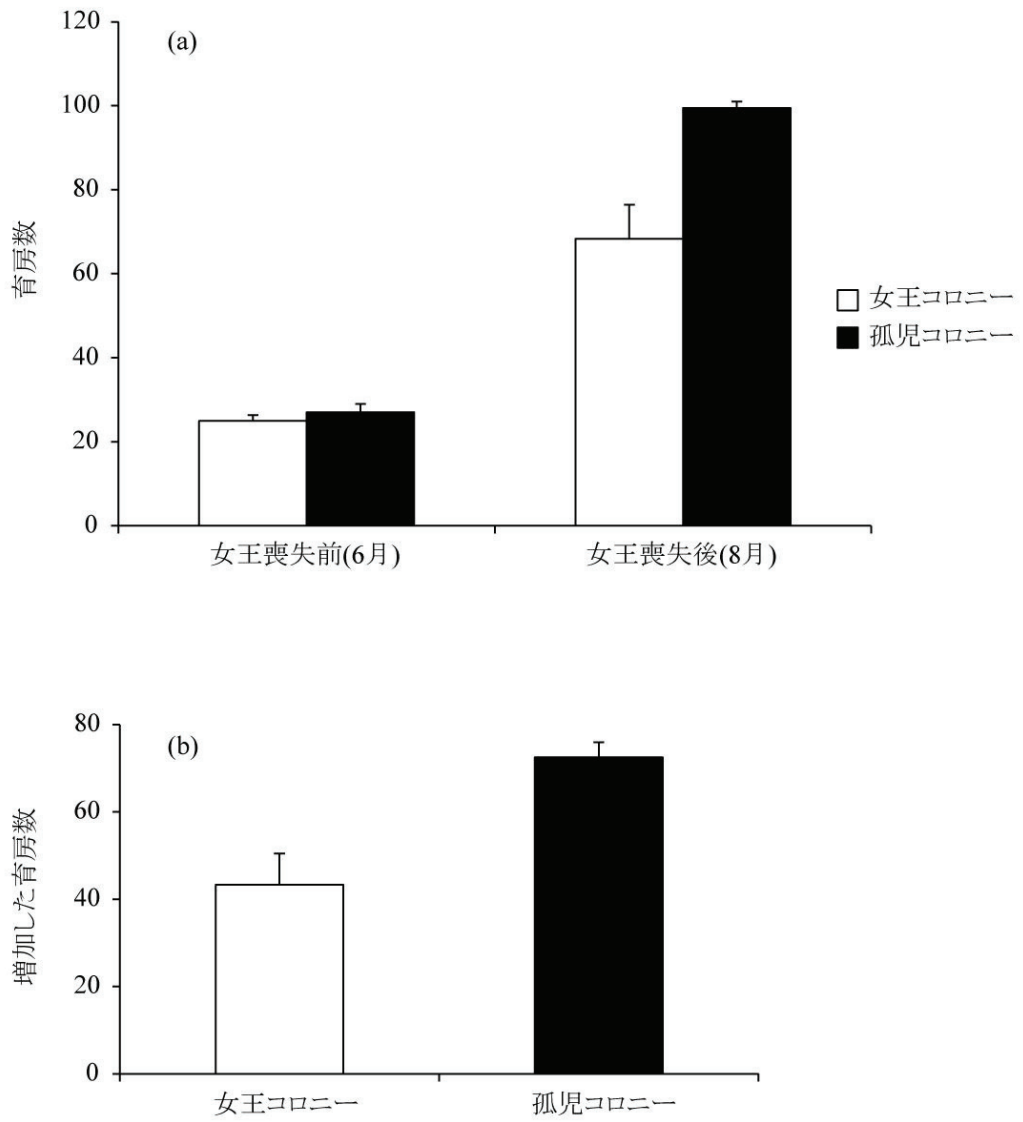


図8. 女王コロニーと孤児コロニーの発達の比較(2007年).(a)女王喪失前と喪失後の育房数(b)6月から8月までに増加した育房数をそれぞれ示す。エラーバーは標準誤差を示す。

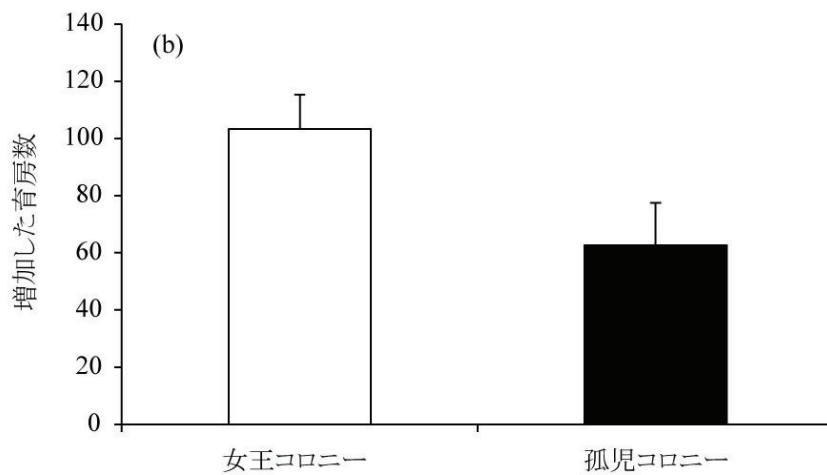
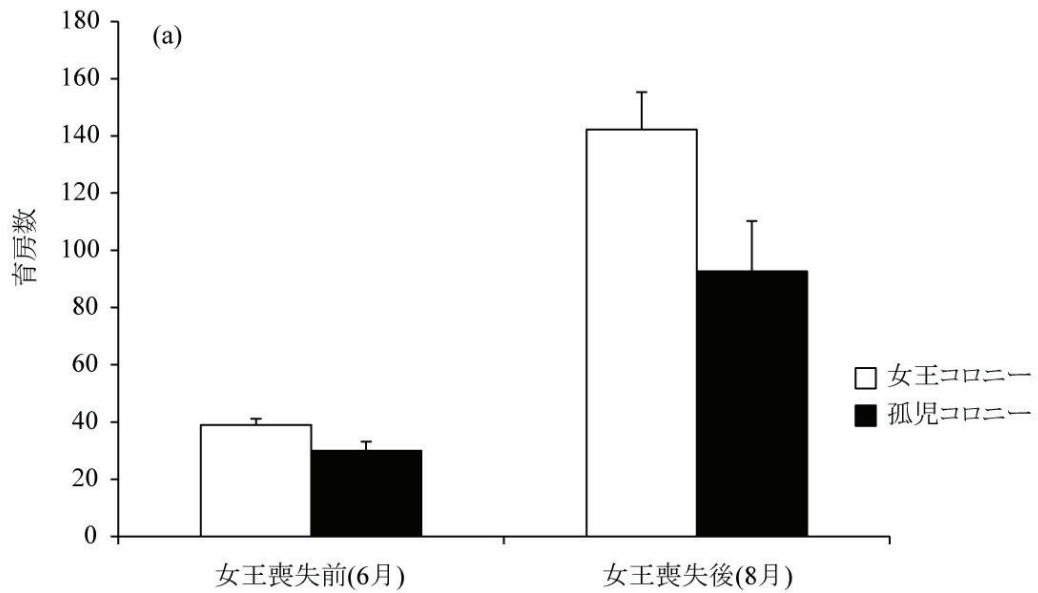


図9. 女王コロニーと孤児コロニーの発達の比較(2008年).(a)女王喪失前と喪失後の育房数(b)6月から8月までに増加した育房数をそれぞれ示す。エラーバーは標準誤差を示す。

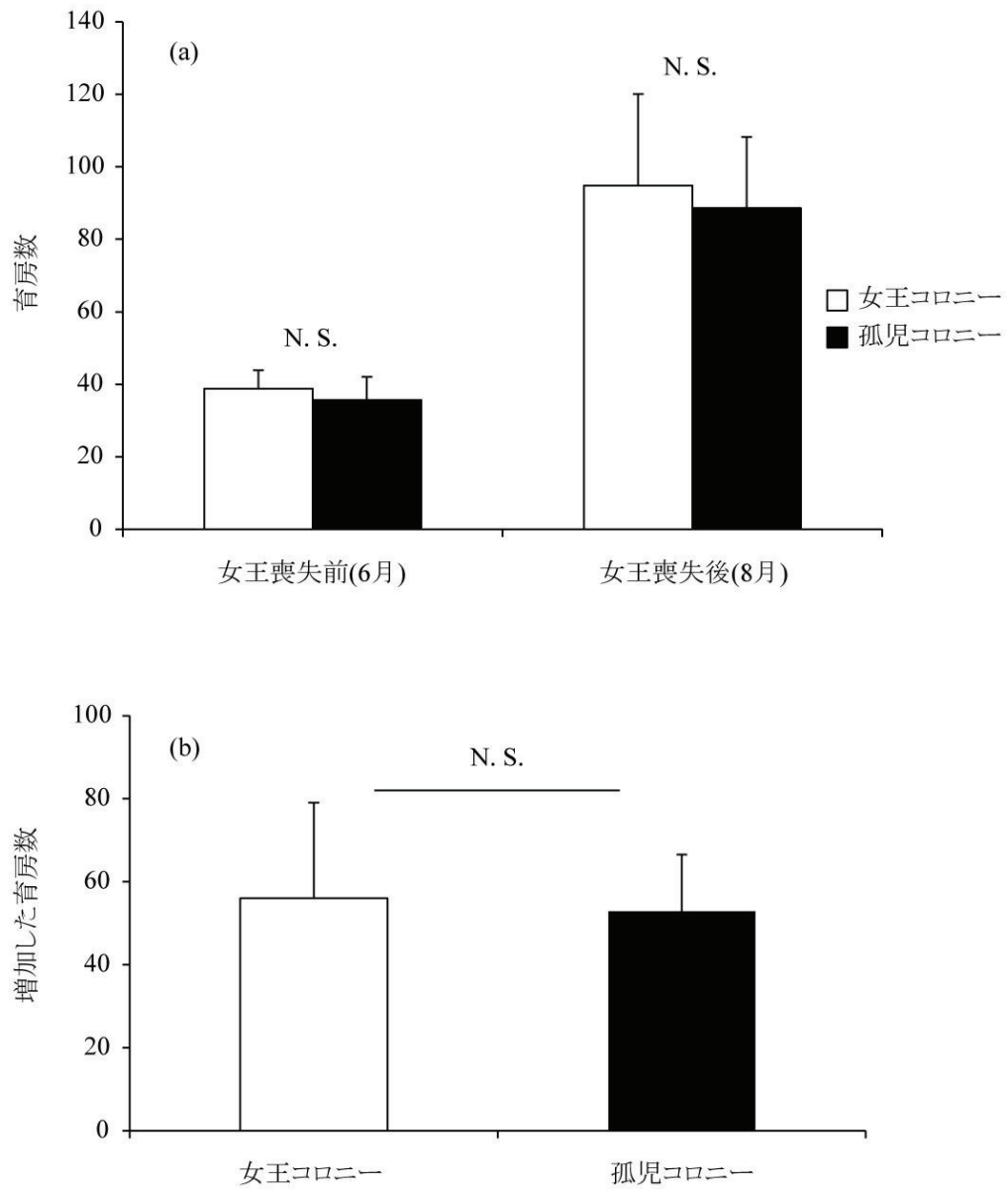


図10. 女王コロニーと孤児コロニーの発達の比較(2009年).(a)女王喪失前と喪失後の育房数(b)6月から8月までに増加した育房数をそれぞれ示す。エラーバーは標準誤差を示す。

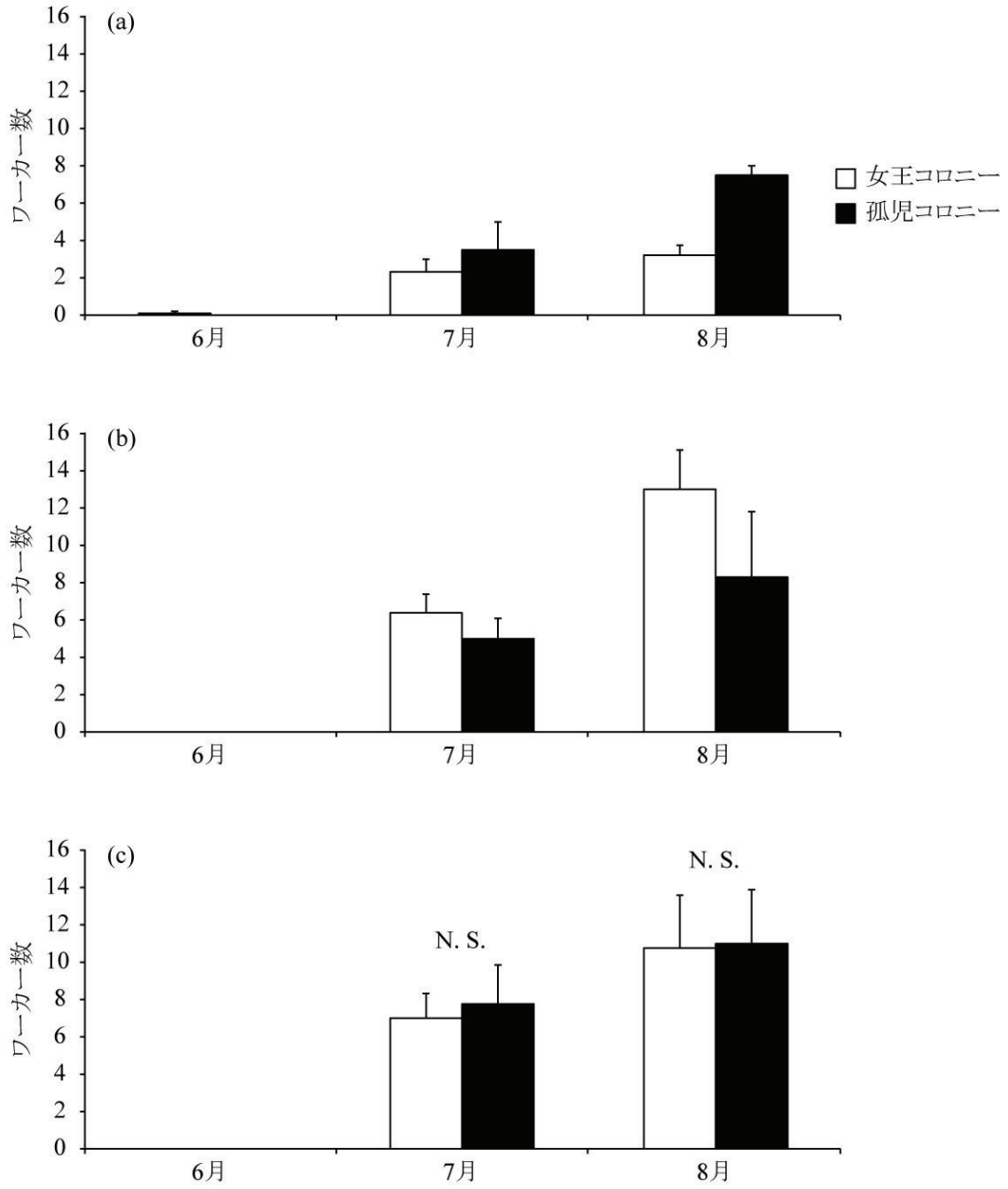


図11. 女王コロニーと孤児コロニーのワーカー数の推移.(a)2007年(b)2008年(c)2009年をそれぞれ示す。エラーバーは標準誤差を示す。

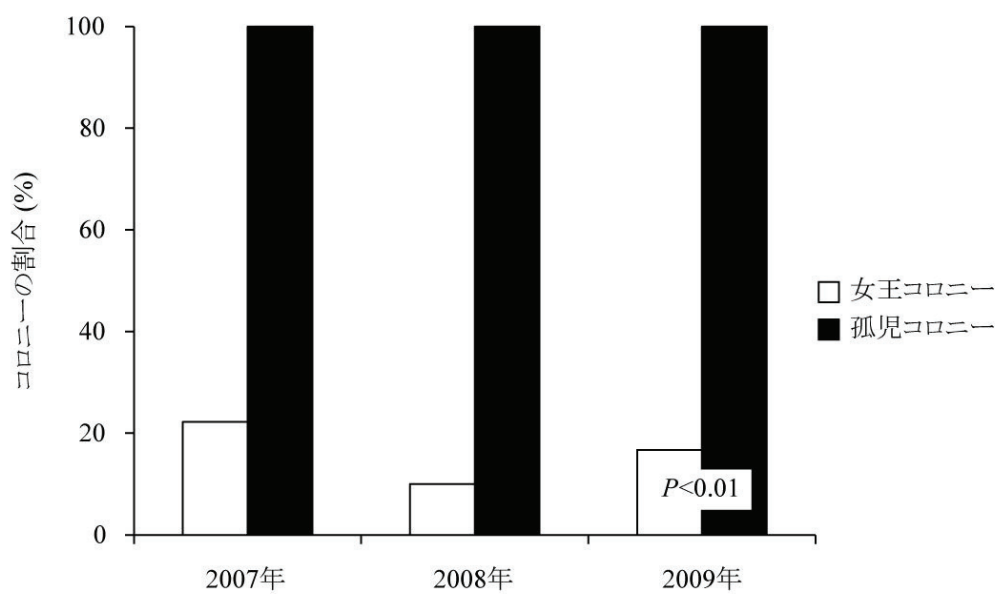


図12. 卵巣発達ワーカーが存在したコロニーの割合.

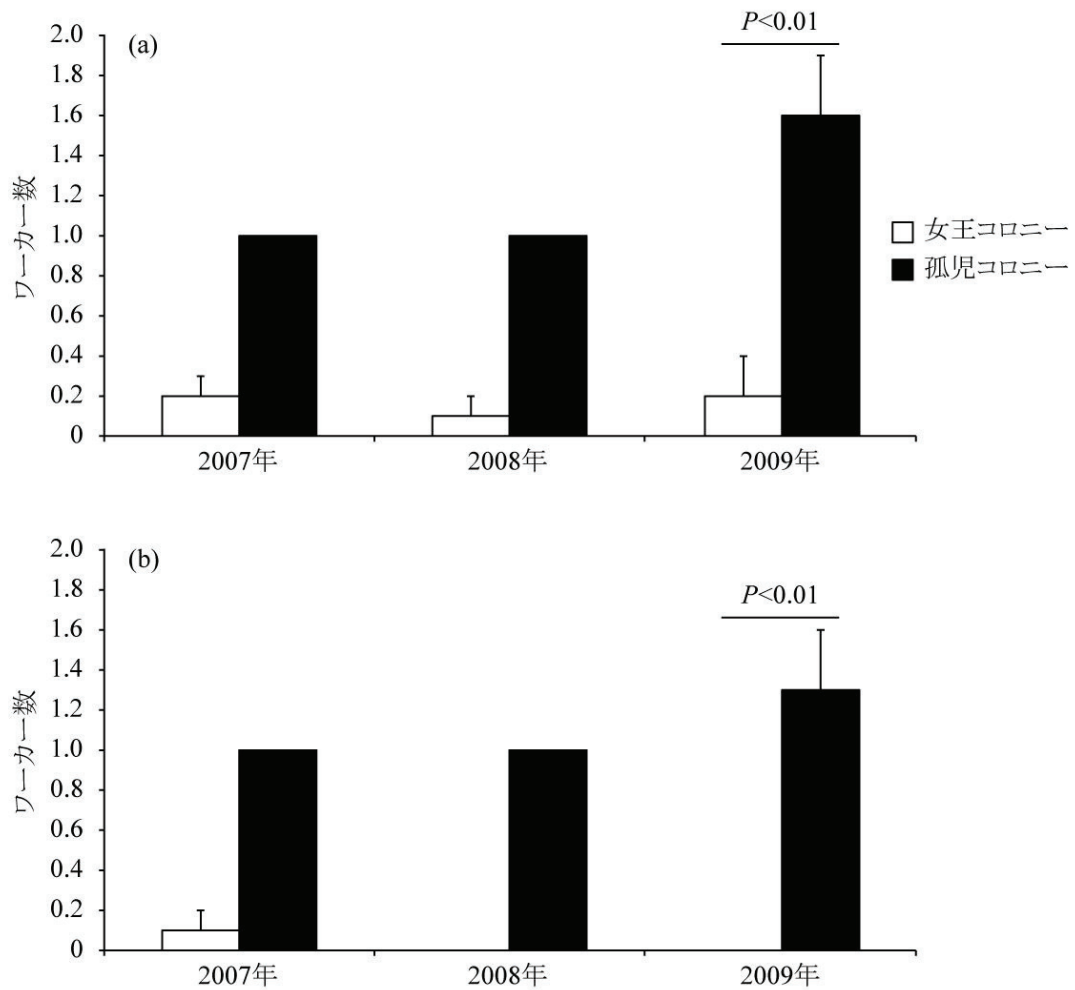


図13. 女王コロニーと孤児コロニーの卵巣発達ワーカーの個体数。(a)卵巣発達ワーカー(b)2008年既交尾・卵巣発達ワーカーをそれぞれ示す。エラーバーは標準誤差を示す。

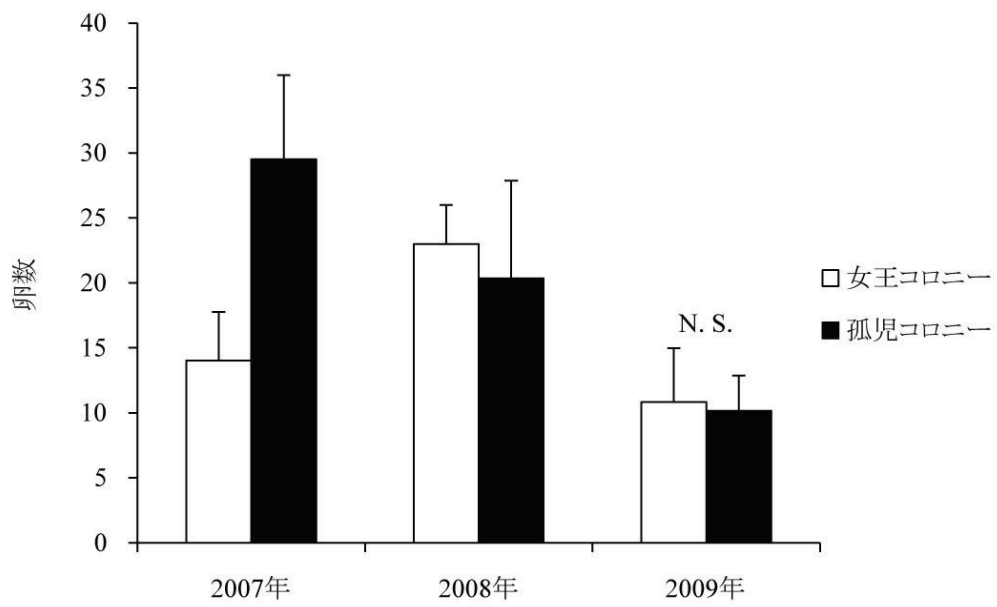


図14. 女王コロニーと孤児コロニーの卵の個体数.エラーバーは標準誤差を示す。

第 4 章

コアシナガバチの女王の喪失がコロニーに及ぼす影響の調査

緒論

コアシナガバチのコロニーでは卵巣発達ワーカーが見られるが、一般的にコロニー内では創設女王が繁殖を独占するとされている (Suzuki 1987)。本種はワーカーが潜在的に繁殖能力を持つため、女王コロニーでは創設女王とワーカー間、孤児コロニーではワーカー同士が直接の繁殖を巡って競争関係にある。それぞれの条件下で、女王コロニーの優位個体である創設女王と孤児コロニーの優位の卵巣発達ワーカー(後継女王)がそれぞれ他個体に対してどのように振る舞うのかを、優位行動に着目して調査した。また、各コロニーの条件を均一にして飼育し、外敵や機構などの影響を排除した実験施設で女王コロニーと孤児コロニーの規模を比較することにより、ワーカーの潜在的な生産性を評価した。

材料と方法

1. コロニーの採集と飼育

優位行動の観察のために 5 月上旬から 6 月中旬にかけて合計 28 コロニーのコアシナガバチを採集した。2008 年は東京都西多摩郡で 8 コロニーを、長野県諏訪市で 2 コロニーを採集した。2009 年と 2011 年はそれぞれ 6 コロニーと 12 コロニーを長野県諏訪市で採集した。いずれのコロニーも採集時は第 1 ブルード羽化前の段階であった。採集後のコロニーは保冷箱に入れ、研究室に持ち帰った。これらの

コロニーを研究室内の飼育箱に導入した。飼育箱は45cm×26cm×36cmの段ボール製で、箱の前面と上面、側面を端から5cmのところに沿って切り抜き、ビニール製のフィルムで覆ったものを使用した(図 15)。巣は飼育箱の背面に接着テープで貼り付けた。飼育期間中は30%蜂蜜水とカイコガ *Bombyx mori* とアワヨトウ *Mythimna separata* の幼虫を餌とし、15L9Dの明暗条件、室温条件(25-30℃)で飼育した。巣材として濾紙をケージ内に導入した。飼育期間中にコロニーから新たに羽化したワーカーは2日に1度記録し、中胸背板に個体識別用のマーキングを施した。2008年に東京都西多摩郡で採集したコロニーのうち、早期羽化オスを生産した3コロニーと、実験の開始以前に創設女王が死亡した4コロニーは行動観察の対象から除外した。行動観察用の全てのコロニーは、羽化したワーカー数が10個体になった時点で実験に用いて、それ以降に羽化した個体はコロニーから除去した。

2. 創設女王と既交尾・後継女王の優位行動の記録

2008年に採集した行動観察用の3コロニーを7月上旬に岐阜県岐阜市の屋外の網室(7m×17m×4m)に移設し、この半野外条件下で蜂蜜水とカイコの幼虫を餌として飼育した(図 16)。行動観察用のコロニーを創設女王の除去前に各コロニー平均6時間ビデオ撮影(DCR-VX200, SONY社製; GZ-MG275-B, Victor社製)した。コアシナガバチでは、ワーカーの優位行動の頻度は女王の喪失から2-3時間以内には大きく変化せず、6時間以上が経過してから増加する(山崎 未発表)。そこで、全てのコロニーの創設女王は、創設女王の除去前のビデオ記録が終了した日の夜の同じ時間帯に除去し、翌日からコロニーを孤児状態にした。コアシナガバチでは繭が羽化した後の育

房は再利用されず、産卵は巣の縁に新しく作られた育房にのみ行われる。そのため、創設女王の除去と同時に巣の縁にある育房の1つから卵を除去し、後にその育房に卵が産下されることでワーカー産卵の開始を判別できるようにした。創設女王の除去の1日目から3つの早期羽化オス生産コロニー(4個体の早期羽化オスを含む)を網室に移設し、行動観察用の3コロニーとともに飼育した。創設女王の除去後の各行動観察用コロニーにおいても1日おきに1時間以上のビデオ撮影を行った。

創設女王の除去前の時期には合計18時間(各コロニー6時間)、創設女王の除去後の時期には、ワーカー産卵が開始された日から9-13日後までの23時間(各コロニー平均7.7時間)の録画記録を解析に用いた。コロニー内の各個体間の優位行動(他個体に対する噛みつきと触角による叩き)と、それに対する劣位行動(優位行動を受けた際の伏せ、逃避)の回数を記録した。創設女王の除去後の時期(孤児コロニー)では、後述の解剖の結果、卵巣小管内に最も多くの成熟卵を持ち、観察期間中に1回以上の産卵行動を確認できた個体を優位の卵巣発達ワーカー(後継女王)と定義した。

3. 創設女王と未交尾・後継女王の優位行動の記録

2009年に採集した6コロニーと2011年に採集した6コロニーを行動観察に用いた。7月下旬から8月上旬の実験期間中、各コロニーは前述の条件の研究室内で段ボール製の飼育箱にて飼育した。これらのコロニーを創設女王の除去前に各コロニー2時間ずつビデオ撮影した。創設女王の除去前のビデオ観察が終了した日の夜間の同じ時間帯(翌日の女王除去後のビデオ撮影を開始する12-14時間前)に各コロニーから創設女王を除去し、ワーカー産卵を促すために巣の縁にある育房の1つから卵を除去した。この実験では早期羽化オ

スを飼育箱内に導入せず、ワーカーに交尾する機会を与えなかった。創設女王の除去後の孤児コロニーでは、女王除去 1 日目と 10 日目にそれぞれ 2 時間ずつビデオ撮影を行った。行動は、先の半野外実験と同様に個体間の優位行動(噛みつきと触角による叩き)とそれに対する劣位行動(伏せ、逃避)の頻度が記録された。孤児コロニーでは、後述の解剖の結果として卵巣小管内に最も多くの成熟卵を持ち、観察期間中に 1 回以上の産卵行動を確認できた個体を優位の後継女王と定義した。

4. コロニーの発達の計測

創設女王の喪失がコロニーの発達に及ぼす影響を評価するため、人為的に創設女王を除去した孤児コロニーと創設女王を残した女王コロニーとでコロニーの発達の程度を比較した。実験には 2011 年に採集した 12 コロニーを用いた。全てのコロニーは前述の環境条件の研究室内で段ボール製の飼育箱にて飼育した。12 の実験コロニーについて、実験開始日に育房数を記録した(0 日目)。その後、半数の 6 コロニーは創設女王を残したまま女王コロニーとして 15 日間飼育した。残り半数の 6 コロニー(これらは前述の行動観察にも用いた)では 7 月下旬の実験開始日(0 日目)に女王を除去し、ワーカー産卵の開始を促すために巣の縁にある育房の 1 つから卵を除去した。これらの孤児コロニーはそのまま飼育し、ワーカー産卵が確認された日に育房数を記録した(W0 日目)。孤児コロニーは W0 日目から 15 日間飼育した。全ての女王コロニーと孤児コロニーは実験期間が終了した 15 日目に育房数と卵数を記録した。実験期間が終了した 8 月上旬に全てのコロニーの育房数と卵数を記録した。

5. 解剖

観察期間が終了したのち、全てのコロニーの創設女王とワーカーの腹部を解剖し、卵巢小管内の卵母細胞の観察により卵巢発達を確認した。卵巢の発達状態の評価は Suzuki(1997)の基準に従って行い、卵巢小管内に成熟した卵母細胞(最大の卵母細胞の長径が 1.5mm 以上)を持つ個体を卵巢発達ワーカーとし、卵巢小管内に最多の成熟した卵母細胞を持つ個体を優位の卵巢発達ワーカーとして判別した。半屋外条件の網室で飼育した 2008 年のコロニーについては、ワーカーが交尾したか否かを確認するために受精嚢内の精子の有無も調査した。

結果

1. 創設女王と既交尾・後継女王の優位行動

実験に用いることができたのが 3 コロニーのみであったため、この実験の結果では統計解析を行わなかった。半野外におかれた 3 コロニーでは、創設女王の除去前にワーカー産卵が見られず、創設女王のみが産卵を行った。創設女王の除去前のコロニー内では、全ての個体による優位行動が 1.8 ± 1.0 回/時の頻度で見られ(図 17a、創設女王によるものは 1.4 ± 1.0 回/時であった(図 17b)。将来、孤児コロニーにおいて既交尾の後継女王となる個体の女王除去前の優位行動頻度は 0.1 ± 0.1 回/時であった(図 17b)。創設女王が劣位行動をとることは無かった。孤児コロニーにおいてワーカーが産卵を開始したのは、創設女王の除去から 2.7 ± 1.8 日後であった。全てのビデオ撮影が終了した後で 3 コロニーの全てのワーカーを解剖したところ、2

コロニーでは卵巣発達した個体がそれぞれ 1 個体であり、これらの後継女王の受精嚢からは精子を確認した。この 2 コロニーのうちの 1 つでは女王除去後の観察期間の 3 日目まで最老齢のワーカーが生存していたが、その後に羽化順が 2 番目のワーカーによって殺された。死んだ最老齢のワーカーの腹部を解剖したところ、この個体は卵巣発達しており受精嚢内に精子を確認した。残りの 1 コロニーでは 4 個体のワーカーが卵巣発達していたが、これらのうち受精嚢内から精子が確認されたのは後継女王を含む 2 個体であった。このコロニーで見られた優位行動の合計 389 回のうち 324 回 (83.3%) を既交尾の後継女王が占めていた。女王除去後の 3 コロニーの後継女王は 2.7 ± 1.2 番目に羽化した個体であった。創設女王の除去後の孤児コロニーでは 20.9 ± 5.6 回/時の優位行動が見られ、そのうち後継女王によるものは 19.7 ± 4.8 回/時であった (図 17b)。孤児コロニーの既交尾の後継女王は、創設女王の 14 倍 ($19.7/1.4$) の高頻度で優位行動を示した。

2. 創設女王と未交尾・後継女王の優位行動

研究室内におかれた 12 コロニーでは、創設女王の除去前にワーカー一産卵が見られず、創設女王のみが産卵を行った。創設女王の除去前のコロニー内では、全ての個体による優位行動が 3.4 ± 0.8 回/時の頻度で見られ (図 18a)、創設女王によるものは 0.9 ± 0.3 回/時であった (図 18b)。創設女王がワーカーから優位行動を受けて劣位行動をとることは 1 例のみであった。将来、孤児コロニーにおいて未交尾の後継女王となる個体の女王除去前の優位行動頻度は 1.2 ± 0.4 回/時であった (図 18b)。孤児コロニーにおいてワーカーが産卵を開始し

たのは、創設女王の除去から 2.4 ± 0.4 日後であった。女王除去後のコロニーのワーカーを行動観察後に解剖したところ、75.0%(9/12)のコロニーでは 2 個体以上の卵巣発達ワーカー(後継女王を含む)が存在した。卵巣発達ワーカーの数はコロニーあたり 1.9 ± 0.2 個体であった。創設女王の除去後のコロニーで未交尾の後継女王となったのは 1.3 ± 0.2 番目に羽化した個体であった。創設女王の除去 1 日目の孤児コロニーでは、全ての個体による優位行動が 19.0 ± 5.1 回/時の頻度で見られ(図 18a)、将来孤児コロニーで未交尾の後継女王になる個体によるものは 12.8 ± 3.4 回/時であった(図 18b)。創設女王の除去 10 日目の孤児コロニーでは、全ての個体による優位行動が 26.1 ± 4.5 回/時の頻度で見られ(図 18a)、未交尾の後継女王によるものは 19.3 ± 4.0 回/時であった(図 18b)。創設女王の除去 1 日目と 10 日目の孤児コロニーは、いずれも全ての個体による優位行動の頻度が女王コロニーのそれと比較して有意に高かった(Wilcoxon の符号付順位和検定, $P < 0.05$, 有意水準 α を sequential Bonferroni 法で補正; 図 18a)。創設女王の除去 1 日目と 10 日目の孤児コロニーの間で、全ての個体による優位行動の頻度には有意な差が見られなかった(Wilcoxon の符号付順位和検定, $P > 0.05$, 有意水準 α を sequential Bonferroni 法で補正; 図 18a)。孤児コロニーにおける未交尾の後継女王の優位行動頻度は、創設女王のそれと比較して有意に高かった(Wilcoxon の符号付順位和検定, $P < 0.05$, 有意水準 α を sequential Bonferroni 法で補正; 図 18b)。未交尾の後継女王の優位行動頻度は創設女王の除去 1 日目と 10 日目で有意差が見られなかった(Wilcoxon の符号付順位和検定, $P > 0.05$, 有意水準 α を sequential Bonferroni 法で補正; 図 18b)。孤児コロニーにおいて未交尾の後継

女王になった個体の優位行動頻度は、創設女王の除去前の時期には創設女王のそれと有意な差が見られなかった (Wilcoxon の符号付順位和検定, $P>0.05$, 有意水準 α を sequential Bonferroni 法で補正; 図 18b)。

3. 創設女王の除去後のコロニー発達

解剖の結果、1コロニーの例外(2011年の1コロニーの1個体)を除いて、女王コロニーでは卵巣発達ワーカーが見られなかった。このコロニーのデータは、コロニー発達に関する以下の比較から除外した。孤児コロニーで見られた卵巣発達ワーカーは 1.8 ± 0.5 個体であった。創設女王は女王コロニーにおいて最も卵巣が発達した個体であった。創設女王の卵巣小管内で見られた成熟した卵母細胞は 9.3 ± 0.4 個であり、孤児コロニーの優位な卵巣発達ワーカーの卵巣小管内で見られた卵数との間に有意差は見られなかった (8.9 ± 0.5 ; Mann-Whitney の U 検定, $P>0.05$; 図 19)。孤児コロニーで創設女王の除去からワーカー産卵の開始までに要した日数は 2.8 ± 0.7 日であった。実験で用いたコアシナガバチのコロニーでは、孤児コロニーのワーカーは産卵を開始するまで育房を新設しなかった。そのため、孤児コロニーの 0 日目(創設女王の除去直後)と W0 日目(ワーカー産卵が開始された日)の育房数は同じであった。0 日目の育房数は、女王コロニーと孤児コロニーの間で有意差が見られなかった (Mann-Whitney の U 検定, $P>0.05$; 図 20a)。0 日目から 15 日目の間に孤児コロニーで新設された育房数は 48.0 ± 6.6 個であり、同期間の女王コロニーで新設された育房数よりも有意に多かった (31.8 ± 4.0 ;

Mann-Whitney の U 検定, $P < 0.05$)。実験終了時の孤児コロニーと女王コロニーの総育房数の間には有意差が見られなかった (Mann-Whitney の U 検定, $P > 0.05$; 図 20a)。孤児コロニーの卵数は 33.0 ± 5.1 個であり、女王コロニーの卵数 18.3 ± 2.4 個よりも有意に多かった ($17.8.8 \pm 2.8$; Mann-Whitney の U 検定, $P < 0.05$; 図 20b)。

考察

行動観察の結果、コアシナガバチの女王コロニーにおいて全ての個体がとった優位行動の頻度は、孤児コロニーにおける頻度よりも低かった。コロニーから創設女王を除去する前は、将来後継女王になるワーカーの優位行動の頻度は低く、創設女王による優位行動の頻度と同程度であった。しかし後継女王による優位行動の頻度は、創設女王の除去の当日から上昇した。孤児コロニーにおいて全ての個体がとった優位行動の頻度は、女王コロニーにおいてよりも高かった。ほとんどの創設女王が、各女王コロニーにおいて唯一の産卵個体であった。これに対し、創設女王の除去後の孤児コロニーには複数の卵巣発達ワーカーが存在するものが観察された。後継女王は卵巣小管内に創設女王と同数程度の成熟した卵母細胞を持っていた。女王コロニーと孤児コロニーの発達の比較では、孤児コロニーは新設された育房数と卵数において女王コロニーよりも有意に高く、コアシナガバチでは創設女王を喪失した孤児コロニーにおいても生産性が低下しないことが明らかになった。

Polistes 属のアシナガバチ類のように原始的な真社会性膜翅目では、コロニー内のメス個体間に線形の優劣関係が形成され、多女王

制の場合でも単女王制の場合でも女王はワーカーよりも頻繁に優位行動をとることが一般的である (Pardi 1948; West-Eberhard 1969; Gamboa and Dew 1981; Kasuya 1983a)。女王による優位行動は、他個体の繁殖抑制だけでなく外役などのワーカーの活動性を刺激する働きがあることが報告されている (Dew 1983; Reeve and Gamboa 1983, 1987)。例えば *P. fuscatus* では、女王はコロニー内においてより活動性の高い個体であり、ワーカーの活動を調節するペースメーカーとしての働きを持つことが報告されている (Reeve and Gamboa 1983, 1987)。一方、近年の研究では、北米産アシナガバチの一種である *P. instabilis* と *P. dominula* の女王はワーカー産卵を抑制するが、コロニーの活動性を制御するペースメーカーとしての役割は果たしていないことが報告されている (Jha *et al.* 2006)。これは、女王の優位性とワーカーの繁殖や労働を制御する能力は必ずしも関連しないことを示唆している。本研究の半野外条件と室内条件における行動観察の結果、コアアシナガバチの女王コロニーでは孤児コロニーよりも低頻度でしか優位行動が見られなかった。女王コロニーではワーカー産卵が見られず、1 個体の例外を除いて女王コロニーのワーカーは卵巣が発達していなかった。これらのことから、本種の創設女王は噛み付きなどの優位行動ではない何らかの機構によってワーカー産卵を抑制している可能性が考えられる。

女王の優位行動の頻度がワーカーよりも低く‘おとなしい’とされる例は、アシナガバチ類ではこれまでに 2 種報告されている。インド産のナンヨウチビアシナガバチ *Ropalidia marginata* では、女王は優位行動の頻度がワーカーよりも低い個体である (Gadagkar 2001)。本種では、優位行動はワーカー繁殖の抑制には使われず、主に外役

を調節するために使われることが示唆されている (Bruyndoncks *et al.* 2006)。本種のワーカー繁殖は、女王の優位行動ではなくデュフル腺由来の難揮発性の炭化水素を主体としたフェロモンによって抑制される可能性が示唆されている (Sumana *et al.* 2008; Bhadra *et al.* 2010)。ナンヨウチビアシナガバチと同様に、ヤマトアシナガバチ *P. japonicus* でも女王の優位行動の頻度はワーカーのものより低く、フェロモン制御などの何らかの機構によってワーカーの行動が抑制されている可能性が示唆されている (Ishikawa *et al.* 2011)。本研究では、女王コロニーにおいて全ての個体がとった優位行動の頻度が孤児コロニーにおいてよりも低く、創設女王は後継女王よりも他個体に対する攻撃性が低い個体であった。それにもかかわらず、女王コロニーでは女王コロニーではほとんどワーカーの卵巢発達が見られなかった。これらの結果は、コアシナガバチの創設女王が上記の 2 種の女王と同様に、優位行動によらない何らかの機構によってワーカー産卵を抑制している可能性を示唆している。

アシナガバチ類の単女王のコロニーでは、女王の喪失後に老齢のワーカーが優位の産卵ワーカーとなることが一般的であり (Strassmann and Meyer 1983; Hughes and Strassmann 1988; Miyano 1991; Reeve 1991)、関東の個体群のコアシナガバチでも老齢のワーカーが孤児コロニーにおいて産卵個体となることが報告されている (Suzuki 1987)。本研究でも、女王除去後の孤児コロニーを引き継いだ後継女王は比較的老齢の個体であった。また、66.7%(10/15)の孤児コロニーでは 2 個体以上の卵巢発達ワーカーが存在した。孤児コロニーでは女王コロニーよりも高頻度で優位行動が観察され、後継女王は既交尾であっても未交尾であっても創設女王よりも高頻度で

優位行動をとった(図 17, 18)。後継女王による優位行動は、創設女王の存在下では創設女王と同じく低頻度でしか観察されず、創設女王の除去 1 日目から増加し、10 日目でも同程度の頻度で観察された(図 18)。創設女王の除去後のワーカーによる優位行動の頻度の上昇はナンヨウチビアシナガバチでも見られ、本種では優位行動をとることで孤児コロニーの後継女王となるワーカーの卵巣発達が早くなることが報告されている(Lamba *et al.* 2007)。ナンヨウチビアシナガバチでは、後継女王による優位行動の頻度の上昇は産卵開始前のごく短期間(女王の除去から数日間)に限られ、後継女王の産卵の開始とともに優位行動の頻度は低下する。これとは対照的に、本研究のコアシナガバチでは後継女王の優位行動の頻度は、産卵が開始された後にも低下しなかった(図 18)。アシナガバチ類では一般的に、創設女王が最も優位に振る舞い、創設女王の喪失後にコロニーを引き継ぐ後継女王も同様に、最も高頻度で優位行動をとる(Hughes and Strassmann 1988; Deshpande *et al.* 2006)。一方、本研究では孤児コロニーの後継女王が創設女王よりも高頻度で優位行動をとった。これらのことは、本種では優位行動の機能が創設女王と後継女王で異なる可能性を示唆している。

単女王の独立創設によって営巣を開始する社会性昆虫では、産卵個体である創設女王の喪失はしばしばコロニーの存続の危機に結びつく可能性がある。アシナガバチ類でも、単女王制のコロニーは多女王制のコロニーよりも営巣に失敗しやすいことが報告されている(Metcalf and Whitt 1977; Gibo 1978; Litte 1981; Itô 1985; Queller and Strassmann 1988; Tibbetts and Reeve 2003)。アシナガバチ類の単女王制のコロニーでは、創設女王の喪失後に一部のワーカーが創設女王

に代わって孤児コロニーで産卵を行い、ブルードの生産を継続する。しかしながら、創設女王を喪失した孤児コロニーは女王コロニーよりも小さい規模にしか発達しないことが報告されている (Miyano 1986, Strassmann *et al.* 2004)。本研究に用いたコロニーを採集した長野県諏訪市では、野外のコアシナガバチのうち 42.4-64.0%のコロニーが生殖カーストの羽化時期よりも前の 7 月中旬までに創設女王を失っていた (第 3 章を参照)。コアシナガバチの後継女王は、卵巣小管内に創設女王とほぼ同数の成熟した卵母細胞を蓄えていた (図 19)。今回、室内条件で女王コロニーと孤児コロニーの生産性を比較したところ、孤児コロニーでは女王コロニーよりも多くの育房の増加と育房内の卵が観察された (図 20)。コアシナガバチのコロニーは単女王によって創設されることから、ワーカーの羽化前やワーカーの個体数がごく少ない営巣初期のコロニーでは、創設女王の喪失がコロニーの生存率や生殖カーストの生産数の低下に繋がる可能性がある。しかし本研究の結果から、ワーカーが 10 個体存在する本種の孤児コロニーは創設女王の喪失後も生産性が低下せず、後継女王が創設女王と同等以上の生産性を持つ可能性があることが示唆された。孤児コロニーの生産性が低下せずに高く維持されることは、直接の繁殖を巡って潜在的に競争関係にあるワーカー同士が、効率的に協働していることを示唆している。本研究の室内実験は早期羽化オスを排除して行ったため、ワーカーは交尾や受精卵生産を行うことができなかった。長野県諏訪市の個体群では、女王コロニーのワーカーが既交尾であることは稀なため、創設女王を喪失して日が浅い (<2 週間) 孤児コロニーでは未交尾の卵巣発達ワーカーのみが存在する場合がある (山崎 未発表)。しかし創設女王の喪失から 3 週間以上が

経過した孤児コロニーには、全て既交尾の卵巣発達ワーカーが存在する(第3章を参照)。また、本種の孤児コロニーの83.3%では、ワーカー産卵によってメスとオスの両方の子孫を生産することが報告されている(Suzuki 1985)。これらの結果から、コアシナガバチのワーカーは、高い卵生産能力と、ワーカー同士が競争関係にありながら協調的に孤児コロニーを維持することによって、孤児コロニーにおける自らの適応度を最大化できると考えられる。

真社会性昆虫において、女王の死はコロニーにとって唯一の産卵個体を失うのみならず、残された娘ワーカー同士の直接の繁殖を巡る競争の原因となり得ることから、コロニー存続の危機や生産性の低下に繋がる可能性を持つ。本研究の結果、コアシナガバチでは女王の喪失後にワーカーがコロニーを引き継ぎ、その2-3日後には産卵が開始された。孤児コロニーにおける高い優位行動の頻度は、孤児コロニーにおいてワーカー同士の直接の繁殖を巡る競争を反映していると考えられる。しかし、その一方で孤児コロニーの育房数の増加と卵数が女王コロニーよりも大きいことは、コアシナガバチの孤児コロニーの生産性が高く維持され、創設女王の喪失がコロニーの存続に深刻な影響を及ぼしていない可能性を示唆している。



図15. 室内飼育に用いた飼育箱. 段ボール箱に明るさと視認性を高めるためにフィルムを貼った。



図16. 半野外条件の網室における飼育の様子. 全ての側面に網を張り、外気を取り入れたビニールハウス内でコロニーを飼育した。

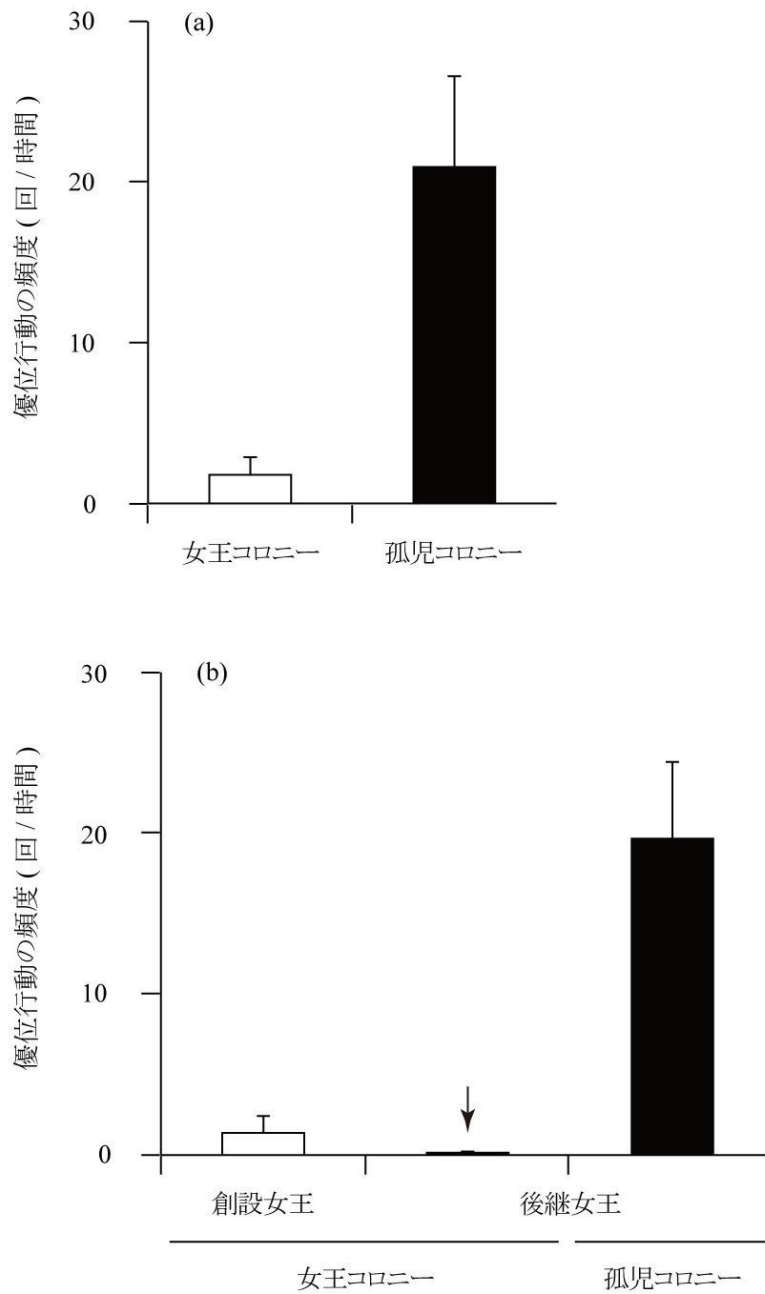


図17. 半野外条件で見られた優位行動の頻度. (a)コロニー内の全ての個体による優位行動(b)創設女王と既交尾・後継女王による優位行動. 白は創設女王、縦縞(矢印で指示)は創設女王の除去後に既交尾・後継女王になる個体、黒は創設女王の除去後の孤児コロニーにおける既交尾・後継女王を示す。エラーバーは標準誤差を示す。

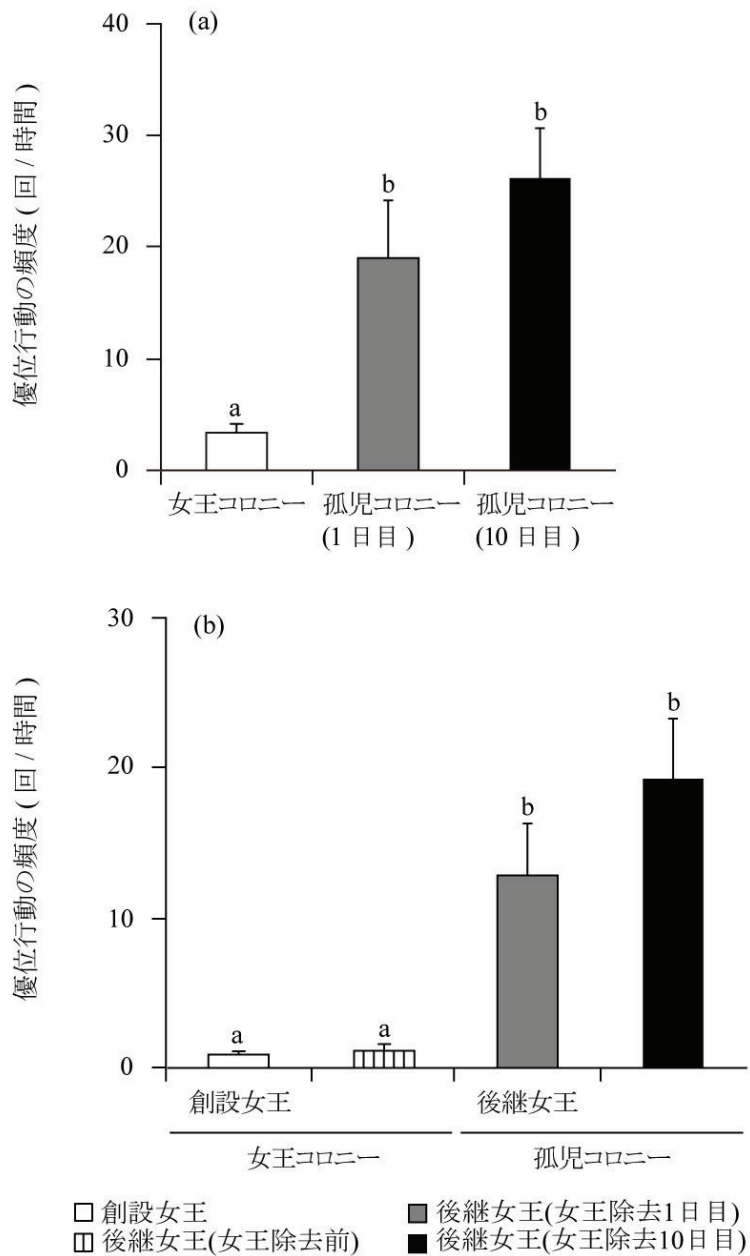


図18. 室内条件で見られた優位行動の頻度. (a)コロニー内の全ての個体による優位行動(b)創設女王と後継女王による優位行動. 白は創設女王、縦縞は創設女王の除去後に未交尾・後継女王になる個体、灰は創設女王の除去1日目の未交尾・後継女王、黒は創設女王の除去10日目の未交尾・後継女王を示す。エラーバーは標準誤差を示す。異符号間で有意差が見られた。

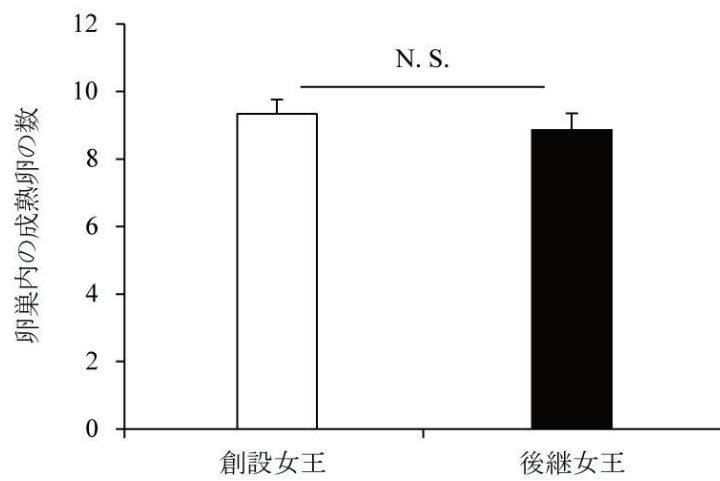


図19. 卵巣内の成熟した卵母細胞の数. 白は創設女王を、黒は後継女王を示す。エラーバーは標準誤差を示す。

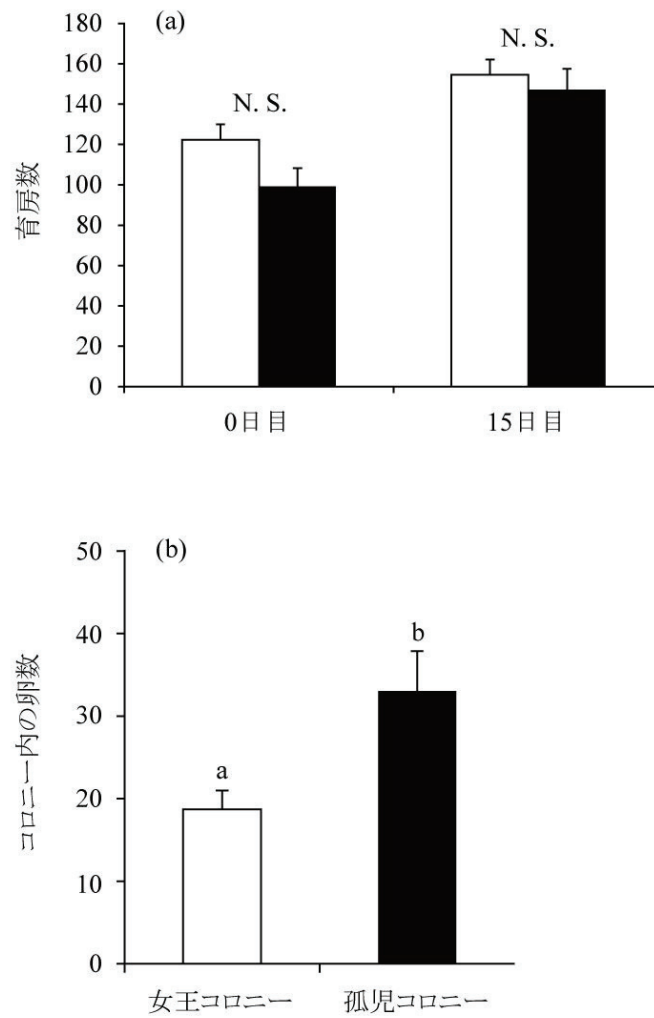


図20. 女王コロニーと孤児コロニーの生産性の比較。(a)創設女王の除去当日(0日目)と実験が終了する15日目の育房数の変化。白は女王コロニー、黒は孤児コロニーを示す。(b)実験の終了時にコロニー内で見られた卵の個体数。エラーバーは標準誤差を示す。異符号間で有意差が見られた。

第 5 章

コアシナガバチの体表ワックス成分の調査

緒論

昆虫の体表はワックス性の化学物質に覆われており、このワックスには虫体から過度の水分が蒸発することを防ぐ機能がある (Gibbs 1998)。体表ワックスは、そこに含まれる長鎖炭化水素 (体表炭化水素 Cuticular hydrocarbons: CHC) の組成および組成比が種や性別、個体によって多様であり、情報化学物質としての機能も持っている (Singer 1998)。真社会性の膜翅目や等翅目では、体表ワックスは血縁個体である巣仲間を他種や異巣個体と識別するためのシグナルとしての働きを持つ (Lorenzi *et al.* 1997; Dani *et al.* 2005; van Zweden and d’Ettorre 2010)。さらに CHC は、コロニー内の個体のカーストや繁殖能力、発育段階などの識別にも関与する (Peeters and Liebig 2009; Liebig *et al.* 2009; Liebig 2010)。多女王制のコロニーの *P. dominula* では、創設期の女王間で CHC の顕著な差が見られない。しかし第 1 ブルードのワーカーが羽化した後の時期には、炭素数が比較的多い直鎖不飽和炭化水素 (アルケン) で構成される優位女王の CHC 組成比と劣位女王、ワーカーのそれとの間で差が見られるようになる (Sledge *et al.* 2001)。CHC 組成比はカーストの異なる個体間だけでなく繁殖生理 (卵巣発達 - 卵巣未発達) の異なる個体間でも差が見られるため、繁殖能力に直接的あるいは間接的にかかわるシグナルであると考えられている。

本研究では、コアシナガバチの創設女王とワーカーの体表ワックス成分を調査し、カーストの違いや繁殖生理の違いと体表ワックス

の組成比との関係を比較した。

材料と方法

1. 体表ワックスの抽出

1) 野外の女王とワーカーからの抽出

カーストおよび繁殖生理と CHC の関係を調査するために、2008 年に採集したコロニー(第 3 章を参照)の創設女王 10 個体と既交尾・卵巣発達ワーカー7 個体、未交尾・卵巣発達ワーカー4 個体、既交尾・卵巣未発達ワーカー16 個体、未交尾・卵巣未発達ワーカー18 個体、羽化直後のメス新成虫 10 個体を個別に管ビン(胴径 15φ×全高 40mm, 容量 3ml, NEG スクリューバイアル, ニチデン理科ガラス株式会社製)に入れ、-80℃の冷凍庫内で保存した。抽出時は冷凍庫から各個体を取り出し、解剖用ハサミを用いて個体の腹部を前伸腹節と膨腹部第 1 節の間で切り離した。膨腹部をピンセットで保持し、体表を無水ヘキササン(99%以上, シグマアルドリッチジャパン株式会社製)でリンスし、体表を伝って滴り落ちた溶液を別の管ビン(胴径 10φ×全高 32mm, 容量 1ml, マイティールバイアル, マルエム株式会社製)に捕集した。その後、管ビンに蓋をし、再度-80℃の冷凍庫内で保存した。各個体の体表ワックスの抽出前には必ず解剖用ハサミとピンセット、管ビンをヘキササンで洗浄し、試料の汚染を防いだ。

2) 個体を生かしたままの抽出

コロニーから創設女王を除去する前後でワーカーの CHC 組成

比がどのように変化するかを調査するために、2009年に実験に用いたコロニー(第4章を参照)の創設女王4個体とワーカー40個体から体表ワックスを抽出した。ここでは、同じ個体から一定期間のうちに複数回の体表ワックスの抽出を行うために、個体を生かしたまま試料を得る手法を選択した。綿を用いて体表ワックスを拭き取った Turillazzi *et al.* (2004)の手法を参考に、抽出法を設定した。

はじめに、濾紙を1辺約4mmの方形に切り取った紙片を抽出の回数に合わせて用意し、これらを一晩以上ヘキサンに浸漬した。抽出作業の直前に、予めヘキサンで洗浄しておいたピンセットを用いて濾紙片を取り出し、外気に触れて乾燥させた。保冷剤に当てるなどして寒冷麻痺させたハチを脱脂綿越しに手で保持し、ピンセットで持った濾紙片をハチの膨腹部背板に60秒間擦りつけた。このようにして体表ワックスを拭き取った濾紙片を1mlの管ビン(マイティーバイアル)に入れ、10 μ lのヘキサンでワックスを溶出させた。

濾紙片による抽出は、創設女王からは1回、ワーカーからは創設女王の除去前と創設女王の除去10日後の2回行った。

2. CHC成分の推定

女王とワーカー(既交尾・卵巢発達 of 個体、未交尾・卵巢発達 of 個体、卵巢未発達 of 個体)の代表個体の体表ワックスをGC-MS(質量分析計 GCMS-QP5000, 島津製作所株式会社製; ガスクロマトグラフィー GC-17A, 島津製作所株式会社製)を用いて分析した。カラムはキャピラリーカラム DB-1HT(カラム内径 0.25mm, 皮膜厚 0.10 μ m, 長

さ 15m, アジレントテクノロジー株式会社製)、キャリアーガスはヘリウムを用いた。気化室内とインターフェイスの温度は、いずれも 300℃に設定した。昇温条件は、60℃を 1 分間保持し、その後は 300℃まで毎分 10℃上昇させ、300℃に到達してから 5 分間保持するように設定した。フラグメントイオンのイオン化は EI 法 (Electron Impact; 電子衝撃)にて行い、イオン化電圧は 70eV とした。分析にあたり、管ビン中の体表ワックスの試料は窒素ガスを吹き付けて溶媒を全て気化させ、ヘキサンを 20μl 注いで調整した。そこからマイクロシリンジを用いて 1μl を取り出し、スプリットレス法によりインサート内に注入した。分析により得られたマススペクトルから、炭化水素成分の推定を行った。

3. CHC 組成比の比較

1) 分析

体表ワックスの分析には GC(ガスクロマトグラフィー GC-17A ver.3, 島津製作所株式会社製)を用いた。カラムはキャピラリーカラム HP-5MS(カラム内径 0.25mm, 皮膜厚 0.25μm, 長さ 30m, アジレントテクノロジー株式会社製)、キャリアーガスはヘリウムを用いた。気化室内の温度は 325℃に設定した。昇温条件は、*P. dominula* を対象に化学分析を行った Dani *et al.* (1996)を参考にし、初期温度は 150℃を 2 分間保持し、その後は 320℃まで毎分 7℃上昇させ、320℃に達したところで 5 分間保持した。FID の温度は 325℃に設定した。分析に用いた各個体の体表ワックスの濃度調整および注入量は、前述の実験と同様にした。

2) 分析結果の標準化

異なる分析機器やカラム、時期で分析した結果では、クロマトグラムに見られる各成分の保持時間が異なる。これらの結果を標準化するため、Kováč (1965)の保持指標値(Retention Index: RI)を用いた。ここでは、目的となる成分が昇温分析で得られたと考えられたため、以下の式により保持指標値を算出した。

$$RI^{stph} = \frac{t_x - t_n}{t_{n+1} - t_n} \times 100 + 100n$$

上記の式の *stph* は固定相液体の種類、 t_n は炭素数 n の直鎖飽和炭化水素の補正済み保持時間、 t_{n+1} は炭素数 $n+1$ の直鎖飽和炭化水素の補正済み保持時間、 t_x は目的の化合物の補正済み保持時間を、それぞれ表す。

3) ピーク面積の計算

GC 分析により得られた各試料のクロマトグラムについて、ソフトウェア CLASS-GC10(島津製作所株式会社製)を用いて各ピークの面積を算出した。計算手法は Aitchison(1986)の以下の式に従い、対数比変換を行った。

$$Z_{ij} = \ln[Y_{ij}/g(Y_j)]$$

上記の式の Z_{ij} は変換後の個体 j における i 番目のピーク面積、 Y_{ij} は個体 j における i 番目のピーク面積、 $g(Y_j)$ は個体 j の全ピーク面積の幾何平均を表す。

変換された値 Z_{ij} を変数として判別分析を行った。ここでの変数選択はステップワイズ法に基づき、各ステップで全体の Wilks のラムダを最小化する変数を順に選択することとした。変数を投入あるいは削除するための F 値の有意確率は最大値・最小値とも

に 0.05 とした。計算にはソフトウェア JMP 11.0.0(SAS Institute Japan 株式会社製)を用いた。全ての個体に共通の 16 成分を比較に用いた。

結果

1. コアシナガバチの CHC 成分

体表ワックスを GC-MS にて分析した結果、クロマトグラムから 42 のピークが検出された(図 21)。各ピークのマススペクトルから、炭素数が 29 から 37 までのアルカン、メチルアルカン、ジメチルアルカン、アルケン、メチルアルケンが推定された(表 4)。

2. カーストおよび繁殖生理と CHC 組成比

試料は女王コロニーと孤児コロニーの両方から得たが、孤児コロニーは女王を喪失した時期が不明であるため、両者を区別せず分析に用いた。判別分析を行うにあたり、投入された変数はピーク番号 11(3-Methylhentriacontane; 炭素数 32)、ピーク番号 26(不明; 炭素数 34or35)、ピーク番号 41(不明; 炭素数 ≥ 37)、ピーク番号 19(Methyltritriacontene; 炭素数 34)、ピーク番号 20(7-Methyltritriacontane; 炭素数 34)、ピーク番号 34(不明; 炭素数 ≥ 37)、ピーク番号 40(不明; 炭素数 ≥ 37)、ピーク番号 1(*n*-Nonacosane; 炭素数 29)、ピーク番号 5(*n*-Triacontane; 炭素数 30)、ピーク番号 12(不明; 炭素数 32or33)の順であった。分析の結果、判別関数 1 は分散の 74.6%を説明し、判別関数 2 は分散の 16.2%を説明した(Wilks' $\lambda=0.01$, $F=8.21$, $P<0.0001$; 図 22)。創設女王の正判別

率は 100%(10/10)、既交尾・卵巣発達ワーカーの正判別率は 57.1%(4/7)、未交尾・卵巣発達ワーカーの正判別率は 100%(4/4)、既交尾・卵巣未発達ワーカーの正判別率は 68.8%(11/16)、未交尾・卵巣未発達ワーカーの正判別率は 66.7%(12/18)、メス新成虫の正判別率は 90.0%(9/10)であった。創設女王のグループとそれ以外のグループは判別関数 1 において明確に分離した。未交尾・卵巣発達ワーカーや既交尾・卵巣未発達ワーカーは判別関数 2 において未交尾・卵巣未発達ワーカーよりも判別得点が低い傾向が見られた。既交尾・卵巣発達ワーカーは他のワーカーよりも判別関数 1 において判別得点が高く、判別関数 2 において判別得点が低い傾向が見られた。メス新成虫は全てのワーカーのグループとほぼ明確に分離した。

3. ワーカーの CHC 組成比の変化

分析に用いた女王コロニーのワーカー 40 個体は、創設女王の除去 10 日後の孤児コロニーにおいて 8 個体の卵巣発達ワーカーと 32 個体の卵巣未発達ワーカーに分けられた。これらのコロニーは研究室内で早期羽化オスを排除して飼育したため、ワーカーは全ての個体が未交尾であった。判別分析を行うにあたり、投入された変数はピーク番号 41(不明; 炭素数 ≥ 37)、ピーク番号 25(不明; 炭素数 34or35)、ピーク番号 20(7-Methyltritriacontane; 炭素数 34)、ピーク番号 12(不明; 炭素数 32or33)、ピーク番号 19(Methyltritriacontene; 炭素数 34)、ピーク番号 34(不明; 炭素数 ≥ 37)、ピーク番号 35(不明; 炭素数 ≥ 37) の順であった。分析の結果、判別関数 1 は分散の 91.1%を説明し、判別関数 2 は分散の 8.1%を説明した (Wilks' $\lambda=0.03$, $F=24.88$, $P<0.0001$; 図 23)。創設女王の正判別率は 100%(4/4)、女王除去前の

ワーカーの正判別率は 75.0%(30/40)、女王除去後の卵巢未発達ワーカーの正判別率は 78.1%(25/32)、女王除去後の卵巢発達ワーカーの正判別率は 87.5%(7/8)であった。創設女王のグループとそれ以外のグループは判別関数 1 において明確に分離した。ワーカーのグループは創設女王の除去前には判別関数 2 において判別得点が高い傾向が見られ、創設女王の除去 10 日後には判別関数 2 において判別関数が低く変化する傾向が見られた。特に、卵巢発達ワーカーの判別関数 2 における判別得点は他のグループのものよりも低く、そのグループが他のワーカーのグループとほぼ明確に分離した。

考察

化学分析の結果、コアシナガバチの体表ワックスからは炭素数が 29-37 までの長鎖炭化水素が推定された。これらの組成比は、判別分析において創設女王のグループとその他のグループで明確に分離していたことから、本種の CHC の組成比はカーストの違いを強く反映していることを示唆している。また、判別分析においてワーカーのグループは交尾や卵巢発達の有無によって異なる傾向が見られた。このことは、本種の CHC の組成比は繁殖生理の違いも反映していることを示唆している。創設女王の除去前と除去 10 日後でワーカーの CHC 組成比は変化した。判別分析において卵巢発達ワーカーのグループと卵巢未発達ワーカーのグループの両方が創設女王の除去前のグループと異なったことから、コロニーの創設女王の有無または日齢の変化、あるいはその両方がワーカーの CHC の組成比に影響すると考えられる。本種では繁殖生理やコロニー内での創設女王の有無

がワーカーの CHC の組成比の差異に反映されるが、それ以上にキャスト間での差異が大きく、女王とワーカーが化学的に異質であることを示唆している。

アシナガバチ類の体表ワックスについては、一部の種でのみ明らかにされており、*P. dominula* では炭素数 23-35 のアルカンとメチルアルカン、ジメチルアルカン、アルケンで構成されることが報告されている (Bonavita-Cougourdan *et al.* 1991)。同様に、*P. fuscatus* では炭素数 23-33 のアルカン、メチルアルカン、ジメチルアルカン、アルケン、メチルアルケンで構成される (Espelie *et al.* 1994)。またフタモンアシナガバチの体表ワックスからは二重結合を持つ炭化水素が検出されず、CHC は炭素数 25-35 のアルカンとメチルアルカン、ジメチルアルカンのみで構成されることが報告されている (西郷 2010)。本研究の結果から、コアシナガバチの体表ワックスからは炭素数 29-37 までの炭化水素が推定され、より炭素数の多い炭化水素の存在も示唆されている (Table 4)。また、本種の CHC からはアルカンとメチルアルカン、ジメチルアルカン、アルケン、メチルアルケンが推定された。これらの結果から、本種の CHC は他種の CHC よりも炭素数が多く、より難揮発性の傾向が強い炭化水素を主として構成されていることが明らかになった。

P. dominula では、単女王制のコロニーの創設女王とワーカーで CHC の組成比が異なる (Bonavita-Cougourdan *et al.* 1991)。一方で、実験的に創設女王を除去した孤児コロニーでは、未交尾の卵巣発達ワーカーの CHC 組成比が創設女王のものと近似することが報告されている (Dapporto *et al.* 2005)。一方で、本研究の判別分析の結果から、コアシナガバチでは創設女王とワーカーの CHC の組成比は明確

に異なることが明らかになった。本研究に用いたメス新成虫は、8月上旬に採集された個体であったため、新女王だと考えられる。このメス新成虫(新女王)のCHC組成比のグループが創設女王と明確に分離され、ワーカーのグループともほぼ明確に分離されたことから、本種のCHC組成比はカーストと日齢、あるいは冬眠経験の有無を反映していると考えられる。また、創設女王の除去後に未交尾・卵巣発達ワーカーのCHC組成比は創設女王のものに近似しないことが明らかになった。創設女王と同様にオスと交尾し卵巣発達したワーカーでは、わずかに創設女王のCHC組成比に近づく傾向が見られたが、両者の間でも明確な差があり近似しなかった。これらの結果は、本種がCHC組成比においてカースト分化が明確であり、ワーカーの生理的な分化全能性が見られないことを示唆している。原始的な真社会性膜翅目であるアシナガバチ類は、女王とワーカーが形態的に判別できない場合が多く、ワーカーも高い繁殖能力を持つ。そのため、女王とワーカーに機能的な差異は見られず、カーストが未分化であることが仮定されてきた。しかし近年では、アシナガバチ類の女王とワーカーでは遺伝子の発現に差異が見られることが明らかにされている(Toth *et al.* 2007)。また、アシナガバチ類のカースト決定には前蛹期の栄養条件の違いが関係しており、高い栄養条件で養育された個体は寿命の長い新女王として羽化し、冬眠して創設女王となることが示唆されている(Hunt and Amdam 2005)。CHCの組成比が創設女王とワーカー、メス新成虫(新女王)で異なるという本研究の結果は、これらの報告を支持している。

一般的に、営巣規模の小さいアシナガバチ類では、女王が優位行動を高頻度でとることによってワーカーの繁殖を抑制する(Pardi

1948; West-Eberhard 1969)。一方で、ナンヨウチビアシナガバチでは女王は優位行動をほとんどとらない。本種はデュフル腺に炭素数 21-33 の炭化水素が含まれ、女王に特徴的な構成比の難揮発性の混合物が女王フェロモンとして機能し、これによってワーカー繁殖を抑制することが報告されている (Sumana *et al.* 2008; Bhadra *et al.* 2010)。コアシナガバチの女王コロニーでは優位行動が観察される頻度が孤児コロニーよりも低く、創設女王が優位行動をとる頻度はワーカーと比較して高くない(第 4 章を参照)。本章での結果はコアシナガバチの創設女王の CHC とワーカー繁殖の抑制の関係を直接明らかにしたものではない。しかし、女王とワーカーの CHC の組成比が繁殖生理の異同に関係なく明確に分離したことと、創設女王と孤児コロニーの後継女王(優位の卵巣発達ワーカー)に見られた優位行動の頻度の顕著な差異(第 4 章を参照)は、本種の創設女王と後継女王が繁殖メスとして異質であり、異なる機構によって他のワーカーの繁殖を抑制している可能性: すなわち、(1)創設女王は優位行動をワーカー繁殖の抑制に用いず、特徴的な組成比の CHC が女王フェロモンとしてワーカー繁殖の抑制に寄与している(2)後継女王は高い頻度の優位行動によって他のワーカーの繁殖を抑制している—を示唆している。

表4. GC-MS分析により推定された炭化水素.

ピーク番号	保持時間	保持指標値	推定された炭化水素	炭素数/分子量
1	20.508	2899	<i>n</i> -Nonacosane	29/408
2	20.712	2929	-	29or30/-
3	20.783	2940	7-Methylnonacosane	30/422
4	20.991	2970	-	30/-
5	21.167	2996	<i>n</i> -Triacontane	30/422
6	21.597	3063	Dimethyltriacontane? Ex 14,16-Dimethyltriacontane	31/436
7	21.651	3072	Triacontene	31/434
8	21.832	3100	<i>n</i> -Hentriacontane	31/436
9	22.020	3130	13-Methylhentriacontane	32/450
10	22.147	3150	5-Methylhentriacontane	32/450
11	22.289	3172	3-Methylhentriacontane	32/450
12	22.455	3198	-	32or33/-
13	22.510	3207	-	32or33/-
14	22.630	3227	-	32or33/-
15	22.773	3251	-	32or33/-
16	22.845	3263	-	32or33/-
17	22.906	3273	Tritriacontene	33/462
18	23.063	3299	<i>n</i> -Tritriacontane	33/464
19	23.163	3316	Methyltritriacontene	34/476
20	23.260	3332	7-Methyltritriacontane	34/478
21	23.320	3342	5-Methyltritriacontane + Dimethyltritriacontane	34/478
22	23.394	3354	-	34/-
23	23.485	3369	3-Methyltritriacontane	34/478
24	23.543	3379	-	34or35/-
25	23.680	3402	-	34or35/-
26	23.829	3428	-	34or35/-
27	23.971	3453	-	34or35/-
28	24.094	3475	Pentatriacontene	35/490
29	24.239	3500	-	-
30	24.340	3518	Methylpentatriacontene	36/504
31	24.449	3537	15-Methylpentatriacontane +17-Methylpentatriacontane	36/506
32	24.574	3559	Ex 15,21-Dimethylpentatriacontane	37/520
33	24.650	3573	3-Methyl pentatriacontane or 7,x-Dimethylpentatriacontane	≥37/-
34	24.696	3581	-	≥37/-
35	24.824	3603	-	≥37/-
36	24.953	3626	-	≥37/-
37	25.080	3648	-	≥37/-
38	25.214	3672	-	≥37/-
39	25.475	3718	-	≥37/-
40	25.549	3731	-	≥37/-
41	25.797	3775	-	≥37/-
42	25.876	3789	-	≥37/-

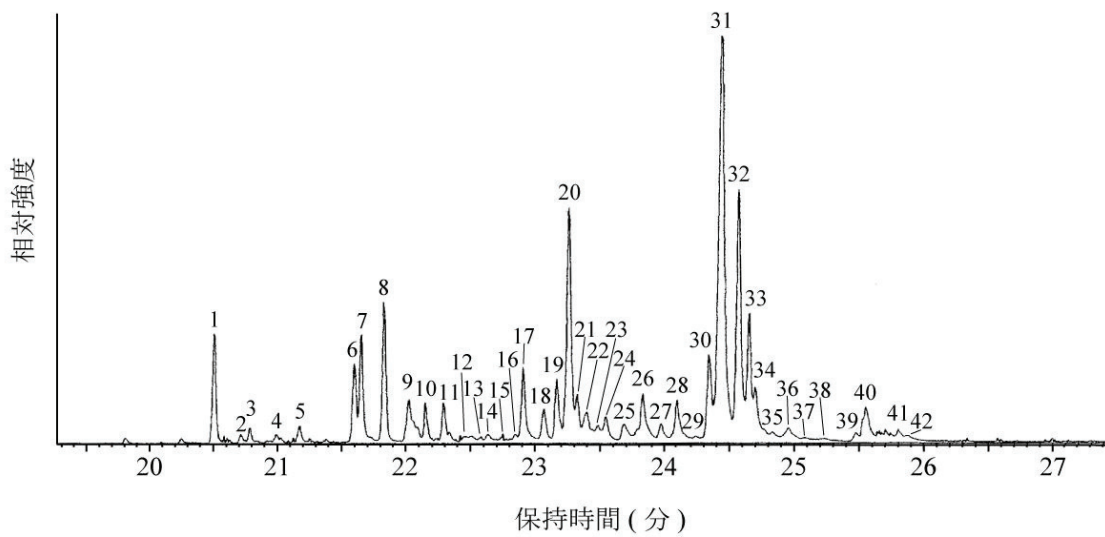


図21. コアシナガバチの体表ワックスのクロマトグラム.図中のピーク上に示した番号は表4に示す成分の番号に対応する。カラムはDB-1HT、分析時間は30分に設定した。

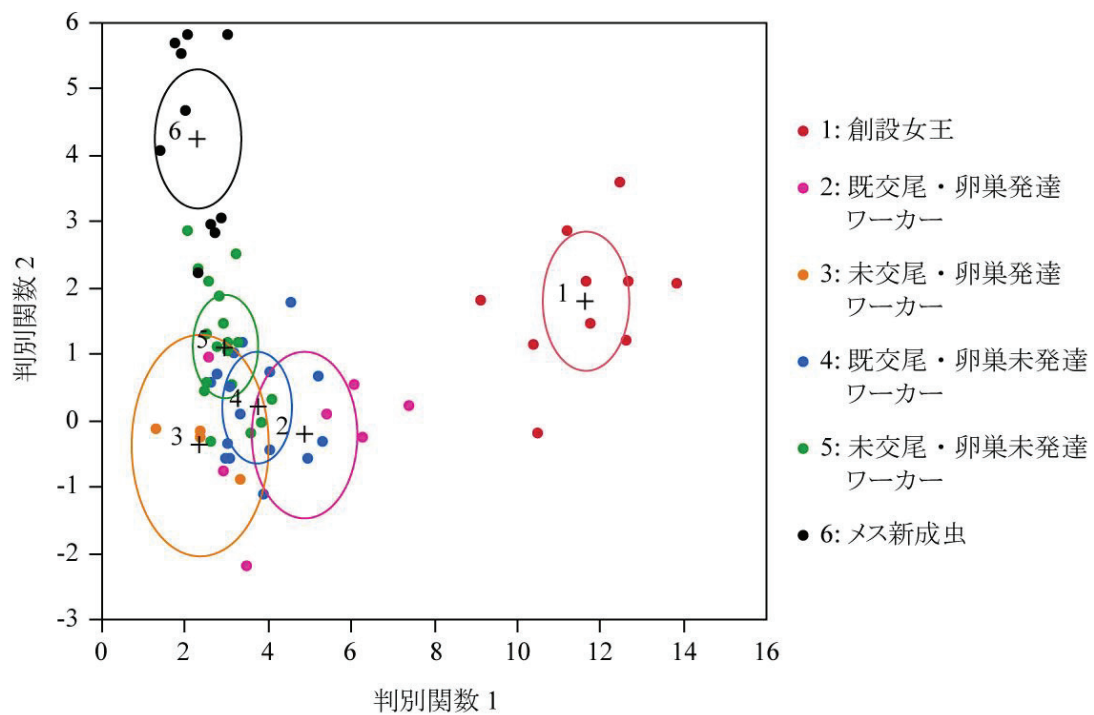


図22. コアシナガバチのCHC組成比の比較.グループ間の判別得点に有意差あり(Wilks' $\lambda=0.01$, $F=8.21$, $P<0.0001$).図中の+は各グループの重心を示す。判別関数1では分散の74.6%、判別関数2では16.2%を説明する。楕円はグループ平均に対する95%信頼限界を示す。

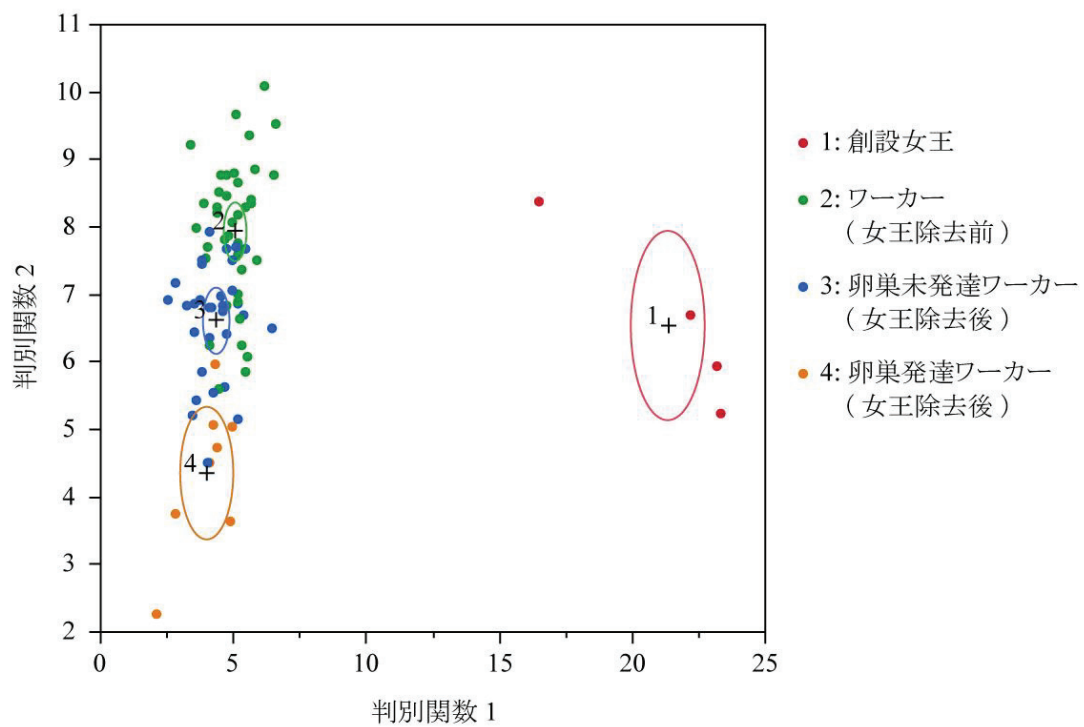


図23. 創設女王の除去とCHC組成比の変化.グループ間の判別得点に有意差あり(Wilks' $\lambda=0.03$, $F=24.88$, $P<0.0001$)。図中の+は各グループの重心を示す。判別関数1では分散の91.1%、判別関数2では8.1%を説明する。楕円はグループ平均に対する95%信頼限界を示す。

第 6 章

総合考察

本研究の結果から、キアシナガバチの早期羽化オスは繁殖能力を持たない 2 倍体の個体であり、本種における早期羽化オス生産は早期羽化オスと交尾した産卵メスを介して次世代の生殖カースト(新女王)を生産することに繋がらないと推察できた。一方、繁殖能力を持つ半数体の早期羽化オスの生産が知られているコアシナガバチでは、本研究の結果からワーカーが高い産卵能力を持ち、創設女王を失った孤児コロニーにおいてもワーカー繁殖によって次世代の繁殖カーストを十分に生産し得ることが推察できた。また、孤児コロニーの後継女王(優位の卵巣発達ワーカー)は創設女王よりも高頻度で優位行動をとる個体であり、CHC の組成比の分析結果も本種の女王とワーカーが明確に分化していることを支持した。これらの結論をもとに、アシナガバチ類の代替的繁殖戦略としての早期羽化オス生産と、ワーカー繁殖の意義について考察する。

年一化性のアシナガバチ類は春にコロニーを創設し、営巣初期は創設女王が繁殖だけでなく単独で労働の全てを担う。そのため、外役中・在巣中を問わず外敵の影響を受けコロニーが容易に崩壊すると考えられる。実際に、本研究の結果から、調査地のコアシナガバチでは 50.3%の初期コロニーが最初のワーカーが羽化する 6 月下旬までに創設女王を失い、崩壊した。また、第 1 ブルードワーカーが羽化する 6 月下旬から生殖カースト羽化前の 7 月中旬までにも、42.4-64.0%のコロニーが創設女王を喪失した。こうした普遍的な創設女王の喪失に対し、本研究の結果から長野県諏訪市のコアシナガ

バチのワーカーは全ての孤児コロニーにおいて女王の除去から 2-3 日後の早期に産卵を開始することが明らかにされた。同じコアシナガバチでも、寒冷地の札幌市の個体群では創設女王の喪失後にワーカー産卵がほとんど行われなことが知られている。さらに、ごく稀に見られた孤児コロニーでのワーカー産卵では、女王の喪失から産卵まで約 7 日を要したことが報告されている(佐山 2007)。このように、同種であってもその生理的・生態的特徴は地域間で対照的である。諏訪市のコアシナガバチのワーカーで見られた比較的速やかな卵巣発達は、本調査地の個体群における創設女王の高い喪失率と、ワーカー繁殖による生殖カーストの生産を可能とする営巣期間の長さを反映していると推察できる。フタモンアシナガバチと *P. dominula* では、孤児コロニーは女王コロニーと比較して生産性が低く規模が小さいことが知られている(Miyano 1986, Strassmann *et al.* 2004)。また、キアシナガバチでは、実験条件下の孤児コロニーの規模が女王コロニーの規模と比較して小さいことが報告されている(山崎 2005)。これらの 3 種ではそれぞれ、過去の報告および本研究によって早期羽化オスが 2 倍体の不稔個体であることが明らかにされている。一方、野外での調査と室内実験の両方の結果から、諏訪市のコアシナガバチでは創設女王の喪失後も後継女王(卵巣発達ワーカー)が繁殖を行い、孤児コロニーの生産性が低下することなく女王コロニーと同程度あるいはそれ以上に維持されることが明らかにされた。半数体の早期羽化オスが生産されない種で孤児コロニーのワーカーの生産性が低く、半数体の早期羽化オスが生産される種ではこれと対照的に孤児コロニーのワーカーの生産性が高いことは、本来早期羽化オスの生産が既交尾ワーカーを介して新女王を生産す

ることで初めて成立する代替的繁殖戦略としての意義を持つことと矛盾しない。

潜在的には孤児コロニーのワーカー同士は直接の繁殖を巡って競争関係にあり、実際に孤児コロニーでは女王コロニーと比較して有意行動の頻度が有意に高かった。それにも関わらず、本研究に用いたコアシナガバチでは、ビデオ撮影中にワーカー間の致死的な闘争や食卵などの行動はほとんど見られなかった。このように一見‘協調的’だと判断できるワーカー同士の関係は、優位行動などによって後継女王が他のワーカーの繁殖を抑制したためであるのか、あるいは後継女王を含む複数の産卵ワーカーがそれぞれ産卵しているためであるのかは、分子生物学的な手法を用いた分析によって明らかになると期待される。

摘要

1. キアシナガバチ (*Polistes rothneyi iwatai*) の早期羽化オス生産コロニーについて、羽化した第 1 ブルードの性比を比較したところ、いずれも 1:1 の性比との間に有意差が見られなかった。早期羽化オスについて合計 3 遺伝子座のマーカを用いた DNA マイクロサテライト領域の分析を行った結果、本種の早期羽化オスは全て性決定遺伝子座がホモ接合体となった 2 倍体の不稔個体であることが推定された。
2. 長野県諏訪市の調査地においてコアシナガバチ (*P. snelleni*) の生存率を調査した。その結果、50.3% のコロニーが第 1 ブルードのワーカーが羽化する前の単独営巣期に創設女王を喪失し、崩壊した。また、第 1 ブルードのワーカーが羽化する 6 月下旬から生殖カースト羽化前の 7 月中旬までにも、42.4-64.0% のコロニーが創設女王を喪失した。生存率の年次変動は大きかったものの、調査地ではコロニーの多くが普遍的に創設女王を失うことが示唆された。
3. 野外のコアシナガバチについて、コロニーの生産性を育房数と卵数で定義し、女王コロニーと孤児コロニーとで結果を比較した。コロニーの生産性には年次変動が見られたが、孤児コロニーの生産性は必ずしも女王コロニーよりも低くないことが示唆された。
4. 実験条件下で人為的にコアシナガバチの女王コロニーと孤児コ

ロニーの飼育条件を統一し、両者の生産性を比較した。その結果、孤児コロニーは創設女王の喪失後も育房数・卵数ともに女王コロニーと同等の結果となり、本種が創設女王の喪失後もワーカー繁殖により孤児コロニーの生産性を高く維持することが明らかになった。解剖の結果から、孤児コロニーの後継女王(優位の卵巣発達ワーカー)は卵の生産能力についても創設女王と同等であることが示唆された。

5. コアシナガバチの女王コロニーと孤児コロニーで観察された優位行動の頻度を比較したところ、女王コロニーでは優位行動の頻度が低く、孤児コロニーでは創設女王の除去の直後から優位行動の頻度が上昇し、10日後にも頻度が低下しないことが明らかにされた。孤児コロニーの産卵メスである後継女王(優位の産卵ワーカー)は既交尾か未交尾かにかかわらず、女王コロニーの創設女王よりも高頻度で優位行動を示した。創設女王は高頻度の優位行動によらない、別の何らかの機構によってワーカーの繁殖を抑制している可能性が示唆された。

6. コアシナガバチの体表ワックスを GC および GC-MS により分析した結果、炭素数 29-37 までの炭化水素が検出された。CHC の組成比にはワーカーの生理状態を反映する傾向が見られた。カースト間で CHC の組成比に明確な差異が見られ、交尾や卵巣発達の有無にかかわらずワーカーの CHC の組成比は女王に近似しなかった。創設女王と後継女王は、(1)創設女王は優位行動ではなく特徴的な CHC 組成比の女王フェロモンによってワーカー繁殖

を抑制し(2)後継女王は CHC 組成比の特異性が低く、優位行動によって他のワーカーの繁殖を抑制する、という異なる繁殖抑制の機構を持つ可能性が示唆された。

謝辞

本研究を進めるにあたり、終始適切にご指導を賜った岐阜大学応用生物科学部昆虫生態学研究室の土田浩治教授に対して心より御礼申し上げます。同じくご指導を賜った岐阜大学応用生物科学部多様性保全学研究室の川窪伸光教授、静岡大学農学部応用昆虫学研究室の西東力教授に対しても心より御礼を申し上げます。本研究に取り組むきっかけを与えて下さり、激励していただいた玉川大学農学部の小野正人教授、長年にわたって有益なご助言とご指導をいただいた京都産業大学総合生命科学部の高橋純一准教授に対して心より御礼申し上げます。ならびに、本研究を行う上で多大なるご尽力とご指導をいただいた京都工芸繊維大学資源昆虫教育分野の秋野順治教授と水野尊文氏に心より御礼申し上げます。本研究に対して有益なご助言と多くの文献のご提供をいただいた森林総合研究所北海道支所の佐山勝彦博士に深く感謝の意を表す。数々の実験について日常的にご助言をいただき、温かく見守っていただいた西郷隆治博士、石黒則雄博士に御礼申し上げます。日々の研究活動にご協力を下さった岐阜大学昆虫生態学研究室の諸兄に御礼申し上げます。博士課程の2年間に渡り経済的なご支援をいただいた財団法人中董奨学会に厚く御礼申し上げます。

引用文献

- Aitchison J. 1986. The statistical analysis of compositional data:
Monographs on statistics and applied probability: Chapman & Hall
Ltd., London, 416pp
- Ayabe T., Hoshihara H. and Ono M. 2004. Cytological evidence for
triploid males and females in bumblebee, *Bombus terrestris*.
Chromosome Res. **12**: 215-223
- Bassam B.J., Caetano-Anolles G. and Gresshoff P.M. 1991. Fast and
sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Anal
Biochem.* **196**: 80-83
- Bhadra A., Mitra A., Deshpande S.A., Chandrasekhar K., Naik D.G.,
Hefetz A. and Gadagkar R. 2010. Regulation of reproduction in the
primitively eusocial wasp *Ropalidia marginata*: on the trail of the
queen pheromone. *J. Chem. Ecol.* **36**: 424-431
- Bonavita-Cougourdan A., Theraulaz G., Bagnères A., Roux M., Pratte
M., Provost E. and Clément J. 1991. Cuticular hydrocarbons, social
organization and ovarian development in a polistine wasp: *Polistes
dominulus* Christ Comp. *Biochem. Physiol.* **4**: 667-680
- Bruyndonckx N., Kardile S.P. and Gadagkar R. 2006. Dominance

behaviour and regulation of foraging in the primitively eusocial wasp *Ropalidia marginata* (Lep.) (Hymenoptera: Vespidae). *Behav. Process.* **72**: 100–103

Dani F.R., Morgan E.D. and Turillazzi S. 1996. Dufour gland secretion of *Polistes* wasp: Chemical composition and possible involvement in nestmate recognition (Hymenoptera: vespidae). *J. insect Physiol.* **42**: 541-548

Dani F.R., Jones G.R., Corsi S., Beard R., Pradella D. and Turillazzi S. 2005. Nestmate recognition cues in the honey bee: differential importance of cuticular alkanes and alkenes *Chem. Sens.* **30**: 477-489

Dapporto L., Sledge M.F. and Turillazzi S. 2005. Dynamics of cuticular chemical profiles of *Polistes dominulus* workers in orphaned nests (Hymenoptera, Vespidae). *J. Insect Physiol.* **51**: 969-973

Deshpande S.A., Sumana A., Surbeck M. and Gadagkar R. 2006. Wasp who would be queen: a comparative study of two primitively eusocial species. *Curr. Sci. India* **91**: 332–336

Dew H.E. 1983. Division of labor and queen influence in laboratory colonies of *Polistes metricus* (Hymenoptera; Vespidae). *Z. Tierpsychol.* **61**: 127–140

Duchateau MJ., Hoshiaba H. and Velthuis HHW. 1994. Diploid males in the bumblebee *Bombus terrestris* sex determination, sex alleles and viability. *Entomol exp appl.* **71**: 263-269

Duchateau MJ. and Marien J. 1995. Sexual biology of haploid and diploid males in the bumble bee *Bombus terrestris*. *Insect Soc.* **42**: 255-266

Espelie K.E., Gamboa G.J., Grudzien T.A. and Bura E.A. 1994. Cuticular hydrocarbons of the paper wasp, *Polistes fuscatus*: a search for recognition pheromones. *J. Chem. Ecol.* **20**:1677-1687

Gadagkar R. 2001. *The Social Biology of Ropalidia marginata: Toward Understanding the Evolution of Eusociality*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 368 pp

Gamboa G.J. 1978. Intraspecific defense: advantage of social cooperation among paper wasp foundresses. *Science.* **199**: 1463-1465

Gamboa G.J. and Dew H.E. 1981. Intracolony communication by body oscillations in the paper wasp, *Polistes metricus*. *Insect. Soc.* **28**: 13-26

Gibbs A.G. 1998. Water-proofing properties of cuticular lipids *Amer. Zool.* **37**: 471-482

- Gibo D.L. 1978. The selective advantage of foundress associations in *Polistes fuscatus* (Hymenoptera: Vespidae): a field study of the effects of predation on productivity. *Can. Entomol.* **110**: 519–540
- Hagiwara Y. and Kojima J. 2002. Reproductive options for first brood “workers” emerging in orphan nests of *Polistes nipponensis* (Hymenoptera, Vespidae). *Insect. Soc.* **49**: 191–195
- Hoshihara H. and Ono M. 1984. The early emerging male of the Japanese paper wasp, *Polistes snelleni* Saussure (Vespidae, Hymenoptera) and its chromosome. *Proc Japan Acad.* **60**: 368-371
- Hughes C.R. and Strassmann J.E. 1988. Age is more important than size in determining dominance among workers in the primitively eusocial wasp, *Polistes instabilis*. *Behaviour* **107**: 1–14
- Hung ACF., Vinson SB. and Summerlin JW. 1974. Male sterility in the imported red fire ant, *Solenopsis invicta*. *Ann Entomol Soc Amer.* **67**: 909-912
- Hunt J.H. and Amdam G.V. 2005. Bivoltinism as an antecedent to eusociality in the paper wasp genus *Polistes*. *Science* **308**:264-267
- Huth-Schwarz A., León A., Vandame R., Moritz R.F.A. and Kraus B.

2011. Workers dominate male production in the Neotropical bumblebee *Bombus wilmattae*. *Front. Zool.* **8**: 13
(doi:10.1186/1742-9994-8-13)
- Inagawa K., Kojima J., Sayama K. and Tsuchida K. 2001. Colony productivity of the paper wasp *Polistes snelleni*: comparison between cool-temperature and warm-temperature populations. *Insect. Soc.* **48**: 259–265
- Ishikawa Y., Yamada Y., Matsuura M., Tsukada M. and Tsuchida K. 2011. *Polistes japonicus* (Hymenoptera, Vespidae) queens monopolize ovipositing but are not the most active aggressor in dominant-subordinate interactions. *Insect. Soc.* **58**: 519–529
- Itô Y. 1985. Colony development and social structure in a subtropical paper wasp, *Ropalidia fasciata* (F.) (Hymenoptera: Vespidae). *Res. Popul. Ecol.* **27**: 333–349
- Jha S., Casey-Ford R.G., Pederson J.S., Platt T.G., Cervo R., Queller D.C. and Strassmann J.E. 2006. The queen is not a pacemaker in the small-colony wasps *Polistes instabilis* and *P. dominulus*. *Anim. Behav.* **71**: 1197–1203
- Kasuya E. 1983. Behavioral ecology of Japanese paper wasp, *Polistes* spp. IV. Comparison of ethograms between queens and workers of *P.*

chinensis antennalis in the ergonomic stage. *J. Ethol.* **1**: 34-45

Kasuya E. 1983b. Social behavior of early emerging males of a Japanese paper wasp, *Polistes chinensis antennalis* (Hymenoptera: Vespidae). *Researches on Population Ecology.* **25**: 143-149

川添 穰 1997. キアシナガバチ (*Polistes rothneyi iwatai* van der Vecht) の DNA フィンガープリント法による血縁構造の解析. 玉川大学大学院農学研究科修士論文

Klahn J.E. 1988. Intraspecific comb usurpation in the social wasp *Polistes fuscatus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology.* **23**: 1-8

Klahn J.E. and Gamboa G.J. 1983. Social wasps: discrimination between kin and non-kin brood. *Science.* **221**: 482-484

Kováts E. 1965. Gas chromatographic characterization of organic substances in the retention index system. In: *Advances in Chromatography I.* (Giddings J.C. and Keller R.A., Eds.), Dekker, New York, pp 229-247

Lamba S., Kazi Y.C., Deshpande S., Natesh M., Bhadra A. and Gadagkar R. 2007. A possible novel function of dominance behaviour in queen-less colonies of the primitively eusocial wasp *Ropalidia marginata*. *Behav. Process.* **74**: 351-356

- Liebert AE., Johnson RN., Switz GT. and Starks PT. 2004. Triploid females and diploid males: underreported phenomena in *Polistes* wasps? *Insect Soc.* **51**: 205-211
- Liebert AE., Sumana A. and Starks PT. 2005. Diploid males and their triploid offspring in the paper wasp *Polistes dominulus*. *Biol Lett.* **1**: 200-203
- Liebig J., Eliyahu D. and Brent C.S. 2009. Cuticular hydrocarbon profiles indicate reproductive status in the termite *Zootermopsis nevadensis* *Behav. Ecol. Sociobiol.* **63**: 1799-1807
- Litte M. 1981. Social biology of polistine wasp *Mischocyttarus labutions*: survival in a Colombian rain forest. *Smithonian Contrib. Zool.* **327**: 1-27
- Lorenzi M.C., Bagneres A.G. and Clement J.L. 1997. *Polistes biglumis bimaculatus* epicuticular hydrocarbons and nestmate recognition (Hymenoptera, Vespidae). *Insectes Soc.* **44**: 123-138
- Makino S. 1985. Foundress-replacement on nests of the monogynic paper wasp *Polistes biglumis* in Japan (Hymenoptera, Vespidae). *Kontyû.* **53**: 143-149
- Makino S. 1989. Usurpation and nest rebuilding in *Polistes riparius*:

- two ways to reproduce after the loss of the original nest (Hymenoptera: Vespidae). *Insectes Sociaux*. **36**: 116-128
- Makino S. and Sayama K. 1991. Comparison of intraspecific nest usurpation between two haplometrotic paper wasp species (Hymenoptera: Vespidae: *Polistes*). *Journal of Ethology*. **9**: 121-128
- 松浦 誠 . [図説]社会性カリバチの生態と進化. 北海道大学図書刊行会 353pp
- Metcalf R.A. and Whitt G.S. 1977. Relative inclusive fitness in the social wasp *Polistes metricus*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **2**: 353-360
- Miyano S. 1986. Colony development, worker behavior and male production in orphan colonies of a Japanese paper wasp, *Polistes chinensis antennalis* Pérez (Hymenoptera: Vespidae). *Res. Popul. Ecol.* **28**: 347-361
- Miyano S. 1991. Worker reproduction and related behavior in orphan colonies of a Japanese paper wasp, *Polistes jadwigae* (Hymenoptera, Vespidae). *J. Ethol.* **9**: 135-146
- Naito T. and Suzuki H. 1991. Sex determination in the sawfly *Athalia rosae ruficornis*: occurrence of triploid males. *J Hered.* **82**: 101-104

- Ono M. 1989. Multiple-comb nest foundation by a single inseminated worker of the temperate paper wasp, *Polistes snelleni* Saussure (Hymenoptera: Vespidae). *J Ethol.* **7**: 57-58
- Page RE., Post DC. and Metcalf RA. 1989. Satellite nests, early males, and plasticity of reproductive behavior in a paper wasp. *Am Nat.* **134**: 731-748
- Pardi L. 1948. Dominance order in *Polistes* wasps. *Physiol. Zoöl.*, **21**: 1-13
- Peeters C. and Liebig J. 2009. Fertility signaling as a general mechanism of regulating reproductive division of labor in ants. In: *Organization of Insect Societies. From genome to Sociocomplexity.* (Gadau J. and Fewell J., Eds.), Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, pp 220-242
- Queller D.C. and Strassmann J.E. 1988. Reproductive success and group nesting in the paper wasp *Polistes annularis*. In: *Reproductive Success: Studies of Individual Variation in Contrasting Breeding Systems.* (Clutton-Brock T.H., Ed.), University of Chicago Press, Chicago, Illinois, pp 76-96
- Reeve H.K. 1991. *Polistes*. In: *The Social Biology of Wasps* (Ross K.G. and Matthews R.W., Eds.), Cornell University Press, Ithaca, New

York, pp 99–148

Reeve H.K. and Gamboa G.J. 1983. Colony activity integration in primitively eusocial wasps: the role of the queen (*Polistes fuscatus*, Hymenoptera: Vespidae). *Behav. Ecol. Sociobiol.* **13**: 63–74

Reeve H.K. and Gamboa G.J. 1987. Queen regulation of worker foraging in paper wasps: a social feedback control system (*Polistes fuscatus*, Hymenoptera: Vespidae). *Behaviour* **102**: 147–167

Rice W.R. 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* **43**: 223–225

西郷 隆治 2010. フタモンアシナガバチのワーカー産卵に関する分子遺伝学的研究. 岐阜大学大学院連合農学研究科博士論文

佐山 勝彦 2007. コアシナガバチのコロニーおよび個体の成長、生存、生産性に関する生態学的研究. 北海道大学大学院農学研究科博士論文

Sayama K. and Takahashi J. 2005. Mating structure and genetic relatedness among gynes in the primitively eusocial wasp *Polistes snelleni* (Hymenoptera: Vespidae). *Entomol. Sci.* **8**: 27–31

Singer T.L. 1998. Roles of hydrocarbons in the recognition systems of

insects. *Amer. Zool.* **38**: 394-405

Sledge M.F., Boscaro F. and Turillazzi S. 2001. Cuticular hydrocarbons and reproductive status in the social wasp *Polistes dominulus*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **49**: 401-409

Stouthamer R., Luck RR. and Werren JH. 1992. Genetics of sex determination and the improvement of biological control using parasitoids. *Environ Entomol.* **21**: 427-435

Strassmann J.E. 1981. Evolutionary implications of early male and satellite nest production in *Polistes exclamans* colony cycles. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **8**: 55-64

Strassmann J.E. and Meyer D.C. 1983. Gerontocracy in the social wasp, *Polistes exclamans*. *Anim. Behav.* **31**: 431-438

Strassmann J.E., Fortunato A., Cervo R., Turillazzi S., Damon J.M. and Queller D.C. 2004. The cost of queen loss in the social wasp *Polistes dominulus* (Hymenoptera: Vespidae). *J. Kansas Entomol. Soc.* **77**: 343-355

Sumana A., Deshpande S.A., Bhadra A. and Gadagkar R. 2008. Workers of the primitively eusocial wasp *Ropalidia marginata* do not perceive their queen across a wire mesh partition. *J. Ethol.* **26**: 207-212

巢瀬 司 1995a. コアシナガバチの生態 [1]. *インセクトリウム*. **32**:
212-217

巢瀬 司 1995b. コアシナガバチの生態 [2]. *インセクトリウム*. **32**:
256-264

Suzuki T. 1981. Flesh intake and production of offspring in colonies of
Polistes chinensis antennalis (Hymenoptera, Vespidae). II Flesh
intake and production of reproductive. *Kontyû* **49**: 283-301

Suzuki T. 1985. Mating and laying of female-producing eggs by
orphaned workers of a paper wasp, *Polistes snelleni* (Hymenoptera:
Vespidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* **78**: 736-739

Suzuki T. 1986. Production schedules of males and reproductive
females, investment sex ratios, and worker-queen conflict in paper
wasps. *The American Naturalist*. **128**: 366-378

Suzuki T. 1987. Egg-producers in the colonies of a Polistine wasp,
Polistes snelleni (Hymenoptera: Vespidae), in central Japan. *Ecol.*
Res. **2**: 185-189

Suzuki T. 1997. Worker mating in queen-right colonies of a temperate
paper wasp. *Naturwissenschaften* **84**: 304-305

- Suzuki T. 1998. Paradox of worker reproduction and worker mating in temperate paper wasp, *Polistes chinensis* and *P. snelleni* (Hymenoptera Vespidae). *Ethol. Ecol. Evol.* **10**: 347–359
- Takahashi J. and Yamasaki K. 2007. Isolation and characterization of 10 microsatellite loci in the paper wasp *Polistes rothneyi* (Hymenoptera; Vespidae). *Mol Ecol Notes.* **7**: 821-823
- Takahashi J., Ayabe T., Mitsuhata M., Shimizu I. and Ono M. 2008. Diploid male production in a rare and locally distributed bumblebee, *Bombus florilegus* (Hymenoptera, Apidae). *Insect Soc.* **55**: 43-50
- Tibbetts E.A. and Reeve H.K. 2003. Benefits of foundress associations in the paper wasp *Polistes dominulus*: increased productivity and survival, but no assurance of fitness returns. *Behav. Ecol.* **14**: 510–514
- Toth A.L., Varala K., Newman T.C., Miguez F.E., Hutchison S.K., Willoughby D.A., Simons J.F., Egholm M., Hunt J.H., Hudson M.E. and Robinson G.E. 2007. Wasp gene expression supports an evolutionary link between maternal behavior and eusociality. *Science* **318**:441-444
- Tsuchida K., Nagata N. and Kojima J. 2002. Diploid males and sex

- determination in a paper wasp, *Polistes chinensis antennalis* (Hymenoptera, Vespidae). *Insect Soc.* **49**: 120-124
- Tsuchida K., Saigo T., Nagata N., Tsujita S., Takeuchi K. and Miyano S. 2003. Queen-worker conflicts over male production and sex allocation in a primitively eusocial wasp. *Evolution* **57**: 2365-2373
- Tsuchida K., Saigo T., Tsujita S. and Takeuchi K. 2004. Early male production is not linked to a reproductive strategy in the Japanese paper wasp, *Polistes chinensis antennalis* (Hymenoptera: Vespidae). *J Ethol.* **22**: 119-121
- Turillazzi S., Sledge M.F., Dapporto L., Landi M., Fanelli D., Foundelli L., Zanetti P. and Dani R. 2004. Epicuticular lipids and fertility in primitively social wasps (Hymenoptera Stenogastrinae). *Physiol. Entomol.* **29**: 464-471
- Walsh P.S., Metzger D.A. and Higuchi R. 1991. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques.* **10**: 506-513
- West-Eberhard M.J. 1969. The social biology of Polistine wasps. *Misc. Publ. Mus. Zool., Univ. Michigan* **140**: 1-101
- Wilson E.O. 1971. *The Insect Societies*. Harvard University Press,

Cambridge, Massachusetts, 548 pp

山根 爽一 1986. 日本の昆虫 3 フタモンアシナガバチ. 文一総合出版

山崎 和久 2005. キアシナガバチ (*Polistes rothneyi iwatai* van der Vecht) における early male の存在とその交尾能力の確認. 玉川大学農学部生物資源学科卒業論文

Yoshikawa K. 1955. A polistine colony usurped by a foreign queen. Ecological studies of *Polistes* wasps, II. *Insectes Sociaux*. 2: 255-260

van Zweden J.S. and d'Ettorre P. 2010. Nestmate recognition in social insects and the role of hydrocarbons. In: *Insect Hydrocarbons. Biology, Biochemistry, and Chemical Ecology*. (Blomquist G.J. and Bagnères A.-G., Eds.), Cambridge University of Press, Cambridge, pp222-243