

博士論文

セグロアシナガバチにおけるカースト決定と女王権維持の機構

(Mechanisms for caste-fate determination and
maintenance of the queen's status in the paper wasp

Polistes jokahamae (Hymenoptera: Vespidae))

平成 31 年 3 月

三重大学大学院生物資源学研究科

吉村 英翔

目次

第 1 章 序論	1
第 2 章 実験対象昆虫	5
第 3 章 カースト決定機構	6
第 3.1 節 羽化時のカースト決定に関連した偏り	7
3.1.1 はじめに	7
3.1.2 材料と方法	9
3.1.3 結果	12
3.1.4 考察	17
第 3.2 節 野外における越冬個体の生理状態の変化	21
3.2.1 はじめに	21
3.2.2 材料と方法	22
3.2.3 結果	24
3.2.4 考察	32
第 3.3 節 日長がカースト決定に及ぼす影響：温度と日長が制御された室内 で未成熟期を過ごした個体の場合	34
3.3.1 はじめに	34

3.3.2	材料と方法	36
3.3.3	結果	39
3.3.4	考察	47
第 3.4 節	日長がカースト決定に及ぼす影響：未成熟期を野外で過ごした個体の場合	50
3.4.1	はじめに	50
3.4.2	材料と方法	51
3.4.3	結果	54
3.4.4	考察	63
第 4 章	女王位維持の機構	69
4.1	はじめに	69
4.2	材料と方法	72
4.3	結果	77
4.3.1	コロニーの特徴	77
4.3.2	産卵	78
4.3.3	優劣順位	78
4.3.4	腹部横振動、腹部擦り付け、羽ばたき突進	84

4.4 考察	87
第 5 章 総合考察	91
第 6 章 摘要 (SUMMARY)	95
謝辞	102
引用文献	103

第 1 章 序論

昆虫を含む動物において、集団で生活し社会性をもった種がしばしば見られる(Wilson 1975)。社会性の程度はさまざまで、一緒に生活し、集団をつくっているだけの場合(例えば共同巢性)、母親による仔の保護がある場合(亜社会性)、非繁殖個体つまりワーカーが存在する場合などさまざまである。集団が「世代の重複」、「共同育仔」、「ワーカーの存在」の特性を合わせ持つ場合、その社会性を真社会性(eusociality)と呼ぶ(Michener 1969; Wilson 1971)。特に、ワーカーの存在は真社会性の重要な特徴である。真社会性は、カースト間の形態的な差と繁殖に関する分業の度合いに応じてさらに高次真社会性(advanced eusociality)と原始真社会性(primitively eusociality)の 2 つのグループに分けられる。高次真社会性では、女王とワーカー間の形態的違いが明瞭で、ワーカーは女王になることが生理的に不可能である。一方、原始真社会性では、女王とワーカー間の形態的違いが欠如もしくはわずかしき見られず、ワーカーも状況によって繁殖でき、女王と同等の繁殖能力を持つ(Wilson 1971; Michener 1974; Jeanne 2003)。真社会性昆虫は、膜翅目、等翅目、半翅目、総翅目、甲虫目の多岐にわたる分類群から報告されている(松浦 2014)。特に、膜翅目は非社会性である単独性から高次真社会性に至る多様な社会構造を持つ種で構成される。膜翅目において、マルハナバチとアシナガバチでみられる原始真社会性は真社会性の初期の状態を表していると考えられ、原始真社会性グループにおけるカースト決定機構と女王位の維持機構を明らかにすることは、真社会性の進化の解明につながる(Hunt 2012; Judd et al. 2015)。特に、アシナガバチは、それが属するスズメバチ科の中に単独性、原始真社会性種、高次真社会性種を含み、その解明に適した昆虫である。

カースト決定機構は高次真社会性種を中心に研究されており、幼虫期のエサ量もしくはエサ質、さらに、フェロモンによって未成熟期にカーストが決定している(Wheeler 1986; Hartfelder and Emlen 2012)。ミツバチでは、カースト

間の体サイズの違いが幼虫期のエサ(ロイヤルゼリー)によって引き起こされる(Wheeler 1986; Page and Peng 2001)。近年、ロイヤルゼリーに含まれる、ロイヤラクチンが女王物質であることが分かった(Kamakura 2011)。さらに、一部のアリやハナバチでは遺伝的な要因もカースト決定に影響していることが知られている(Smith et al. 2008; Hartfelder and Emlen 2012)。一方、温帯性の原始真社会性アシナガバチにおいて、現在、最も支持されているカースト決定仮説は、「未成熟期のエサ量と振動などの刺激によって形態的(体サイズ)・生理的(羽化時の脂質蓄積量)な偏りが生じ、成虫期の社会的要因(例えば、コロニーサイズと女王の存在)・環境要因(例えば、日長と温度)によって最終的に決定する」である(Bohm 1972; Solís and Strassmann 1990; O'Donnell 1998; Reeve et al. 1998; Hunt 2006; Hunt et al. 2007; Tibbetts 2007; Jeanne and Suryanarayanan 2011; Berens et al. 2015; Judd et al. 2015; Jandt et al. 2017; Judd 2018)。ただし、アシナガバチではロイヤルゼリーのような特別なエサ給餌は報告されていない。一方、コロニーサイズと女王の存在は、羽化後のカースト決定に用いられる手がかりである。小さいコロニーや女王の消失は、コロニーからの早期離巢を誘発する。また、Bohm (1972)は、*Polistes metricus* において、成虫期日長がカースト決定に影響することを示唆した。しかし、羽化時期によってその影響の仕方が異なることから、未成熟期の何らかの手がかりが成虫期の卵巣発育に影響している可能性を示した。Bohm (1972)が示唆した日長は、温帯の非社会性昆虫の季節適応にとって重要な手がかりである(Tauber et al. 1986; 沼田 2004)ため、アシナガバチの休眠に対する日長の影響をより深く調べる価値はある。しかし、Bohm (1972)以降、日長がアシナガバチのカースト決定に及ぼす影響について調べた研究はない。

真社会性膜翅目のコロニー内では、女王とワーカー間に繁殖を巡る利害関係(特にオス生産を巡る対立)が存在する。これは、半数倍数性の性決定様式によって引き起こされる。女王が一回交尾の場合、ワーカーと女王が産出したメス個体(姉妹)との間の血縁度は $3/4$ であり、ワーカーと自身が産出したメス個体

(娘)との血縁度は $1/2$ である。女王に十分な産卵能力があるとき、ワーカーはより血縁度の高い姉妹の世話をを行う方が適応度上有利となる。しかし、オス生産に着目すると、ワーカーと自身が産出したオス個体(息子)との血縁度は $1/2$ であるが、女王が産出したオス個体との血縁度は $1/4$ となる。そのため、女王の産卵能力が低い時は女王によるオス生産を助けるより、自身でオス生産をする方が適応度を容易に高めることができる。

高次真社会性種において、この対立は女王が生産する化学シグナルによって完全に解消されている(Wyatt 2014)。ミツバチの女王は女王フェロモンによってワーカーの卵巣発育を抑制する(see Winston 1992; Leonhardt et al. 2016)。さらに興味深いことは、系統発生上、遠縁にあたる等翅目においても、二次女王(女王によって産出されたクローンのメスの繁殖個体)からの化学物質によって繁殖制御が行われている(Matsuura et al. 2010; Yamamoto and Matsuura 2011)。一方、原始真社会性種において、産卵個体による繁殖独占、もしくは優先性(以降、繁殖的優劣順位)は物理的な攻撃行動を基にした順位性(以降、社会的優劣順位)によって決定すると考えられている(van Doorn and Heringa 1986; Monnin and Peeters 1999; Jandt et al. 2014)。通常、女王は社会的優劣順位の最優位個体であり(Pardi 1948; Strassmann and Meyer 1983; Reeve 1991; Ishikawa et al. 2011)、優位個体ほどより多くの優位行動を示す(Reeve 1991; Monnin and Peeters 1999)。しかし、この社会的優劣順位と繁殖的優劣順位との関係性の例外がナンヨウチビアシナガバチ *Ropalidia marginata* とヤマトアシナガバチ *Polistes japonicus* から報告された。これら 2 種において、女王はおとなしく、社会的優劣順位の最優位でないにもかかわらず、産卵を独占している(Chandrashekara and Gadagkar 1991; Sumana and Gadagkar 2003; Ishikawa et al. 2011)。*R. marginata* において、女王は“腹部擦り付け行動(abdominal rubbing)”を行い、高次真社会性で知られてるような化学シグナルを巣盤に塗り、繁殖地位を維持していると考えられる(Mitra 2014)。また、*P. japonicus* の女王も、腹部擦り付け行動と似た“尻振り行動(abdominal

wagging)”を行う(Ishikawa et al. 2011)ので、化学的シグナルを用いた繁殖地位維持機構を持つかもしれない。

しかし、社会的優劣順位と繁殖的優劣順位との関係性について調べた研究は、アシナガバチ亜科 943 種(Arévalo et al. 2004)のうち 22 種のみである(Litte 1977, 1981; West-Eberhard 1978; Strassmann and Meyer 1983; Yamane 1985; Miyano 1986; Gadagkar 1987; Iwahashi 1989; O'Donnell and Jeanne 1995; Tsuji and Tsuji 2005; Tsuchida and Suzuki 2006; Ishikawa et al. 2010, 2011)。さらに、これらのほとんどは多雌創設コロニーの創設女王間もしくは、女王が消失後のワーカー間の繁殖優劣順位と社会的優劣順位の関係について調べている。そのため、女王とワーカー間のオス生産を巡る対立をどのように解消するのかを明らかにするために、ワーカー羽化後のコロニー内で産卵権の維持機構を調べることが求められる。

本研究の目的は、温帯性の原始真社会性アシナガバチの一種、セグロアシナガバチ *Polistes jokahamae* を用いて、カースト決定と女王位維持の機構を解明することである。特に、カースト決定時における日長の影響と女王位維持における社会的優劣順位の役割について焦点を当てた。まず、未成熟期のカースト決定に関係する形態的、生理的な偏りの存在を検証し(第 3.1 節)、それらが越冬成功に障害となるかを調べた(第 3.2 節)。次に、日長がカースト決定に及ぼす影響を調べるために 2 つの実験を行った(第 3.3, 3.4 節)。これら 2 つの実験を通して、未成熟期日長と成虫期日長の重要性について評価した。最後に、女王位維持機構を解明するために、野外コロニーの行動観察を行った(第 4 章)。その結果、優劣順位は女王位維持機構に関与していないことが示唆されたので、シグナルによる維持機構の可能性を調べた。これらの解析を通して、真社会性進化の起源に迫る。

第 2 章 実験対象昆虫

本研究の対象種は、セグロアシナガバチ *P. jokahamae* (nee *P. jadwigae*) Radoszkowski 1887 (Hymenoptera: Vespidae)である。本種は北海道を除く日本列島及び南西諸島に広く分布し、韓国、中国、台湾、インド、仏領ポリネシア(ソシエテ諸島: ボラボラ島, トゥアモトゥ諸島: ナプカ島)に分布している(Carpenter 1996)。営巣形態は独立営巣であり、毎春に通常 1 頭の創設女王によってコロニー活動が開始(単雌創設)される(Kasuya 1981)。東海地方において、越冬女王は 3 月下旬から行動活性が高まり、4 月中旬から 5 月下旬にかけて単独で営巣を行う。第 1 ワーカーは 5 月下旬から 6 月にかけて羽化し、それに続いて、8 月上旬から繁殖個体(オスと新女王)が羽化する。繁殖個体は 10 月下旬に交尾を行い、新女王のみが越冬に入る。

第 3 章 カースト決定機構

温帯性アシナガバチにおいて、越冬特性はカーストを識別するよい指標となる。新女王(gyne; 厳密には新女王候補)は秋に交尾を行い、越冬し、翌春に創設女王として営巣を行う。そのため、これらの個体は越冬前に卵巣を発達させず、脂質を多く蓄積する(Toth et al. 2009)。一方、非繁殖カーストであるワーカー(worker)は、越冬せず、羽化した年の冬までに死亡する。そのため、これらの個体は越冬のための多くの脂質を蓄積しない(Eickwort 1969; Strassmann et al. 1984; Toth et al. 2009)。また、ワーカーになる個体は、羽化後単独飼育すると、卵巣成熟を促進させオス卵(一倍体)を産出する(Haggard and Gamboa 1980; Toth et al. 2009)。本章では、これらの生理特性を基に、アシナガバチのカースト決定機構の解明を試みた。

まず、カースト決定機構を解明するために、未成熟期のカースト決定に関連する偏りの存在と日長が最終的なカースト決定に及ぼす影響について 4 つの実験(第 1~4 節)を行った。第 1 節では、未成熟期のカースト決定に関連した形態的、生理的な偏りの存在について検証した。その結果、初期に羽化した個体は、形態的・生理的にワーカーになる傾向を持って羽化することが明らかになった。そこで、第 2 節では、越冬個体の脂質蓄積量を測定することによって、未成熟期にかけられた偏りが越冬に障害となる可能性を調べた。次に、第 3 節と第 4 節にかけて、日長がカースト決定に及ぼす影響について調べた。第 3 節では、日長と温度が完全に制御された室内環境下で未成熟期をすごした個体について、日長の影響を調べた。本研究から、日長に反応する発育ステージを明らかにする。第 4 節では、野外の日長と温度を未成熟期に経験した個体について、成虫期日長の影響を調べた。本研究から、未成熟期に経験する日長の緩やかな変化の重要性について検証する。

第 3.1 節 羽化時のカースト決定に関連した偏り

3.1.1 はじめに

温帯性のアシナガバチにおいて、成虫期のカースト決定に偏りを生じさせる要因として、未成熟期のエサ量もしくは質と振動を通じた刺激が報告されている (O'Donnell 1998; Hunt 2006; Hunt et al. 2007; Jeanne and Suryanarayanan 2011; Jandt et al. 2017)。幼虫期の少ないエサ量は小さい体サイズを導き、ワーカー型の個体を生じさせる (Karsai and Hunt 2002)。また、幼虫時のエサ給餌が肉物質(タンパク質)よりハチミツ(炭水化物)に偏ると、羽化時の脂質蓄積量が増加し、新女王型の個体を生じさせることが示唆された (Rossi and Hunt 1988; Judd et al. 2010)。加えて、女王の触角による振動(触角ドラミング: antennal drumming)が未成熟個体のカースト決定に影響を与えることも発見された (O'Donnell 1998; Jeanne and Suryanarayanan 2011)。この行動は、育房に頭部を入れ、触角を育房内壁に叩きつけることによって振動を発生させる。また、*Polistes fuscatus* 女王による触角ドラミングは、女王単独営巣期間から始められることから、女王と未成熟個体間の振動コミュニケーションとして用いられている可能性が示唆された (Suryanarayanan et al. 2011a)。さらに、人工的に再現したドラミングに曝された未成熟個体は、羽化時の脂質蓄積量が減少したワーカー型の特性をもつことから、カースト決定機構に影響している可能性が示唆された (Suryanarayanan et al. 2011b)。しかし、成虫からの触角ドラミングが、シグナルとして未成熟個体自身が生理状態を変化させているのか、もしくはストレス(抑制要因)として未成熟個体の生理状態に直接影響しているのかは、議論の余地がある。

栄養と振動を介した形態的・生理的な偏りは、コロニー発達段階初期に羽化するメス個体(第 1 ブルード)に対して強くかけられていると思われる (Jeanne and Suryanarayanan 2011; Judd 2018)。温帯性アシナガバチはコロニーサイ

クルの特性上、3つのブルードに分けられる。第1ブルードは創設女王によって未成熟期に世話を受け、一般的に体サイズが小さく、通常ワーカーとなる(Reeve 1991; Tsuchida 1991; Toth et al. 2009; Hunt 2012)。一方、オス羽化と同時もしくはそれ以降に羽化したメス個体(以降第3ブルードと呼ぶ)は新女王になると考えられている(Suzuki 1986; Toth et al. 2009)。第1ブルードと第3ブルードの間に羽化したメス個体(以降、第2ブルードと呼ぶ)は、創設女王とワーカーの両方から世話を受けた個体である。これらの個体が、ワーカーもしくは新女王になるかは種間で異なることが示唆されている(Suzuki 1986)が、多くはワーカーになると考えられてきた。本研究対象種であるセグロアシナガバチの第2ブルード個体は、ワーカーを運命づけられた個体と考えられてきた(Suzuki 1986)。しかし、野外において、これらの個体の一部は外役活動に従事する一方、残りの個体は第3ブルード同様に巣上に留まり、コロニー活動に参加しない。加えて、吉村と藪田(未発表)は、2例ではあるが、第2ブルード個体が越冬したものを翌春に再捕獲した。

第1ブルードには未成熟期のエサ量と振動などによる形態的・生理的な偏りがかかっていると考えられる。この偏りの存在を証明するためには、羽化時点での形態的・生理的違いをブルード間で調べる必要があるが、これまで行われてこなかった。Judd et al. (2010)は、繁殖カーストの未成熟期の脂質蓄積量が非繁殖カーストより高いことを示したが、羽化成虫については調べていない。本節では、セグロアシナガバチ羽化直後個体の体サイズ、生体重、脂質蓄積量のブルード間差を調べることで、未成熟期の偏りの存在について明らかにする。生体重と脂質蓄積量は体サイズによる影響を除くために、頭幅から計算される単位体積によって補正された。さらに、第1ブルードにおいて、形態的、生理的特性が羽化順と正の相関があるかを調べた。多くのアシナガバチにおいて、体長と体重は羽化順に伴い増加する傾向にある(Reeve 1991; Keeping 2002)ので、これを確かめるためである。

3.1.2 材料と方法

2014年と2016年に三重県津市、鈴鹿市および愛知県扶桑町より計42コロニーを採集した(Table 1)。コロニー採集後に成虫を取除き、個別にプラスチックカップ(直径129 mm×高さ60 mm)内で維持した。このとき、野外と同じ日長条件を室内で再現し、窓を開放することによって野外と同じ温度に置いた。巣は以下の3グループに分類された。

1. 単独営巣期コロニー: 第1ワーカーが羽化する前に採集されたコロニー。このグループからは第1ブルード個体が集められた。
2. 共同営巣期コロニー: 第1ワーカー羽化後から第1オス羽化前に採集されたコロニー。また、このグループは7月に採集された巣のみを用いた。この地域では、6月初旬に第1ブルード個体が羽化しはじめるため、7月に採集された時点で蛹の個体は、未成熟期に創設女王と第1ブルード個体の両方から世話を受けていると推測される。このグループからは第2ブルード個体と、少数であるが第3ブルード個体も集められた。
3. 繁殖成虫羽化期コロニー: 第1オス羽化後に採集されたコロニー。このグループからは第3ブルード個体が集められた。

そして、採集時点で蛹であった個体のみを実験に用いた。また、コロニーを毎日観察し、羽化成虫を採集した。加えて、第1ブルードについては羽化順の記録も行った。

2年間で、単独営巣期コロニーは23巣から145個体、共同営巣期コロニーは15巣から148個体(うち2巣から18個体の第3ブルード個体を採集した)、繁殖成虫羽化期コロニーは4巣から89個体を採集した(Table 1)。脂質蓄積量の測定は2014年に採集された個体についてのみ行った。2016年の個体は、別の実験(第3.4節)に用いるため、羽化直後の脂質蓄積量の測定を行わなかった。そのため、脂質蓄積量は、第1、第2、第3ブルードでそれぞれ81、72、25個体の分析を行った(Table 1)。採集された羽化個体は、頭幅と生体重がノギス(最

Table 1 Information about the samples

Nest ^a	Collection period and site			Sample size ^b
	Year	Date range	Site	
Pre-emergence	2014	May 31 to June 3	Tsu and Suzuka, Mie; Fuso, Aichi	81 (11)
	2016	May 23 to May 30	Tsu, Mie	64 (12)
Postemergence	2014	July 9 to July 15	Tsu, Mie; Fuso, Aichi	72 (7) ^c , 4(2) ^d
	2016	July 2 to July 24	Tsu, Mie	58 (8) ^c , 14(3) ^d
Postmale	2014	August 14	Tsu, Mie	21 (1)
	2016	August 10 to August 18	Tsu, Mie	68 (3)

^a Pre-emergence and postmale nests produced first- and third-brood adults, respectively. Many postemergence nests produced only second-brood adults, whereas some produced both second- and third-brood adults (the specific numbers are given in the column listing sample sizes)

^b Numbers in parentheses are the numbers of nests

^c Second-brood adults

^d Third-brood adults

小測定単位 0.01mm)と電子天秤(最小測定単位 0.0001g)をそれぞれ用いて測定された。その後、2014年に採集された個体は脂質蓄積量を測定するために、-20°Cで冷凍保存された。膨腹部中の全脂質蓄積量がジエチルエーテルによって除去された(Tibbetts et al. 2011)。脂質蓄積量は、脂質除去前後の乾燥重量の差から求められた。生体重と脂質蓄積量は、体サイズによる影響を除くために頭幅から計算される単位体積で補正された。補正された値を以降それぞれIF(太り指標: index of fatness)とIRL(相対脂質蓄積量: index of relative lipid stores)と呼ぶ。

第1、第2、第3ブルード間の頭幅、生体重、IF、脂質蓄積量、IRLが一般化線形混合モデルを用いて解析された。ブルードを固定要因として、そしてコロニーをランダム要因として解析した。各反応変数に対してブルードが有意に影響するとき、ホルムの連続ボンフェローニ多重比較検定(Holm 1979; Rice 1989)を用いて、どのペア間に有意な差が検出されるのかを明らかにした。また、IRLとIFとの関係は、IFとブルードを固定要因として、コロニーをランダム要因として組み込まれた一般化線形混合モデルで解析された。IRLとIFとの間の交互作用が有意に影響(結果参照)したため、ブルード間の比較はIF値が2.7、3.0、3.3について行った。この解析では、NCSS(version 11, NCSS Statistical Software, Kaysville, UT, USA)が用いられた。加えて、脂質蓄積量、IRL、IFと体サイズとの関係は、体サイズとブルードを固定要因として、コロニーをランダム要因として組み込まれた一般化線形混合モデルで解析された。脂質蓄積量に対する体サイズの影響を解析するときは、体サイズの指標として頭幅から計算される体積が用いられた。なぜなら、体長(頭幅)よりむしろ体積との直線的な関係性がより強いためである。AIC(Akaike's Information Criterion: 赤池情報量規準)によるモデルの適合性を見たところ、頭幅を用いたモデル(AIC = 640.7)より体積を用いたモデル(AIC = 638.3)が適していた。最後に、第1ブルードについて、羽化順と以下の変数、頭幅、生体重、IF、脂質蓄積量、IRLとの関係をそれぞれ一般化線形混合モデルを用いて解析した。上述

の解析同様に、コロニーはランダム要因として組み込まれた。同日に複数の個体が羽化した場合は、これらの個体に同じ羽化順(羽化順の平均)を割り当てた。全ての一般化線形混合モデルによる解析は、統計解析ソフトウェア R(version 3.4.3; R Foundation 2017)中の“lme4”と“lmerTest”パッケージを用いて行われた。また、多重比較検定は“multcomp”パッケージを用いて行った。

3.1.3 結果

頭幅($\chi^2_2 = 75.4, P < 0.001$)、生体重($\chi^2_2 = 75.7, P < 0.001$)、IF($\chi^2_2 = 22.9, P < 0.001$)、脂質蓄積量($\chi^2_2 = 41.6, P < 0.001$)、IRL($\chi^2_2 = 36.5, P < 0.001$)はブルードの影響を有意に受けており、全てのパラメータで第1ブルードが有意に小さく、軽く、低かった(Fig. 1; 連続ボンフェローニ多重比較検定, $P < 0.01$)。

IRLとIFとの関係性について、ブルードとIFとの交互作用がIRLに対して有意に影響した($\chi^2_2 = 6.6, P = 0.037$)。これはIFの影響がブルードによって異なることを示唆する。そのため、IFの影響を、ブルードごとに解析した。IFは第2ブルード($\chi^2_1 = 9.1, P = 0.003$)と第3ブルード($\chi^2_1 = 8.4, P = 0.004$)では有意に影響したが、第1ブルードでは有意に影響しなかった($\chi^2_1 = 0.0, P = 0.978$)。また、IF値が2.7、3.0、3.3の時のIRLのブルード間の違いを解析した。3つの全てのIF値において、第2と第3ブルードのIRLは、第1ブルードより有意に高かった(Fig. 2; 連続ボンフェローニ多重比較検定, $P < 0.001$)。しかし、第2と第3ブルード間では有意な違いは検出されなかった。

脂質蓄積量は体サイズと有意な正の相関を持ち、全てのブルードで同じ傾向であった(ブルードと体サイズとの交互作用は有意でなかった; Fig. 3; Table 2)。しかし、ブルードは有意に影響しており、第1ブルードは第2と第3ブルードより、同じ体サイズの個体を比べた時少ない脂質蓄積量を示した(連続ボンフェローニ多重比較検定, $P < 0.001$)。また、第2と第3ブルード間では有意な違いはみられなかった。

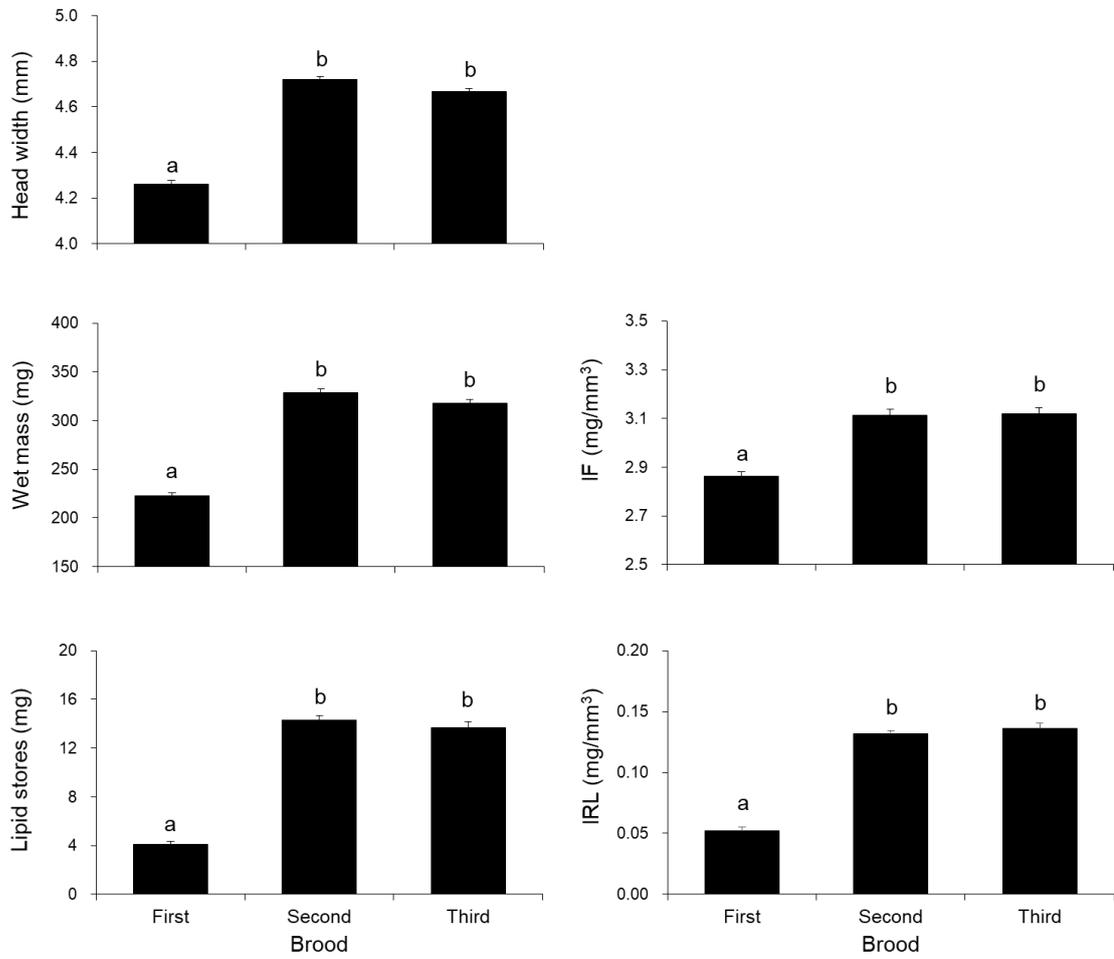


Fig. 1 Head width, wet mass, lipid stores, index of fatness (IF), and index of relative lipid stores (IRL) in the first, second, and third broods. Data are mean and SE values. Different letters above bars indicate significant differences in sequential Bonferroni multiple-comparison tests ($P < 0.01$).

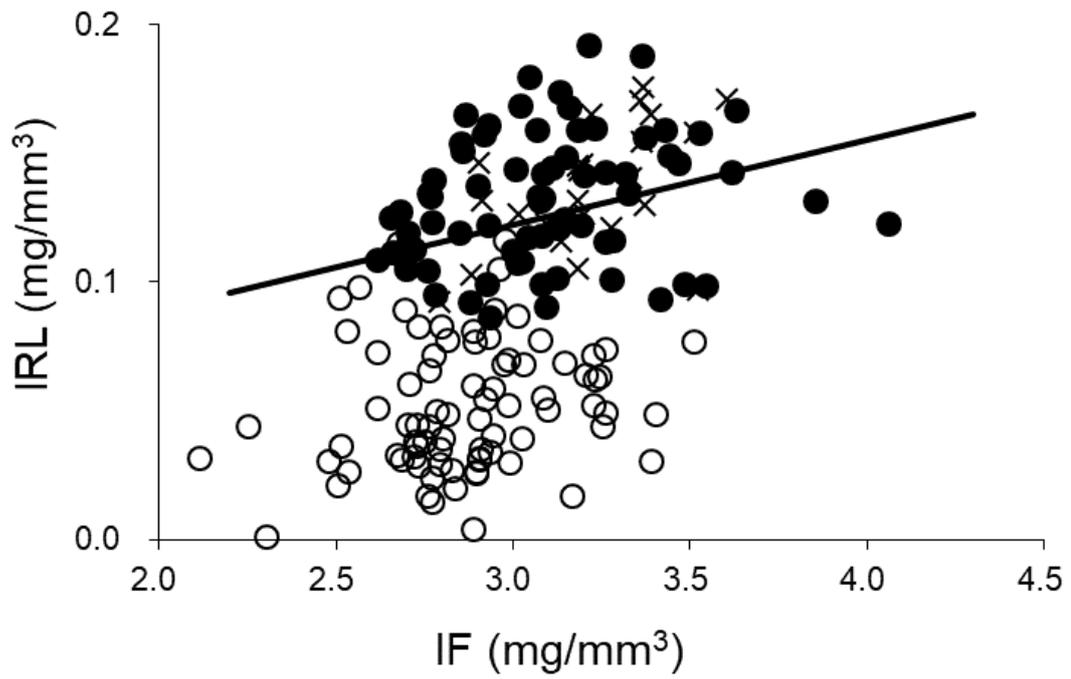


Fig. 2 Relationship between IRL and IF in different broods. A positive correlation was found in the second and third broods but not in the first brood. The line indicates the best-fit linear model for the second and third broods combined; no significant difference was detected between these two broods.

Table 2 Statistical results for the effects of head width and brood on lipid stores, index of fatness (IF), and index of relative lipid stores (IRL)

Response variable	Factors	χ^2	df	P^a
Lipid stores	Head width cubed	74.9	1	<0.001
	Brood	18.2	2	<0.001
	Interaction	1.3	2	0.517
IF	Head width	0.0	1	0.904
	Brood	4.9	2	0.087
	Interaction	2.6	2	0.271
IRL	Head width	20.2	1	<0.001
	Brood	2.9	2	<0.001
	Interaction	2.9	2	0.230

^a When the interaction was not significant, P values were calculated using a statistical model without the interaction

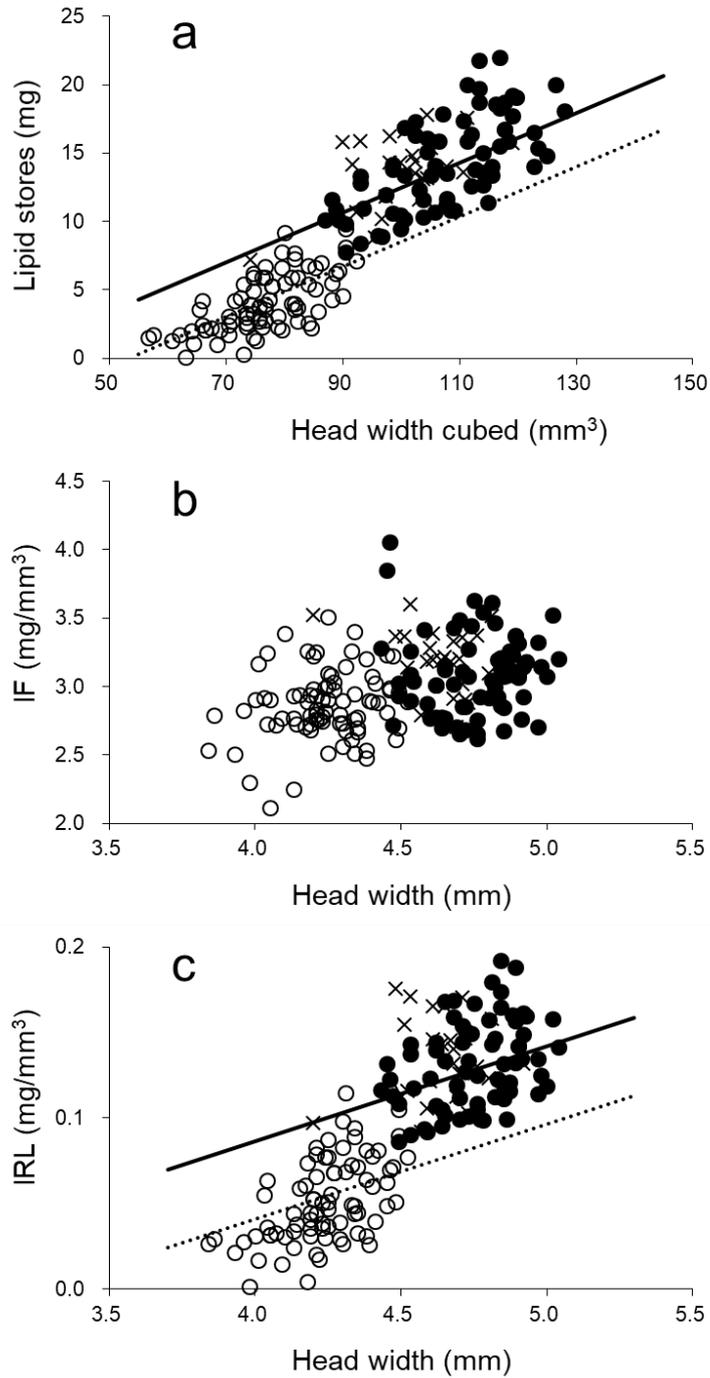


Fig. 3 Effect of head width on lipid stores (a), IF (b), and IRL (c). The broken and solid lines in panels a and c indicate the best-fit linear models for the first brood and for the second and third broods combined, respectively (see Table 2 for the statistical results). No significant difference was detected between the second and third broods. Regression lines are not drawn in panel b since head width had no significant effect.

IF はいずれのブルードでも体サイズと関係性がみられなかった (Fig. 3; Table 2)。一方、IRL は体サイズと正の相関をもち、全ブルードで同じ傾向であった (ブルードと体サイズとの交互作用が有意でなかった; Fig. 3; Table 2)。しかし、ブルードは有意に影響しており、第 1 ブルードは第 2 と第 3 ブルードより同一体サイズの個体を比べた時、低い IRL を示した (連続ボンフェローニ多重比較検定, $P < 0.001$)。また、第 2 と第 3 ブルード間では有意な違いはみられなかった。

第 1 ブルードは羽化順 1—11 位の個体を産出した。IF を除くパラメータが羽化順 5 位まで増加傾向にあり、その後は平坦となった。そのため、解析を羽化順 5 位までと 6 位以降に分けて行った。6 位以降はいずれのパラメータと羽化順との間に有意な関係は見られなかった。一方、5 位までの個体については、頭幅 ($t_{81.4} = 6.4$, $P < 0.001$)、生体重 ($t_{84.6} = 4.3$, $P < 0.001$)、脂質蓄積量 ($t_{40.8} = 3.1$, $P = 0.004$)、IRL ($t_{40.4} = 2.3$, $P = 0.026$) で正の有意な関係が見られた (Fig. 4)。しかし、IF ($t_{86.2} = 1.0$, $P = 0.324$) については有意な関係は見られなかった。

3.1.4 考察

第 1 ブルードは他のブルードより小さく、軽く、少ない脂質蓄積量を持って羽化した。脂質蓄積量は体サイズの影響を除いても、第 1 ブルードで低いレベルを示した。これは、非繁殖カーストへの偏りを持って羽化してきたことを示唆する。未成熟期に摂取したタンパク源と炭水化物源はそれぞれ体サイズと脂質蓄積量に影響する (Rossi and Hunt 1988; Karsai and Hunt 2002; Judd et al. 2010)。さらに、温帯性アシナガバチにおいて、第 1 ブルードが幼虫期には、創設女王のみが外役個体であり、成虫—幼虫比率が低い (West-Eberhard 1969; Haggard and Gamboa 1980; Gadagkar 1991; Reeve 1991; Jeanne and Suryanarayanan 2011) ため、タンパク質と炭水化物の両方が少なかったかもしれない。もしくは、成虫によって意識的に供給量が制限されたかもしれない。

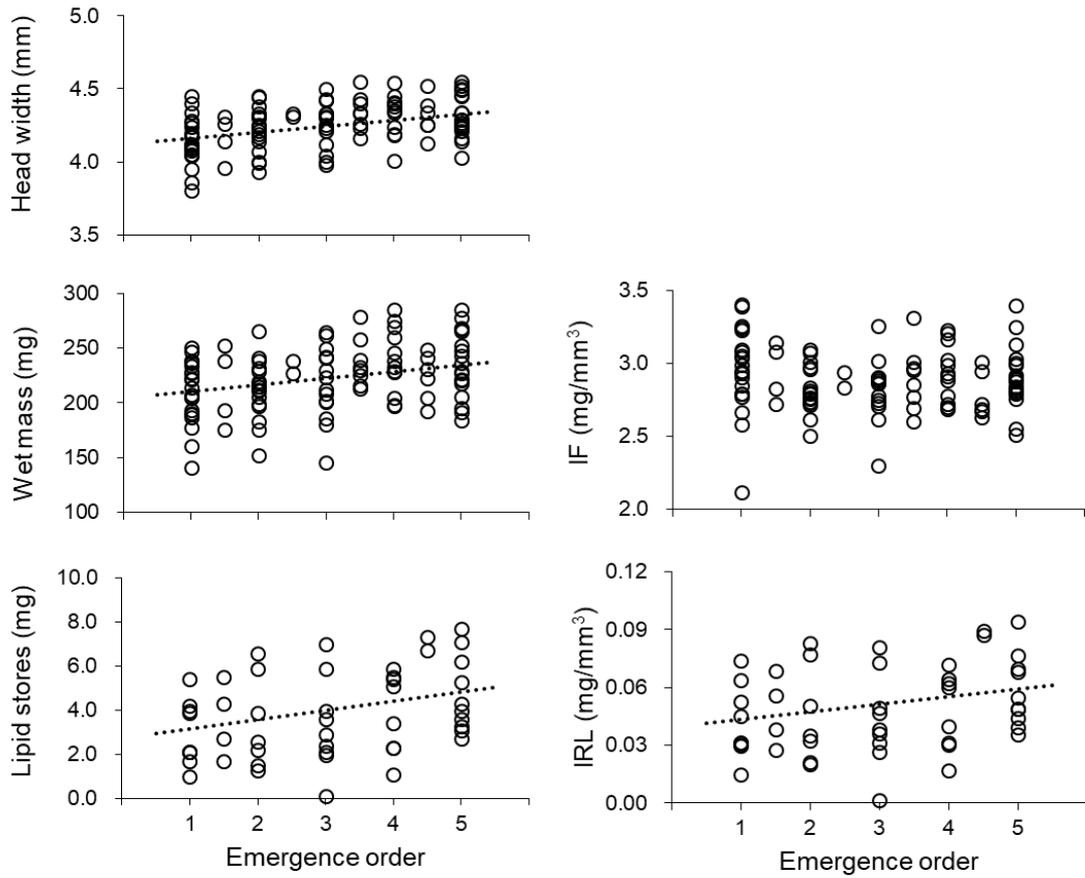


Fig. 4 Effect of emergence order on head width, wet mass, lipid stores, IF, and IRL in the first brood. The analysis was performed for the first-to-fifth emerging adults of the first brood. Four of the variables (the exception IF) increased with the emergence order. Lines indicate the best-fit linear models.

また、第 3.4 節でも述べられるように、第 1 ブルードは、環境要因(より低い温度と増加する日長の変化)を未成熟個体が感受し、自発的に発育を制御している可能性も残されている。さらに、Jeanne and Suryanarayanan (2011)と Jandt et al. (2017)は未成熟期の栄養状態に加え、触角ドラミングも複合的にカースト決定に関連した形質の偏りに影響することを明らかにした。*P. fuscatus* の第 1 ブルードは、未成熟期に女王が行う高頻度の触角ドラミングに曝されたとき、羽化時の脂質蓄積量を減少させる(Suryanarayanan et al. 2011a, b)。そのため、セグロアシナガバチにおいても振動刺激が脂質蓄積量に影響しているかもしれない。しかし、この振動がシグナルとして働き、未成熟個体自身が生理状態を変化させているのか、もしくは、ストレッサーとして働き、未成熟個体の意思とは関係なく直接的に生理状態を変化させているのかは、議論の余地がある。

面白いことに、体サイズと IRL の正の関係がブルード間で異なった。第 1 ブルードは他のブルードより体サイズの影響を除いても IRL が低かった。加えて、第 2、3 ブルードの IRL は IF の影響を受けたにもかかわらず、第 1 ブルードの IRL は IF の影響を受けなかった。これは、第 1 ブルードにおいて、IF が増大しても(それは、膨腹部が伸長することによってなされるであろう)IRL の増加につながらないことを意味する。これらの結果は、第 1 ブルードが脂質より他の構成成分(例えば、タンパク質)を相対的に保持して羽化した可能性を示唆する。*P. metricus* の未成熟期において、ワーカーになる個体は、新女王になる個体より高いタンパク質量を持つことが知られている(Judd et al. 2010)。

第 1 ブルード内でも羽化順が後半になるにつれてより大きく、より重く、より多くの脂質を蓄積して羽化する。体サイズと生体重に関する知見は Reeve (1991)と Keeping (2002)からも報告されている。しかし、IF は羽化順と有意な正の関係をもたず、生体重が羽化順に伴い増加するという現象は、体サイズの増加によって引き起こされていると考えられる。そして、IF が羽化順に伴い増加せず、IRL が羽化順に伴い増加することから、第 1 ブルード内で羽化順に伴

い体構成成分の相対的重量の変化(脂質が増え、他の物質が減る)が起こっていることを示唆する。

第 2 ブルードは第 3 ブルードと同じ形態的・生理的特性を持って羽化した。これは第 2 ブルードは第 1 ブルードで見られる非繁殖カーストへの偏りがかかっていないことを示唆する。この発見は、第 2 ブルードのある個体はワーカーに、他の個体は新女王になるという観察を説明することができる。そして、第 2 ブルードは成虫期の社会的要因と環境要因によってカースト決定が変化すると考えられる(Solis and Strassmann 1990; Tibbetts 2007; Judd 2018)。しかしながら、羽化時により多くの脂質を持つ第 2 ブルード個体のみがより繁殖カーストになりやすい可能性もあり、羽化時の脂質蓄積量の違いがその後のカースト決定にどの程度影響するのかを調べる必要がある。

第 3.2 節 野外における越冬個体の生理状態の変化

3.2.1 はじめに

序論で述べたように、温帯性アシナガバチの繁殖カーストは越冬成功のために、越冬前に多くの脂質を蓄える(Hunt and Amdam 2005; Toth et al. 2009; Hahn and Denlinger 2011)。越冬前の段階で、繁殖カーストは摂取したエネルギーを卵巣発育よりむしろ脂質蓄積の方へ分配する(Matsuura and Yamane 1990; Toth et al. 2009)。そして、繁殖カーストは越冬後に卵巣を発育させ、創設女王として営巣、産卵、第 1 ブルードの育仔を開始する。このような越冬中の生殖休眠は、オオスズメバチ *Vespa mandarinia* においても発見された(Makino 2016)。この種では、越冬休眠から覚醒し行動活性が高まった後に成熟卵を保有する。また、*P. metricus* の越冬女王は、羽化時から越冬前にかけて脂質蓄積量を増加させ、春にかけて大幅に減少させ、創設期に微増させる(Judd et al. 2010)。しかし、この研究では生体重あたりの脂質蓄積量を比較している。羽化後の生体重は消化管内に残された内容物によって大きく左右される可能性がある。そのため、羽化後に変化しない外部形態を用いて体サイズ補正されるべきであろう(第 3.1 節参照)。

セグロアシナガバチにおいて、ワーカーになりやすい第 1 ブルードは、新女王になりやすい第 3 ブルードより単位体積あたりの脂質(IRL)を 2 倍少ない状態で羽化する(第 3.1 節)。これは、第 1 ブルードがその他のブルードと比べて羽化後に越冬準備のための脂質をより多く蓄積しなければならないことを意味する。しかし、越冬成功のために必要な脂質蓄積量の知見はまだない。本節では、越冬前、中、後の脂質蓄積量の測定を通して、越冬に必要な脂質蓄積量を推定する。そして、この脂質蓄積量が体サイズによって異なるのかを、絶対量と相対量(IRL)の 2 つのパラメータを用いて検討する。もし絶対量が必要であれば、小さい個体は越冬に必要な脂質を蓄積することが困難であるかもしれな

い。また、越冬前から創設期までの卵巣発育状態の変化を追跡し、それに対する大きさの影響を調べる。大きい個体の成熟卵を持つ時期が早いようだと、小さい個体は創設が遅れて不利となる。同時に、生体重の測定を通して行動活性が高まる時期を推定する。冬期の生体重の増加はエサもしくは水分の摂取に大きく左右されると考えられる。そのため、生体重の増加は、個体の行動活性が高まり、それらを摂取した状況証拠となり得る。加えて、第 3.1 節において、羽化時の IRL は IF と正の相関が見られたので、越冬中あるいは越冬後の個体の IRL が IF によって推定できるのかも調べる。

3.2.2. 材料と方法

2014 年、2016 年、2018 年の 4 月から 6 月にかけて、それぞれ越冬後のメス成虫 37、10、7 個体を三重大学構内から採集した。また、2015 年と 2017 年には 11 月中旬から 12 月上旬にかけて、それぞれ 11、5 個体を越冬前個体として採集した。加えて、2016 年 3 月 8 日に越冬中の 3 個体を採集した。これらの個体は採集後に体サイズと生体重を測定し -20℃ で冷凍保存された。一方、2015 年には三重大学構内の 2 カ所からそれぞれ 18、14 個体の越冬前個体を採集した。2017 年には岐阜県各務原市より 4 個体の越冬前個体を採集した(藪田提供)。これらの個体はヤマトアシナガバチ *P. japonicus* と集団越冬を行っていた。

越冬期間中は、プラスチックケージ(縦 18 cm × 横 33 cm × 高さ 22 cm)内に水、ハチミツ原液、越冬場所としての段ボールが入れられた。ケージに入れられた個体は直射日光があたらない野外に置かれ維持された。2015 年に採集された個体は 3 週間ごとに 5、6 個体を脂質蓄積量の測定のためにサンプリングを行い -20℃ で保存した。2017 年に採集された個体は越冬前(11 月 17 日と 12 月 7 日に各 1 個体)と越冬後(4 月 10 日に 2 個体)に脂質蓄積量の測定のためにサンプリングし、-20℃ で保存した。これらの個体は脂質蓄積量測定のためのサンプリングまで、1 週間おきに生体重を測定した。全ての個体について卵巣発

育評価と脂質蓄積量の測定を行った。ただし、2014年の越冬後個体のうち11個体は卵巣解剖に失敗し、脂質蓄積量の結果のみを得た。

2017年から2018年に採集された個体のうち、越冬前7個体(11月17日の4個体と12月5日の3個体)と越冬後9個体について、卵巣解剖後にデジタルマイクロスコープ(VH5000, Keyence, Osaka, Japan)を用いて卵巣を撮影した。その後、輸卵管側末端に位置する卵母細胞の長径をソフトウェア Image J 1.50i(National institutes of Health, USA)を用いて、ピクセル単位で計測し、mmに変換した。

脂質蓄積量、IRLと体サイズとの関係は、体サイズと越冬前か後かを固定要因として、年をランダム要因として組み込まれた一般化線形混合モデルで解析された。また、越冬前と越冬後それぞれで、体サイズの影響が調べられた。加えて、卵巣発育(成熟卵を持つか、持たないか)に対する頭幅と越冬経過日数(11月17日を第0日目とした日数)の影響はロジスティック回帰分析を用いた。この解析で用いたデータは、3月8日から4月10日の間に採集された個体を用いた。年は卵巣発育に対する頭幅の傾きと切片をランダム要因としてモデルに組み込んだ。これらの解析にはR(version 3.4.3; R Foundation 2017)中の“lme4”を用いた。有意性は、対象とする要因を含むモデルと含まないモデルの2つのモデル間を、R内の“anova関数”を用いた尤度比検定で行った(Winter 2014)。交互作用が有意に影響しなければモデルから除き、最小最適モデルを得た。

IRLとIFの関係は、IFと越冬ステージ(越冬前、越冬中、越冬後)を固定要因として、年をランダム要因として組み込んだ一般化線形混合モデルを用いて調べられた。これらの解析は、NCSS(version 11, NCSS Statistical Software, Kaysville, UT, USA)を用いて行われた。以上の解析において、脂質蓄積量に対する体サイズの影響を調べる時には、頭幅から計算される単位体積を変数として用いた(第3.1節参照)。一方、IRLに対する体サイズの影響を調べる時には、頭幅を変数として用いた。

3.2.3. 結果

越冬前、越冬中は成熟した卵母細胞を持たなかった(Fig. 5)が、未成熟の卵母細胞(輸卵管側末端の卵母細胞長が 0.66 ± 0.03 mm [平均 \pm 標準誤差])を多く保有していた。また、成熟卵を保有する個体は、3月中旬から確認され始め、ほとんどの個体が4月上旬以降には成熟卵母を保有した(Fig. 5)。越冬後の成熟卵の大きさは 2.61 ± 0.08 mm(平均 \pm 標準誤差)であった。大きい個体が成熟卵を持ちやすいことはなかった(頭幅; $\chi_1^2 = 0.8$, $P = 0.361$, 越冬経過日数; $\chi_1^2 = 19.3$, $P < 0.001$, 交互作用; $\chi_1^2 = 0.6$, $P = 0.461$)。

体サイズとサンプリング時期(越冬前か越冬後か)との交互作用は、脂質蓄積量に対して有意に影響しなかった(Fig. 6, Table 3)。これは、脂質蓄積量に対する体サイズの影響の仕方が有意に異なることを意味するが、 P 値は0.1未満と低かった。そこで、越冬前と後の個別の解析を行うと、越冬前においては有意に近い頭幅の影響が検出された(Table 3)。一方、IRLにおいては、交互作用も大きさの影響も見られなかった。そのため、大きさに関わらず、越冬のため一定の脂質量が必要とあるとは考えられなかった。

越冬後脂質量も、体サイズに関係なく、 9.9 ± 0.8 mg (平均 \pm 標準誤差)まで減少した(Fig. 6)。越冬中は4月上旬まで直線的に脂質蓄積量とIRLが減少し、その後は低い値を維持した(Fig. 7)。一方、生体重の冬季の変化は脂質蓄積量の変化と類似したが、脂質蓄積量とは異なり3月上、中旬から増加し始めた(Fig. 8)。

IRLに対してIFと越冬ステージ間の交互作用は有意に影響し(Table 4)、3つの越冬ステージそれぞれで、IRLに対するIFの影響の仕方が異なった(連続ボンフェローニ多重比較検定, $P < 0.001$)。全越冬ステージにおいて、IFの増加に伴いIRLも増加した(Fig. 9)が、増加率(直線の傾き)は、越冬中が最大で、越冬後が最小であった。

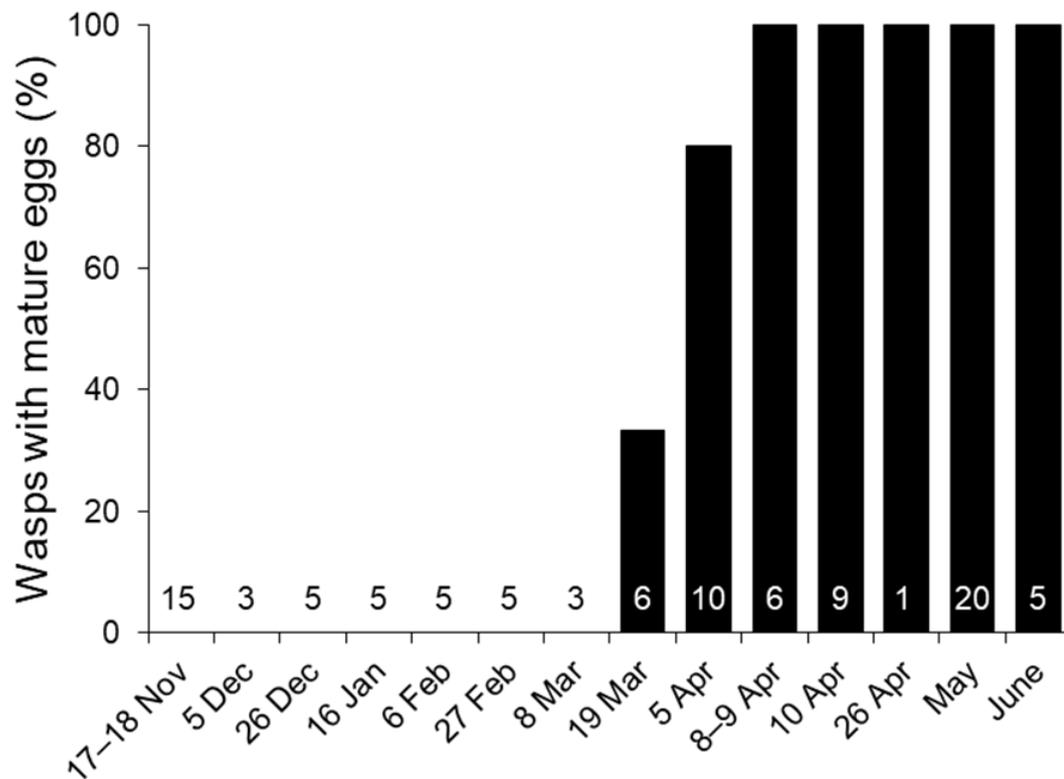


Fig. 5 Proportions of gynes or nest-founding queens with mature eggs. The numbers on x-axis indicate sample sizes.

Table 3 Statistical results for the effects of body size and overwintering stages on lipid stores (or IRL)

	Response	Factors	X^2	df	P
All	Lipid stores	Head width cubed	1.3	1	0.250
		Stage	90.0	1	<0.001
		Interaction	2.8	1	0.093
	IRL	Head width	1.0	1	0.321
		Stage	91.3	1	<0.001
		Interaction	0.7	1	0.415
Pre-overwintering ^a	Lipid stores	Head width cubed	3.4	1	0.064
Post-overwintering ^a	Lipid stores	Head width cubed	0.0	1	0.957

^a Since the interaction for the lipid stores was nearly significant, analysis of the lipid stores was separately conducted for pre- and post-overwintering.

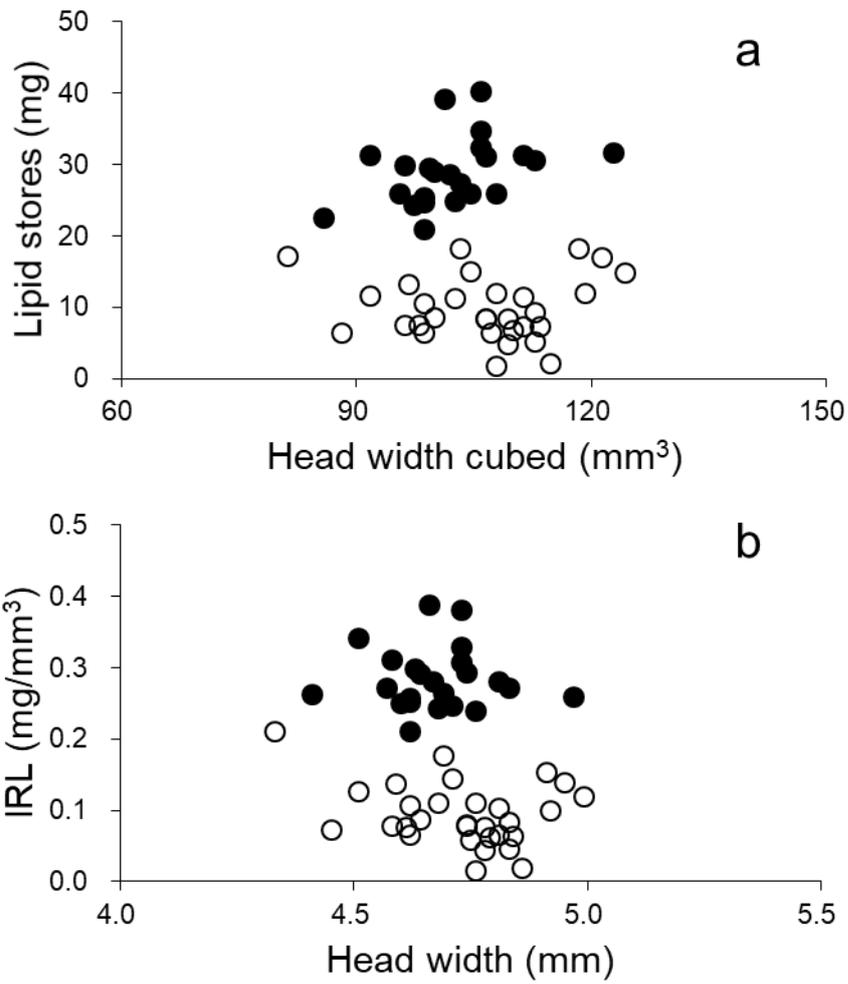


Fig. 6 Relationship between head width and lipid stores (a) or IRL (b). Solid and open circles indicate pre- and post-overwintering wasps, respectively. Wasps collected November to December were used for pre-overwintering. Wasps collected Early- and Mid-April were used for post-overwintering.

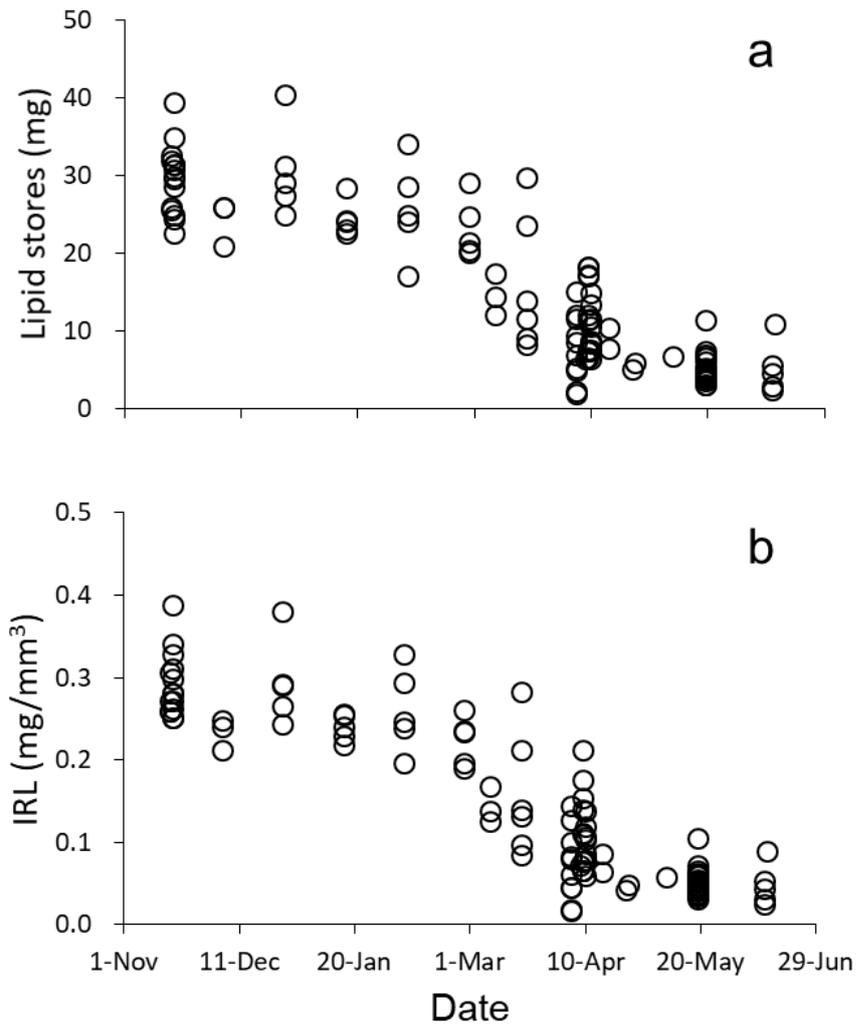


Fig. 7 Lipid stores (a) and IRL (b) in gynes and nest-founding queens.

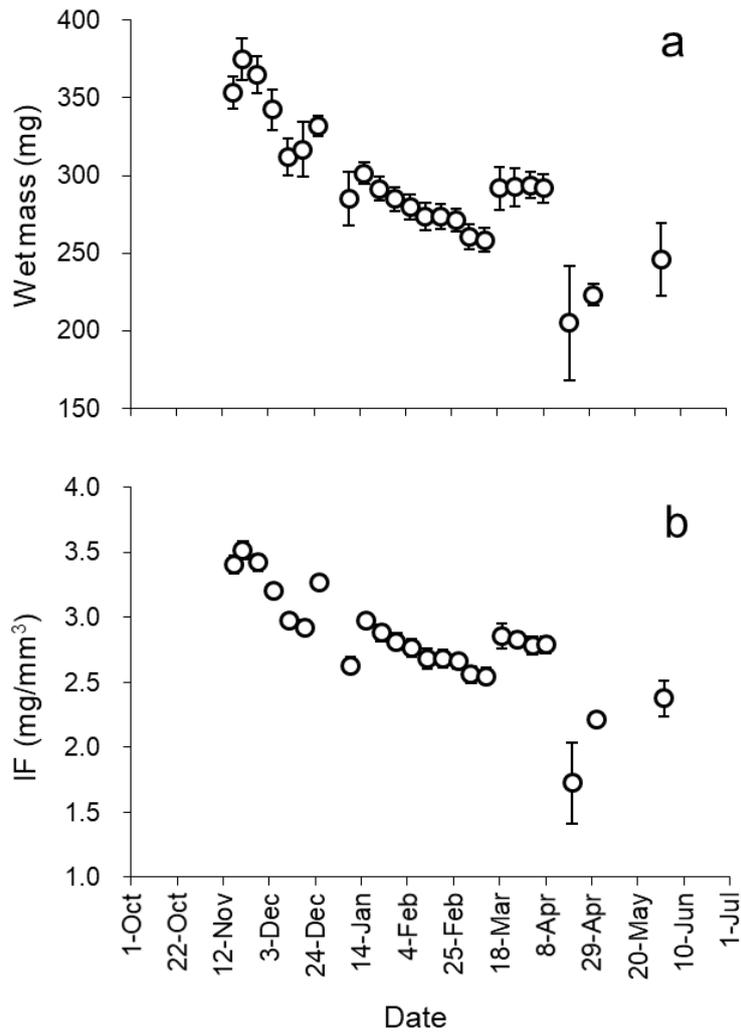


Fig. 8 Wet mass (**a**) and IF (**b**) in gynes and nest-founding queens. Data are mean and SE values.

Table 4 Statistical results for the effects of IF and overwintering stages on IRL

	Factors	<i>F</i>	df	<i>P</i>
All	IF	36.7	1, 102.4	<0.001
	Stage	2.2	2, 99.7	0.121
	Interaction	3.5	2, 101.6	0.035
Pre-overwintering	IF	12.2	1, 20.4	0.002
Overwintering	IF	14.9	1, 22.0	0.001
Post-overwintering	IF	38.9	1, 60.0	<0.001

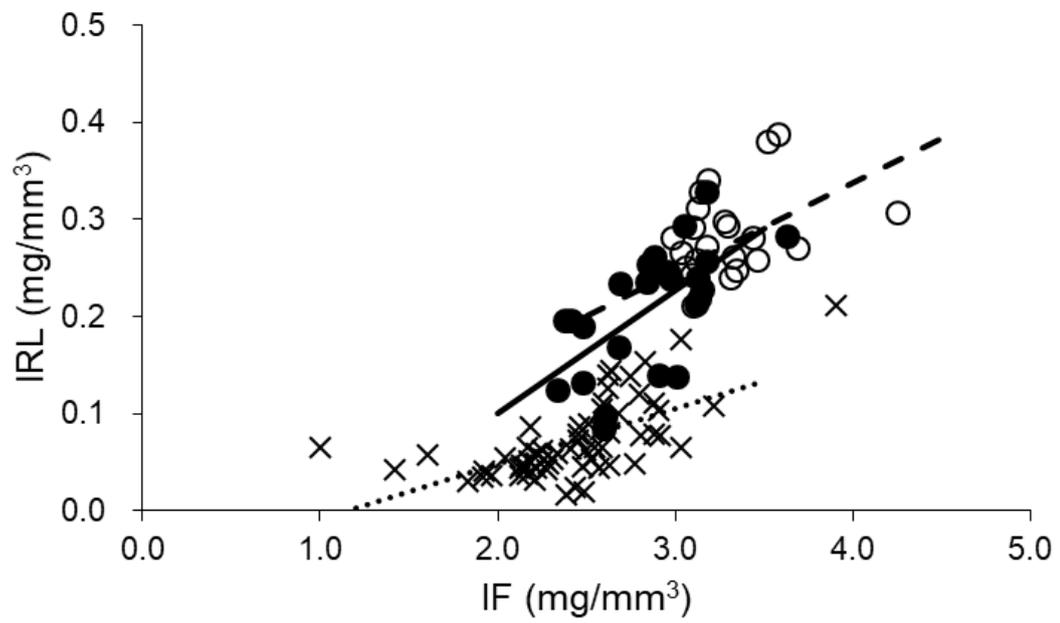


Fig. 9 Relationship between IRL and IF in three overwintering stages. White cycle and broken line indicate pre-overwintering females. Black cycle and full line indicate overwintering females. Cross and dot line indicate post-overwintering females.

3.2.4. 考察

セグロアシナガバチの越冬期間中の卵成熟と脂質量の変化は、温帯性カリバチで普遍的に見られる特性(Roseler et al. 1980; Matsuura and Yamane 1990; Hunt and Amdam 2005; Toth et al. 2009; Judd et al. 2010; Makino 2016)と同じであった。つまり、越冬前の段階で、成熟した卵母細胞を持つ個体は見られず、脂質蓄積量は解析期間中で最大であった。これは、繁殖コストが越冬準備のために卵巣発育を抑え生殖休眠に入り、脂質を多く蓄積していることを示唆する。特に、越冬前の個体は、平均 30mg の脂質を蓄積していた。これは羽化時の脂質蓄積量(第 3 ブルード: Gyne)と比較すると約 2 倍近い量となる(第 3.1 節)。つまり、羽化時の脂質のみでは越冬に耐えうる量を蓄積しておらず、羽化後の採餌を通じた脂質蓄積が求められる。アシナガバチにおいて、相対的に多くの炭水化物摂取が高い脂質蓄積量を導く(Rossi and Hunt 1988; Judd et al. 2010)ことから、羽化後どのコストになるかによって採餌戦略の変化も生じると予想される(O'Donnell et al. 2018)。

越冬前の脂質蓄積量は体サイズが大きいほど高かった(有意に近い)。一方、IRL に対しては体サイズが影響していなかったことから、越冬前の個体は体サイズにかかわらず、 0.3 mg/mm^3 の脂質を蓄積すると考えられる。これは、越冬個体間の体サイズの変異は越冬の成功に影響しないことを示唆する。つまり、小さい第 1 ブルード成虫でも、越冬を成功させる可能性を持っている。しかし、第 1 ブルードの体サイズは平均 4.24 mm であり、 0.3 mg/mm^3 の脂質を越冬前に必要とするならば、 22.9 mg の脂質を蓄積しなければならない。これは、羽化時の脂質量より約 6 倍の量であり、第 2、第 3 ブルード個体より多くの脂質を羽化後に蓄積する必要がある。また、昆虫において、一般的に小さい個体は産卵数、寿命で劣っている(Visser 1994; Gao et al. 2016)。そのため、第 1 ブルードは休眠という選択、つまり越冬女王になる選択を避けやすいのかもしれない。

越冬期間中の生体重の変化は、行動活性が高まるタイミングを推測できる可能性がある。初春のアシナガバチ創設女王は、休眠は終えているが低温によって引き起こされた活動休止状態にある(Tibbetts et al. 2011)。また、マルハナバチにおいては、越冬直後の採餌活動により相対的な水分含量が増加する(Alford 1969)。セグロアシナガバチにおいても、脂質蓄積量が減少し続けるにもかかわらず、生体重が増加した。これは、気温の上昇に伴い行動活性が高まったことを強く支持する。実際、生体重の変曲点は日最高気温が 13–14°C となる時期と重なる(Fig. 8, 津地方气象台)。そして、野外における越冬後個体の出現日と一致していた(2016年3月8日に野外の越冬個体を3個体捕獲した)。

生体重は直前の摂食の有無によって、1日の中でも変動の大きい変数であるにもかかわらず、全越冬ステージで相対脂質蓄積量(IRL)は太り度合い(IF)によって予測可能であった。これは、越冬期間中は採餌活動が制限されており、生体重の変動が小さかったことに由来するかもしれない。しかし、同じ IF 値を持った個体を比較したとき、越冬前、越冬中、越冬後の順で IRL 値は有意に低下した。これは、越冬期間の経過に伴い脂質が急激に減少し、別の物質が蓄積されたことを意味する。成熟卵を保有した個体は3月中旬から見られたことを考えると、卵成熟はかなり前から始まっている。このことから、別の物質とは主にタンパク質、そして野外活動後は水が加わるように思われる。

近年、アフリカの熱帯から温帯にかけて生息するアシナガバチ *Belonogaster longitarsus* において、卵巣を発達させた状態で越冬していることが報告された(Kelstrup et al. 2017)。冬季の気温が比較的高い地域では、わずかな気温の上昇でもコロニー活動を開始することが可能であるため、生殖休眠が見られず、この種のように越冬前に卵巣を発育させているのかもしれない。本研究対象のセグロアシナガバチも亜熱帯から温帯にかけて生息する種である(Carpenter 1996)。今後、気候(もしくは緯度)と越冬前の卵巣発育状態との関係を調べることで、アシナガバチの気候適応による生息域拡大を解明する手がかりとなるだろう。

第 3.3 節 日長がカースト決定に及ぼす影響：温度と日長が制御された室内で未成熟期を過ごした個体の場合

3.3.1 はじめに

序論で述べたが、温帯性アシナガバチでは、羽化時にカースト決定に関連した偏りはあるが、成虫期の社会的要因と環境要因に基づいてカースト運命が最終的に決定すると考えられるようになった (Solís and Strassmann 1990; Reeve et al. 1998; Tibbetts 2007)。社会的要因には、未成熟個体の存在 (Solís and Strassmann 1990)、コロニーサイズと女王の存在 (Tibbetts 2007) のようなコロニー状態が含まれている。また、環境要因には、日長と温度が含まれている (Bohm 1972)。コロニー状態が悪い場合 (例えば、未成熟個体数が少ない、コロニーサイズが小さい、女王が消失など) は、羽化成虫が早期に離巢する。しかし、早期に離巢した個体が、自身で新しい巣を創設するのか (オスしか産めない) のでワーカーは出ない)、他コロニーに参入し産卵個体となる (ドリフティング) のか、もしくは新女王として越冬準備を行っているのかはよくわかっていない (Reeve et al. 1998)。

日長は温帯の非社会性昆虫間の休眠誘導に重要な役割を果たすと考えられ、一般的に短日が休眠を導く (Tauber et al. 1986; Danks 1987; Saunders 2002)。しかし、アシナガバチにおいて、カースト運命決定に対する日長の影響を調べた研究は 1 例しかない。Bohm (1972) は、アメリカ合衆国カンザス州 (北緯 39 度) で実験を行い、長日下 (LD 16:8) で 26°C の状況に置かれた羽化成虫が短日下 (LD 14:10) で 22°C に置かれた羽化成虫より卵巣を発育させやすいことを発見した。この現象は 6 月に採集されたコロニーから羽化した成虫間でのみ見られた。一方、7 月と 8 月に採集されたコロニーから羽化した成虫のほとんどは成虫期の日長にかかわらず休眠に入った。これらの観察から、Bohm は未成熟期に休眠と関係するなんらかの手がかりに曝されていると推測した。Bohm の観

察が、温度と日長が休眠導入に重要な要因であることを示唆するにもかかわらず、早期新女王の出現(Reeve et al. 1998)や晩期ワーカーの出現(Dapporto et al. 2005)があるため、多くの研究者(Hunt et al. 2007 を含む)はこれらの要因の重要性に反対であった。

昆虫が成虫期に休眠に入るとき、幼虫、蛹もしくは成虫期にうけた日長を基に休眠が誘起されると考えられている(Danks 1987)。例えば、成虫期日長が重要であるならば、羽化成虫のカースト運命は前もって決められていない。それは、羽化後カースト運命決定仮説を支持し、原始真社会性カリバチのカースト運命決定に柔軟性があることを強調するだろう。本節では、セグロアシナガバチを用いて、日長に対する感受期を調べるため、未成熟期の日長と温度を完全に制御した状況下で飼育を行い、羽化直後から個別に長日(LD 16:8)もしくは短日(LD 12:12)下で飼育することにより成虫期日長の影響を評価する。これにより、日長に感受性のある発育段階を明らかにすることができる。羽化後の個別飼育は、社会的要因を取り除いた状態であり、野外において巣が崩壊した状態を模している。つまり、これらの個体は、休眠をあきらめ、その年に繁殖をするのか、あるいは新女王として越冬をするのかの選択に迫られる。どちらを選択したかは、記述のように卵成熟と脂質蓄積量によって判断できる。

加えて、原始真社会性アシナガバチの第1ブルード個体(創設女王によってのみ世話を受けた個体)は羽化時点でワーカーになりやすい特性を持っている(Hunt 2006; Hunt et al. 2007)。これらの個体は体サイズが小さく、軽く(Reeve 1991)、低い脂質蓄積量を示している(Judd et al. 2010)。セグロアシナガバチにおいても、羽化時のカースト決定に偏りを生じさせる形態学的・生理学的形質の存在が明らかとなった(第 3.1 節)。そこで、その形質の一つとして体サイズを取り上げ、体サイズの影響がカースト決定に与える影響も明らかにする。

3.3.2 材料と方法

創設女王と巣をワーカー羽化前の5月上旬に三重県と愛知県から採集し、個別の段ボール製飼育箱(30 cm × 30 cm × 45 cm)内で維持した。飼育箱は上面、側面、前面の4面にビニールシートが貼られている。飼育箱内に、エサとして4齢もしくは5齢のカイコガ幼虫とハチミツ原液、水、巣材として濾紙が入れた。エサは十分量与えられ、外役個体が自由に採集できるようにした。羽化個体は羽化日にペイントマーカー(PAINT MARKER SR; Teranishi Chemical Industry Company, Osaka, Japan)でマーキングされ、頭幅が測定された。計18コロニーが5月15日までLD 14:10で25°Cの恒温室に置かれた。LD 14:10は三重県における5月上旬と類似した日長である。アシナガバチは軒下のような陰となる場所に営巣しているため、野外の未成熟個体によって経験される日長は、日の出時刻と日の入り時刻に30分ずつ延ばした時間に近いと考えられる。

未成熟個体に対して異なる日長を曝すために、以下の実験手順を行った。そして、羽化成虫に対しては、未成熟期に曝された日長とは独立して個別に異なる日長に曝した。5月15日の朝に、1コロニーずつ入った飼育箱が3つのグループに分けられた(1グループ6コロニーで構成されている)。そして、各グループはLD 16:8(夏至の日長より1時間長い)に2、6、12週間それぞれ置かれ、その後、LD 12:12(10月上旬の日長と類似)に置かれた(Fig. 10)。この手順により未成熟期に異なる日長を経験させた。つまり、未成熟期を通して短日に曝される個体もいれば、長日に曝される個体もいる。アシナガバチが日長を手がかりとしてカースト運命決定をしているならば、日長はコロニー活動に適した季節が進行中もしくは既に過ぎたかの季節情報を提供すると考えられる。

羽化順が偶数番の個体は羽化直後に巣から取り除かれ、カイコガ幼虫1頭、ハチミツ、水が入った個別のプラスチックカップ(直径12 cm × 高さ6 cm)に置かれ、LD 16:8もしくはLD 12:12下で2週間飼育した(Fig. 10)。個別飼

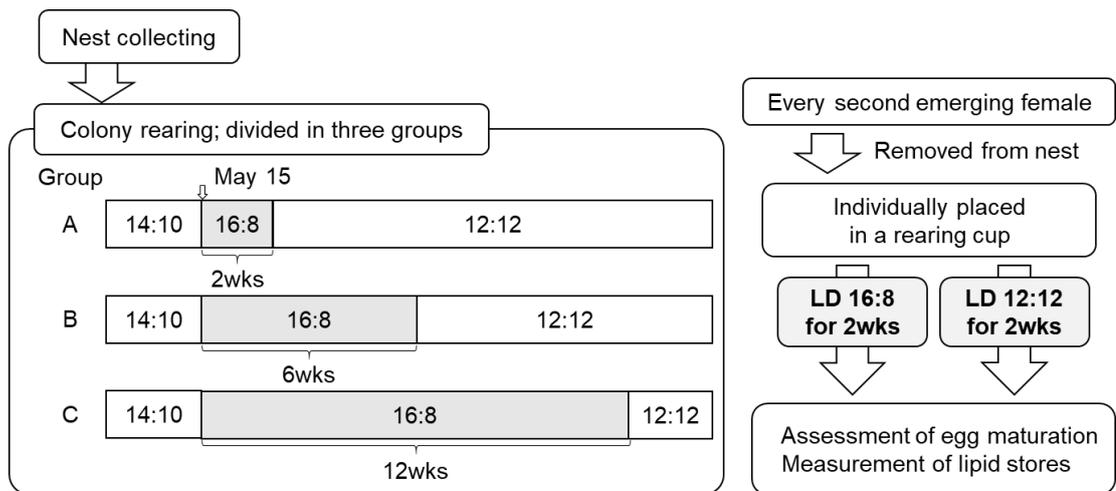


Fig. 10 Experimental procedures for determining the effects of photoperiod during the immature and adult stages on diapausing.

育 2 週間での生存率は 96.4% (n = 222)であった。残りの半数の個体はコロニー活動を維持するために巣に残された。2 週間の飼育期間後、各メス個体は成熟卵を持っているかを調べるために解剖し、その後、Tibbetts et al. (2011)に記載されている方法で、ジエチルエーテルによる脂質除去を行った前後の乾燥重量の差を測定することによって、膨腹部の脂質蓄積量を調べた。脂質蓄積量の増加は休眠の準備を意味し、卵巣発育は休眠をあきらめることを意味する (Eickwort 1969; Haggard and Gamboa 1980; Strassmann et al. 1984; Toth et al. 2009)。さらに、11 月中旬と 12 月下旬に採集されたメスは大きい未成熟の卵母細胞を持つが、成熟した卵母細胞を持たなかった(第 3.2 節, 吉村と山田, 未公表データ)。それゆえに、成熟卵の存在は休眠に入らないことを決めたことを示すと考えられる。

卵巣発育(成熟卵を持つか持たないか)に対する以下の 3 つの要因の影響を調べるためにロジスティック回帰分析を行った。(1)成虫期の日長、(2)未成熟期(幼虫もしくは蛹)の日長、(3)成虫サイズ(頭幅)。コロニーの影響はランダム要因 (stratum)としてモデルに組み込んだ。幼虫もしくは蛹期に長日(もしくは短日)に曝された日数が未成熟期の日長を表す変数として用いられた。これらの要因と 2 要因間の交互作用の統計的な有意性は LogXact® 10 software(Cytel, Cambridge, MA, USA)を用いて、正確確率値を計算することによって調べられた。交互作用の有意性はこの解析ソフトではテストできなかったため、R(version 3.4.3; R Foundation 2017)の “lme4” パッケージを用いて対数線形分析を行った。ロジットリンク関数を用いられ、頭幅に対する反応変数の傾きと切片に対するランダム要因としてコロニーを統計モデルに入れた。まず、説明変数(成虫期の日長、未成熟期の日長、頭幅)とそれら 2 要因間の交互作用の有意性の検定を一つずつ行った。その交互作用が有意でない場合はそのモデルから除かれ、最小最適モデルを求めた。

脂質蓄積量に対する上述の 3 つの要因の影響が NCSS(version 11, NCSS Statistical Software, Kaysville, UT, USA)の線形混合モデルを用いて解析さ

れた。さらに、成熟卵の有無も固定要因に加えられた。コロニーは頭幅に対する反応変数の傾きと切片をランダム要因として統計モデルに入れた。越冬前の個体が持つ脂質蓄積量は体サイズの影響を受けており、IRL(相対脂質蓄積量)で $0.3\text{mg}/\text{mm}^3$ であった(第 3.2 節)。そのため、IRL を反応変数とした。また、対数変換することで統計モデルに組み込まれたランダム誤差の正規性を保証した。

処理区とコロニー発達段階が卵巣発達と脂質蓄積量に及ぼす影響も、それぞれ、未成熟期日長の代わりに固定要因としてモデルに組み込み、解析した。これは、コロニー発育段階の影響の解析は後半に羽化した個体がより休眠しやすいかを明らかにするために行われた。コロニー発達段階の影響については、羽化成虫を(1)第 1 ブルード、(2)第 2 ブルード(第 1 ブルードの羽化後、第 1 オス羽化前に羽化したメス個体)、(3)第 3 ブルード(第 1 オス羽化と同日、羽化後に羽化したメス個体: 新女王)に分け、3 つのブルード間の差を見た。これらの要因は有意に影響しなかったため、解析結果は提示しなかった。

3.3.3 結果

成虫期日長が長日のメス成虫の頭幅の分布は短日下とほとんど同じであった(Fig. 11)。頭幅の範囲は長日下で 3.74 から 4.85 mm、短日下で 3.62 から 4.95 mm であった。いずれもピークは 4.25 から 4.50 mm の間であった。成虫サイズと成虫期の日長は卵巣発育に有意に影響した(Table 5, Fig. 11)。メス成虫は短日下より長日下で卵巣をより発育させた。特に、短日下では大きい成虫は成熟卵を全く持たなかった。

未成熟期の日長を表す変数として蛹期に長日に曝された日数を用いたとき、成虫期日長と成虫サイズとの交互作用が有意に影響した(Table 5 の P-L の欄)。この結果は、成熟卵をもつ個体の割合の成虫サイズに対する反応が長日下と短日下で異なることを示す。この交互作用の基礎をなす機構を説明するために、蛹期の長日日数が 0-8 日と >8 日に分けて解析した(前者は後者より、蛹期によ

Table 5 Statistical results for the proportion of adults with mature eggs: *P* values for each factor and interaction

Factors ^a	Variables used for photoperiod during immature stage ^b				During pupal stage ^c		During adult stage ^d	
	L-SH	P-SH	L-L	P-L	≤8 long days	>8 long days	Short days	Long days
HW	0.001	<0.001	0.001	<0.001	0.293	<0.001	0.005	0.022
A	<0.001	<0.001	<0.001	0.011	<0.001	0.032	—	—
Im	0.720	0.266	0.692	0.002	—	—	0.096	1.000
HW*A	0.116	0.112	0.114	0.004	0.112	0.034	—	—
HW*Im	0.730 ^e	0.383 ^e	0.308	0.060 ^e	—	—	1.000	0.092
A*Im	0.059	0.063	0.286	<0.001	—	—	—	—

^a HW, head width; A, photoperiod during the adult stage, Im, photoperiod during the immature stage

^b L-SH, the number of short days during the larval stage; P-SH, the number of short days during the pupal stage; L-L, the number of long days during larval stage; P-L, the number of long days during the pupal stage

^c Analysis was performed separately for ≤8 and >8 long days during the pupal stage

^d Analysis was performed separately for short and long days during the adult stage

^e *P* values were calculated by using parametric methods, while the others calculated by using exact methods

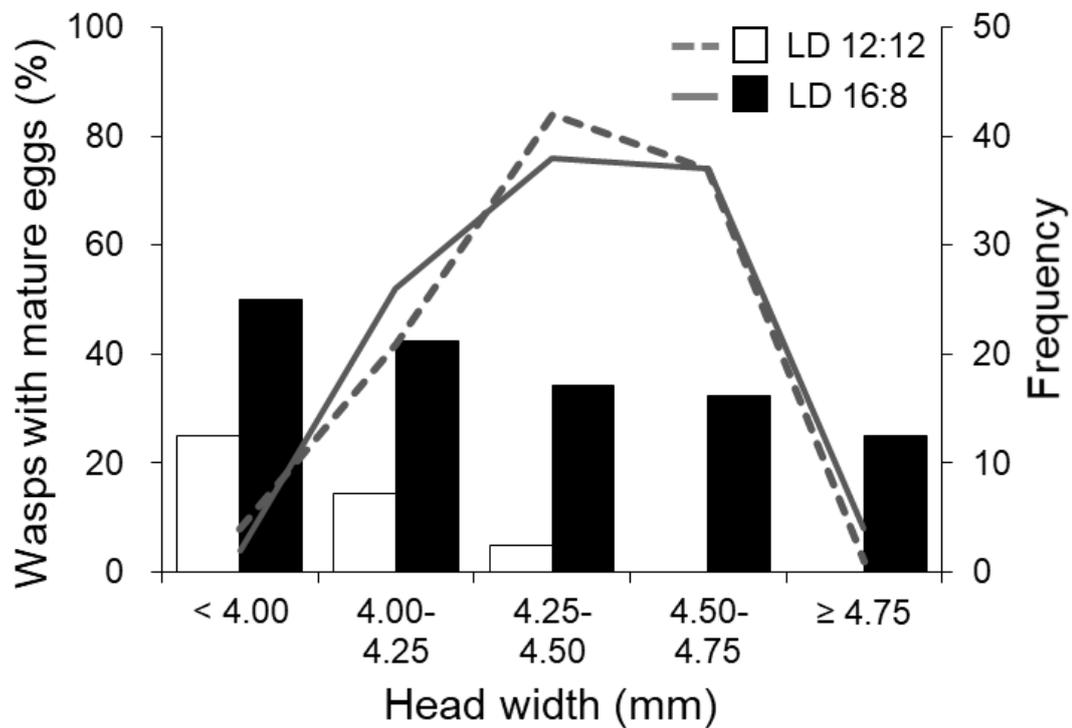


Fig. 11 Effects of the photoperiod during the adult stage and body size (head width) on egg maturation (proportion of female adults with mature eggs). Data (bars) are the proportions of female adults with mature eggs classified by their head width. The distribution of head widths is also shown separately for wasps under short and long days (lines). See Table 5 for the results of the statistical analysis.

り短日を経験している)(Table 5, Fig. 12)。蛹期に 0–8 日間の長日を経験する(短日の影響が強い)と、成虫サイズと成虫期日長との交互作用は失われ、長日と短日の両方で成虫サイズの影響は消えた。しかし、蛹期に >8 日間の長日を経験したとき(長日の影響が強い)、成虫サイズと成虫期日長との交互作用は残り、成虫サイズは有意に影響した。

さらに、未成熟期日長として蛹期に長日に曝された日数を用いると、未成熟期日長と成虫期日長との交互作用が有意に影響した(Table 5 の P-L 欄)。この交互作用をなす機構を説明するために、成虫期日長別に解析を行った。蛹期日長は短日下で卵巣発育に対して正の影響を与えた(有意に近い, $P = 0.096$) (Table 5, Fig. 13)。一方、長日下では影響していなかった($P = 1.000$)。

この交互作用は、蛹期と成虫期間の日長の変化に反応していることを示す; メス個体は蛹期と成虫期日長の変化によって夏至がいつ過ぎたのかを推測しているのかもしれない。たとえば、蛹期と成虫期に短日に曝された個体は、夏至がだいぶ前に過ぎたと推測するだろう。一方、蛹期と成虫期に長日に曝された個体は夏至が最近過ぎたと推測するだろう。結果として、前者は後者より卵巣発育をしないと考えられる(Fig. 13)。

成虫期日長は相対脂質蓄積量(IRL)に対して有意に影響した(Table 6)。一方、要因として幼虫期もしくは蛹期の長日日数もしくは短日日数のいずれの変数を用いたとしても、未成熟期日長は影響しなかった(統計結果は蛹期に曝された長日日数のみを提示したが他の変数を用いても結果は同じであった, Table 6)。成虫サイズと成熟卵の有無との間に有意な交互作用が見られた。それ故に、成熟卵を持つ個体と持たない個体とに分けて解析を行った(Table 6, Fig. 14)。成熟卵を持たない個体では、成虫期日長が有意に影響したが、成虫サイズは影響しなかった。日長のこの影響は、長日下より短日下でより早くから脂質の蓄積もしくはより急激に脂質を蓄積し始めて、休眠に備えることを示唆する。一方、成熟卵を持つメス間で、成虫サイズは有意に影響したが、成虫期日長は影響しなかった。

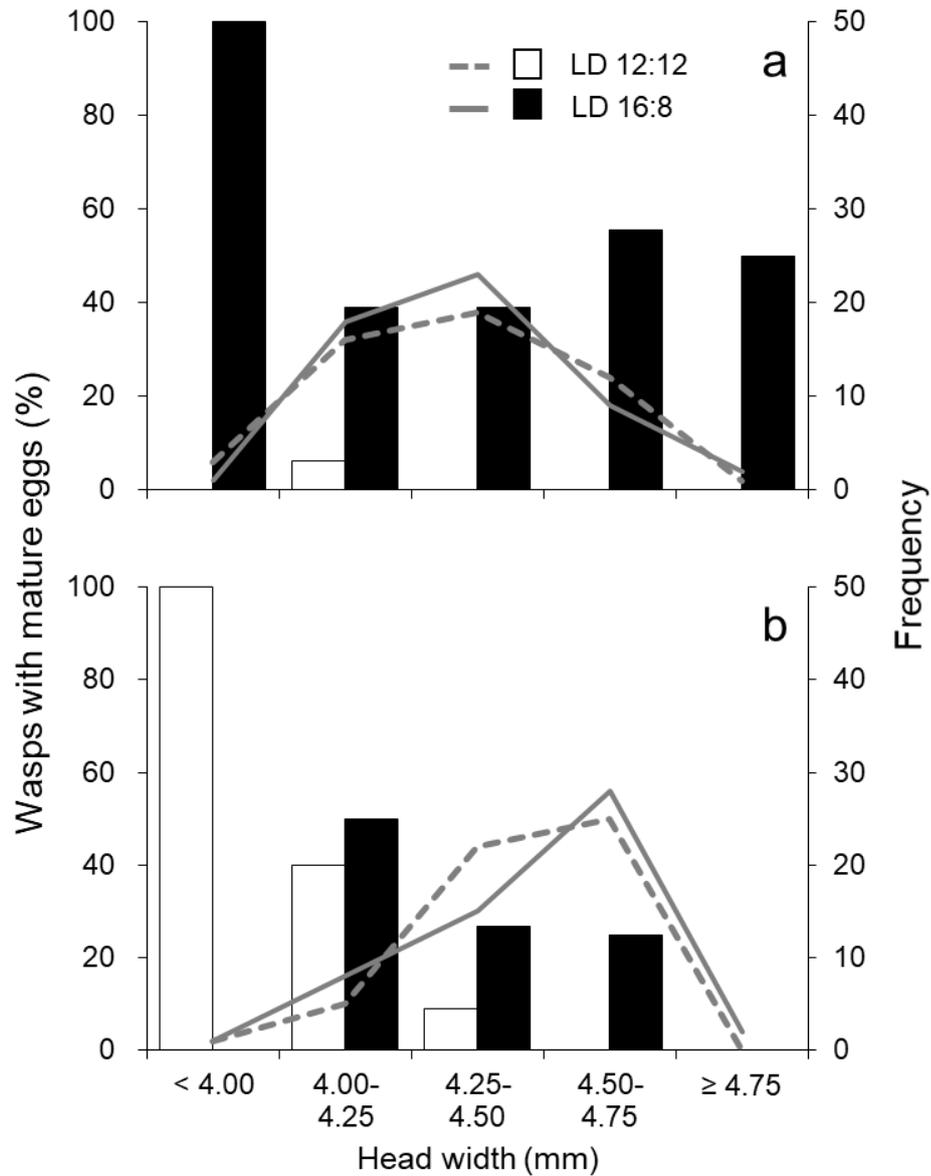


Fig. 12 Effects of the photoperiod during the adult stage and body size (head width) on egg maturation (proportion of female adults with mature eggs) after exposure to different photoperiod (**a** 0–8 long days; **b** > 8 long days) during the pupal stage. Data (bars) are the proportions of female adults with mature eggs classified by their head widths. The distribution of head widths is also shown separately for wasps with 0–8 and > 8 long days during the pupal stage (lines). See Table 5 for the results of the statistical analyses.

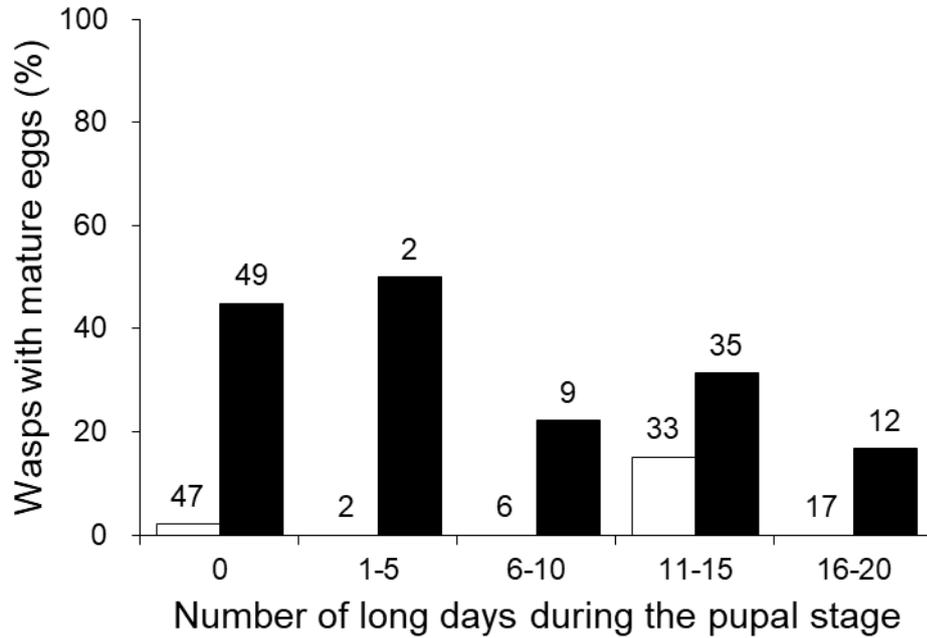


Fig. 13 Effects of the photoperiod (number of long days) during the pupal stage on egg maturation (proportions of female adults with mature eggs) under different photoperiod (LD 12:12 and LD 16:8) during the adult stage. Data (bars) are proportions of female adults with mature eggs classified by the number of long days during the pupal stage; numbers on the bars are sample sizes. See Table 5 for the results of the statistical analyses.

Table 6 Statistical results for the IRL

Factors ^a	All wasps ^b			Wasps without mature eggs ^c			Wasps with mature eggs ^c		
	<i>F</i>	df	<i>P</i>	<i>F</i>	df	<i>P</i>	<i>F</i>	df	<i>P</i>
HW	0.0	1, 202.6	0.850	2.7	1, 162.5	0.102	5.0	1, 39.2	0.032
A	5.0	1, 198.2	0.026	8.7	1, 158.8	0.004	1.7	1, 36.2	0.203
EM	5.2	1, 201.2	0.024	—	—	—	—	—	—
Im	1.7	1, 115.9	0.199	—	—	—	—	—	—
HW*A	0.2	1, 191.3	0.626	0.4	1, 150.1	0.522	0.0	1, 39.5	0.975
HW*EM	6.3	1, 201.0	0.013	—	—	—	—	—	—
HW*Im	0.4	1, 200.9	0.551	—	—	—	—	—	—
A*EM	2.5	1, 197.1	0.114	—	—	—	—	—	—
A*Im	0.3	1, 191.9	0.557	—	—	—	—	—	—
EM*Im	2.3	1, 197.1	0.130	—	—	—	—	—	—

^a EM, with or without mature eggs; Im, the number of long days during pupal stage; see for the others the footnote of Table 5

^b Analysis was performed for all wasps

^c Since interaction (HW*EM) was significant, analysis was performed separately for wasps with and without mature eggs

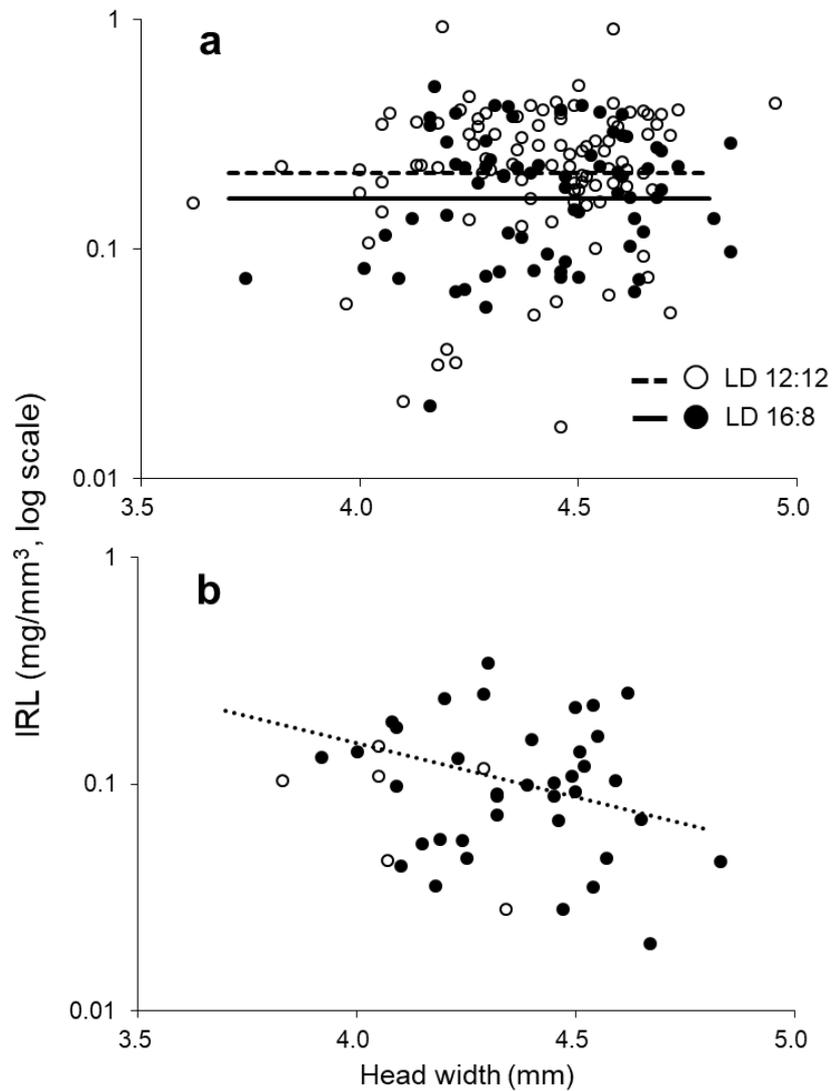


Fig. 14 Relationship between lipid stores (IRL) and body size (head width) under short and long days. **a** Females without mature eggs. **b** Females with mature eggs. Lines represent the best-fit linear model. Significant effect of photoperiod was detected, but no significant relationship between IRL and body size in **a**. Meanwhile, significant relationship between IRL and body size was detected, but no significant effect of photoperiod in **b** (see Table 6 for details). Dotted line in **b** indicates short and long day length combined, because significant effect of photoperiod during adult stage was not detected.

3.3.4 考察

卵巣発育と脂質蓄積に対する成虫期日長の影響は羽化後カースト運命決定仮説を支持する。これは、短日が休眠導入し、新女王へのカースト運命決定へ促進することを意味する。一方、成虫期サイズの影響は羽化前カースト運命決定仮説を支持する。しかしながら、短日下で小さい個体の一部も休眠の準備をすることから、そして、蛹期により短日に曝されると卵巣発育に対する体サイズの影響が失われることから、日長は体サイズより優先順位の高い手がかりであると考えられる。明らかに、成虫期長日下で多くのメスが成熟卵を持った。これらの個体がコロニーサイクルの早い時期もしくは遅い時期に羽化したこととは関係なかった。これは、新女王と呼ばれていたメス(オス羽化後のメス)が実際は羽化時点で特定のカーストになることを運命づけられていなかったことを示唆する。

小さい個体は、通常第 1 ブルードで見られる(Reeve 1991; Tsuchida 1991; Toth et al. 2009; Hunt 2012)。セグロアシナガバチの第 1 ブルードでも羽化時の体サイズが小さく、軽く、同じ体長で比較しても体重は軽かった(第 3.1 節)。このような小さい個体はより休眠を避ける傾向にあった。対照的に、大きい個体は越冬しやすかった。これは、羽化時点での脂質量が多いからかもしれない(第 3.1 節; Judd et al. 2010)。越冬のために多くの脂質量が必要とすることが知られている(第 3.2 節; Toth et al. 2009; Hahn and Denlinger 2011)が、羽化時の脂質蓄積量は越冬成功に必要な脂質蓄積量よりかなり少ない(セグロアシナガバチの新女王の羽化時の相対脂質蓄積量(IRL)は約 0.04 mg/mm^3 であり、越冬前の相対脂質蓄積量は約 0.3 mg/mm^3 である。第 3.1 節と第 3.2 節を参照)。それゆえに、新女王でさえ、越冬を成功させるために、羽化後に多くの脂質を蓄積しなければならない。

興味ぶかいことに、蛹期により多くの短日を経験したとき、卵巣発育に対する体サイズの影響は見られなかったが、成虫期日長は影響していた。つまり、

成虫期日長が短日下では卵を成熟させることは極めてまれであるのに、成虫期日長が長日下では多くの成虫が卵成熟させた。これらの結果は、第1ブルードにおいて卵巣発育の進みややすさが、体サイズの小ささと成虫期間の長日との組み合わせのためよりもむしろ、蛹期から成虫期にかけて日長の増加を経験することの方が重要であることを示唆する。この研究で用いた日長の変化は野外の変化とは異なる。室内の日長の変化は急激であるのに対して、野外は徐々に変化する。それゆえに、第1ブルードが卵巣発育を決定するとき、手がかりとして体サイズを実際に用いているのかを調べるさらなる研究が求められる。

クロバエ *Calliphora vicina* において、休眠導入に対する体サイズの影響が発見された(Saunders 1997)。小さい幼虫は休眠導入条件下でさえも休眠に入りにくいことが示された。さらに、高質な栄養がいくつかの昆虫種で休眠導入に必要である。植食性甲虫ニジュウヤホシテントウ *Epilachna vigintioctopunctata* の成虫(Kono 1979)とワタアカミムシ *Pectinophora gossypiella* の幼虫(Adkisson et al. 1963; Foster and Crowder 1980)は、短日下で高質な栄養を給餌された時に休眠に入る。しかし、低質な栄養を給餌されても休眠に入らない。これらの現象は、体内の栄養が越冬成功のために不十分であるときに休眠を避けることを示唆する。類似の現象はセグロアシナガバチでも起こるかもしれない。しかし、休眠決定に対する体サイズもしくは栄養の影響は上述のハエや植食性昆虫において休眠導入条件下で発見されている。一方、セグロアシナガバチにおいて、そのような影響は短日下のみならず、長日下(つまり、休眠誘起しない条件)でも存在した。

羽化成虫のカースト運命は羽化後の特定の期間に感じるいくつかの手がかりによって決定していると考えられる(Solis and Strassmann 1990; Reeve et al. 1998; Tibbetts 2007)。これらの手がかりは生理状態(例えば、脂質蓄積量)、コロニーメンバー間の社会的相互作用(例えば、優劣順位)、コロニーの状態(例えば、コロニーサイズ、女王の産卵能力、女王の存在)、物理的そして生物学的環境状態(例えば、日長、エサ条件)を含む。個体は自身が1年のどの時期にいて、

秋もしくは冬が始まるまでにどれくらいの日数が残されているのかを推測するために、日長とその変化を感じていると考えられる。

アシナガバチコロニーでは、ほんの一部のコロニーしか野外においてオスと新女王を生産しない(Reeve 1991; Queller 1996; Kozyra and Baraniak 2016)。これはコロニーを取り巻く予測不可能な不利な要因(例えば、エサ制限、捕食者・寄生者・社会寄生者による攻撃、女王の消失、巣を崩壊させてしまうような悪天候)の影響のためである(Yamane 1996)。そのような予測不可能な野外の条件下で、羽化後複数の選択肢(越冬に入る、巣に留まる、営巣を開始する、他コロニーに参入する)を持つことはメスの適応度を増加させると思われる(Solís and Strassmann 1990)。

第 3.4 節 日長がカースト決定に及ぼす影響：未成熟期を野外で過ごした個体の場合

3.4.1 はじめに

前節において、セグロアシナガバチのカースト運命決定に蛹期と成虫期の日長が影響することを明らかにした。成虫期日長は、ブルードに関係なく、長日下でワーカー型の生理特性(単独時には卵巣発育)を導き、短日下で新女王型の生理特性(卵成熟の抑制と脂質の蓄積)を導いた。また、体サイズと成虫期日長の組み合わせよりも、蛹期と成虫期の日長の増加が卵巣発育に影響することから、日長の変化の重要性が示唆された。この結果は、Bohm (1972)の *P. metricus* を使った結果とは大きく異なった。*P. metricus* において、6月に採集されたコロニー由来のメス個体が成虫期間に長日に曝されると卵成熟が進んだ。一方、7月と8月に採集されたコロニー由来のメス個体は、成虫期日長にかかわらず、ほとんどの個体が休眠の準備を行った。このように、ブルードによって日長の影響の仕方が異なることから、Bohm (1972)は未成熟期の手かがりが成虫期の日長の影響より上位(上流)にあることを示唆した。

この違いを引き起こす機構の解明は、アシナガバチのカースト決定に対する日長の影響を正確に捉えるために必要である。考えられる機構の1つに、実験方法の違いがあるかもしれない。前節の実験方法では、未成熟期から成虫期までを室内で日長を完全に制御された状況下で飼育しているため、未成熟期に曝される日長が急激に変化する。これに対して、Bohm (1972)の実験方法では、未成熟期を野外で過ごしているため、日長が徐々に変化する。

日長の変化が休眠導入に影響することは、昆虫を含む多くの動物で報告されている(Tauber et al. 1986)。ブチヒゲカメムシ *Dolycoris baccarum* においては、未成熟期に長日を経験し、羽化後に短日に曝すと、休眠に入る(Conradi-Larsen and Sømme 1978)。しかし、長日から短日への変化のような急激な日

長の変化は、徐々に変化する日長(つまり、野外のような日長)と異なる結果を生じさせることがある(Heideman et al. 2000)。

そこで、本節では、Bohm (1972)のように、様々な時期に野外から採集されたコロニーの蛹から羽化したセグロアシナガバチの成虫を長日あるいは短日で単独飼育し、成虫期日長の影響を調べた。この方法を用いることで、蛹期まで徐々に変化した日長を経験すると予想される。もし、徐々に変化する蛹期の日長の影響が上位の要因なら、ブルード間で、成虫期日長への反応の仕方が異なることが予測される。加えて、第 3.1 節で述べた未成熟期のカースト決定に関連した偏りの影響の有無を考慮して、体サイズの影響も同時に解析した。

3.4.2 材料と方法

蛹の入った 38 コロニーが 2016 年 5 月 23 日から 8 月 18 日と 2017 年 5 月 22 日から 8 月 21 日に採集された。採集されたコロニーは、個別にプラスチックカップ(直径 12 cm × 高さ 6 cm)に入れられ、採集時に既に羽化していた個体は、コロニーから取り除いた。コロニーは、野外の日の出前と日の入後に 30 分ずつ延長した日長、25℃の環境下で維持した。採集日にコロニー内に存在した蛹から羽化した成虫のみが実験に用いられた。

コロニー内のメス個体は、育児を行った個体のカーストと成虫羽化日に基づいて、3ブルード(第 1、第 2、第 3ブルード)に分けられた。第 1ブルードは創設女王のみに世話を受け、5月下旬から6月中旬に羽化した。第 2ブルードは創設女王と第 1ブルードワーカーによって世話を受け、6月下旬から7月に羽化した。第 2ブルードはさらに前期と後期に分けられた。第 2前期ブルードは創設女王によって発育段階初期に世話を受け、発育段階後期には創設女王とワーカーによって世話を受けた。一方、第 2後期ブルードは幼虫発育期間を通して創設女王とワーカーによって世話を受けた。第 3ブルードも創設女王とワー

カーによって世話を受けたが、オスと同時期もしくはそれより後に羽化した個体である。

羽化個体は羽化直後にコロニーから取り除かれ、個別にプラスチックカップ(直径 12 cm × 高さ 6 cm)内で LD 16:8 もしくは LD 12:12、25°C の環境下で 2 週間維持された。3 齢から 5 齢のカイコガ幼虫 1 頭、水、ハチミツがプラスチックカップ内に入れられた。水とハチミツは 1 週間おきに交換し、カイコガ幼虫は食べられたときに交換した。計 191 個体が分析に用いられ、頭幅がノギスで測定された。羽化時に別々のマーキングをつけた。

2 週間の個別飼育後、成熟卵保有の有無を調べるために顕微鏡下で解剖した。加えて、脂質蓄積量はジエチルエーテルによる脂質抽出前後の乾燥重量の違いから推定した(Tibbetts et al. 2011)。卵巣発育状態と脂質蓄積量は各カーストを識別するための最もよい指標である。セグロアシナガバチにおいて、越冬準備個体は秋に卵成熟はしておらず、羽化時より多くの脂質を蓄積している(第 3.2 節)。それゆえに、もし個体が成熟卵を持っていれば、休眠に入らないことを決定したことを示す。一方、多くの脂質を持ち、成熟卵を持たなければ、休眠の準備をしていることを示す。

成熟卵保有個体割合に対する以下の 4 要因とそれらの 2 要因間の交互作用の影響はロジスティック回帰分析を用いて行った: (1)成虫期日長、(2)体サイズ、(3)ブルード、(4)年。ブルードは、直線性が見られなかったため、カテゴリカル変数として組み込まれた。R(version 3.4.3; R Foundation 2017)の“lme4”パッケージを用いて対数線形分析を行った。コロニーは成熟卵保有個体割合に対する頭幅の傾きと切片をランダム要因としてモデルに組み込んだ。有意性は、対象とする要因を含むモデルと含まないモデルの 2 つのモデル間を、R 内の“anova 関数”を用いて尤度比検定を行うことで求められた(Winter 2014)。初めに、交互作用の影響から調べ、有意性がなければモデルから除いた。そして最小最適モデルを得た。加えて、ブルードが有意に影響したとき、ブルード間

の有意差を調べるために、ホルムの連続ボンフェローニ多重比較検定(Holm 1979; Rice 1989)が R の “multcomp” パッケージを用いて行われた。

脂質蓄積量に対する解析は、一般化線形混合モデルを用いて行った。越冬前の脂質蓄積量は頭幅の影響を受けている傾向が見られたので、IRL(相対脂質蓄積量)で 0.3 mg/mm^3 の蓄積が必要であった。そのため、反応変数とした脂質蓄積量は、IRL を用いた。上述の 4 要因に加えて、卵巢成熟(成熟した卵母細胞の有無)を固定効果としてモデルに組み込まれた。コロニーは反応変数に対する頭幅の傾きと切片をランダム要因として統計モデルに組み込んだ。卵巢成熟と体サイズ、卵巢成熟とブルード、卵巢成熟と年との間の 2 要因間交互作用が有意に影響したため、卵巢発育別に新たなモデルが構築された。成熟卵を持つ個体に対する解析では、36 コロニー中 27 コロニーでサンプルが 1 つしか得られなかったため、コロニーの影響をランダム要因として組み込むができず混合モデルを利用できなかった。そこで 2 サンプル以上あるコロニーからは、ランダムに 1 サンプルを抽出し解析した。IRL はランダム誤差の正規性を保証するために、対数変換された。そして、一般化線形モデル(GLM)が R の “lm 関数” を用いて行われた。一方、成熟卵を持たない個体に対しては、R の “lme4” パッケージを用いて混合モデルで解析が行われた。

年により、卵巢発育と脂質蓄積量の傾向に違いが見られ、その原因を探るために、コロニーサイズと羽化個体の体サイズの年の違いを調べた。2016 年と 2017 年に採集されたコロニーのサイズ(採集時の育房数)と使用した個体の体サイズを反応変数として一般化線形混合モデルを用いて、年の影響を調べた。採集年とブルードを固定要因として、コロニーをランダム要因としてモデルに組み込んだ。解析は NCSS (version 11, NCSS Statistical Software, Kaysville, UT, USA)を用いた。

3.4.3 結果

ブルードと成虫期日長との間の交互作用が卵巣発育に対して有意に影響した (Table 7)。この交互作用の機構を説明するために、成虫期日長別とブルード別に分けて解析を行った。成虫期の日長別に分けて解析したとき、長日下では体サイズは卵巣発育に対して有意に影響し、大きいメスほどより成熟卵を持つ個体の割合が高かった (Fig. 15, Table 7, Fig. 16 も参照)。そして、ブルードも年の影響も有意であった。2017 年は 2016 年より全体的に成熟卵保有個体割合が高かった。これらの結果は、未成熟期のカーストに関連した偏りが年で異なる可能性を示唆する。しかし、短日下ではそのような傾向は見られなかった。

一方、ブルード別に解析が行われたとき、第 2 ブルードの前期と後期、そして第 3 ブルードでは、卵巣発育は有意に成虫期日長の影響を受けた (Fig. 17, Table 8) が、第 1 ブルードで、成虫期日長の影響は有意でなかった (Table 8)。第 1 ブルードにおいて日長の影響の傾向は年によって異なり、2017 年は 2016 年より成熟卵保有個体の割合が多かった。また、いずれのブルードでも体サイズの影響は有意でなかった (Fig. 16, Table 8)。しかし、体サイズと年との交互作用が第 1 ブルードで見られた (ただし、有意に近いが有意でない, $P = 0.068$)。そのため、年別に解析を行ったが、両年とも体サイズ、日長、その交互作用に有意性は見られなかった (すべて $P > 0.095$)。また、第 2 前期ブルードにおいても成虫期日長と大きさとの交互作用が見られたため、長日と短日別に解析を行ったが、体サイズ、年、その交互作用に有意性は見られなかった (すべて $P > 0.12$)。

脂質蓄積量 (IRL) の解析では、卵巣発育 (成熟卵の有無) と年との交互作用が脂質蓄積量に対して影響した (Table 9, 有意ではないが、有意に近い, $P = 0.063$)。そのため、成熟卵の有無別に分けて統計解析を行った。成熟卵を持つ個体において、全ての説明変数は有意な影響を示さなかった。一方、成熟卵を持たない個体において、短日下では長日下より多くの脂質を蓄積した (Table 9, Fig. 18,

Table 7 Statistical results for the proportion of adults with mature eggs: *P* values for each factor and interaction

Factors ^a	All wasps			Short day length ^b			Long day length ^b		
	<i>X</i> ²	df	<i>P</i>	<i>X</i> ²	df	<i>P</i>	<i>X</i> ²	df	<i>P</i>
A	5.2	1	0.023	—	—	—	—	—	—
HW	Not convergence			1.5	1	0.226	4.7	1	0.030
B	Not convergence			5.9	3	0.119	24.4	3	<0.001
Yr	14.2	3	0.003	4.6	1	0.031	11	1	0.001
A*HW	5.4	1	0.021	—	—	—	—	—	—
A*B	16.4	3	0.001	—	—	—	—	—	—
A*Yr	0.1	1	0.731	—	—	—	—	—	—
HW*B	3.5	3	0.316	1.4	3	0.717	5.6	3	0.134
HW*Yr	0.3	1	0.582	0.2	1	0.643	0.5	1	0.463
B*Yr	3.4	3	0.339	1.8	3	0.611	3.5	3	0.324

^a A, photoperiod during the adult stage; HW, head width; B, broods; Yr, Years

^b Since the interactions (A*HW and A*B) was significant, analysis was performed separately for short and long day length

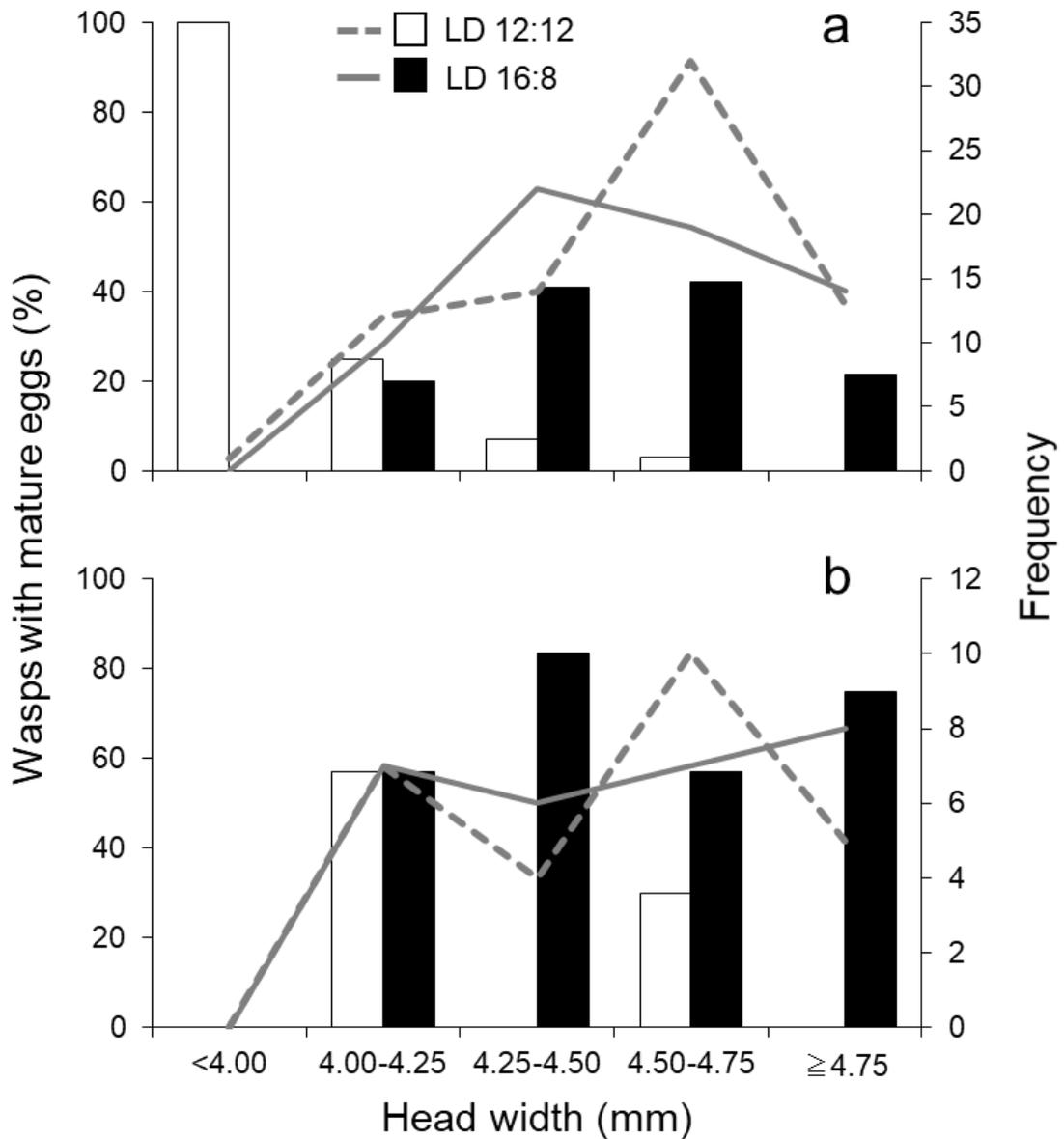


Fig. 15 Effects of body size (head width) and the photoperiod during the adult stage on egg maturation (proportion of female adults with mature eggs) in 2016 (a) and 2017 (b). Data (bars) are the proportions of female adults with mature eggs classified by their head width. The distribution of head widths is also shown separately for wasps under short and long days (lines).

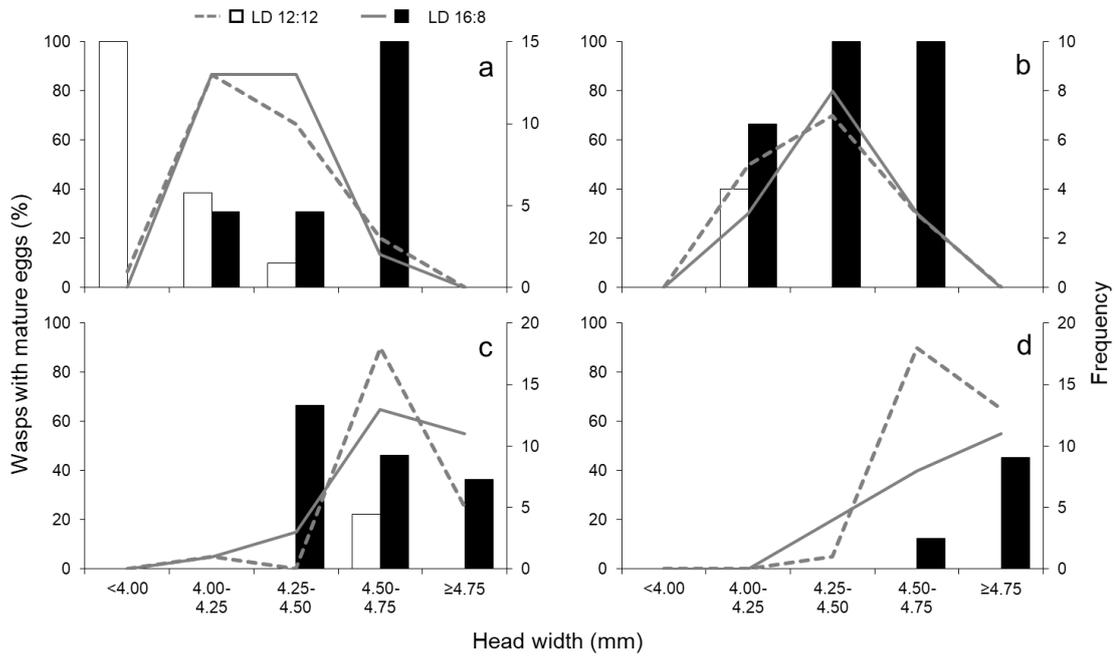


Fig. 16 Effects of body size (head width) and the photoperiod during the adult stage on egg maturation (proportion of female adults with mature eggs) in first (a), early-second (b), late-second (c), and third (d) broods. Data (bars) are the proportions of female adults with mature eggs classified by their head width. The distribution of head widths is also shown separately for wasps under short and long days (lines). Data come from 2016 and 2017 combined

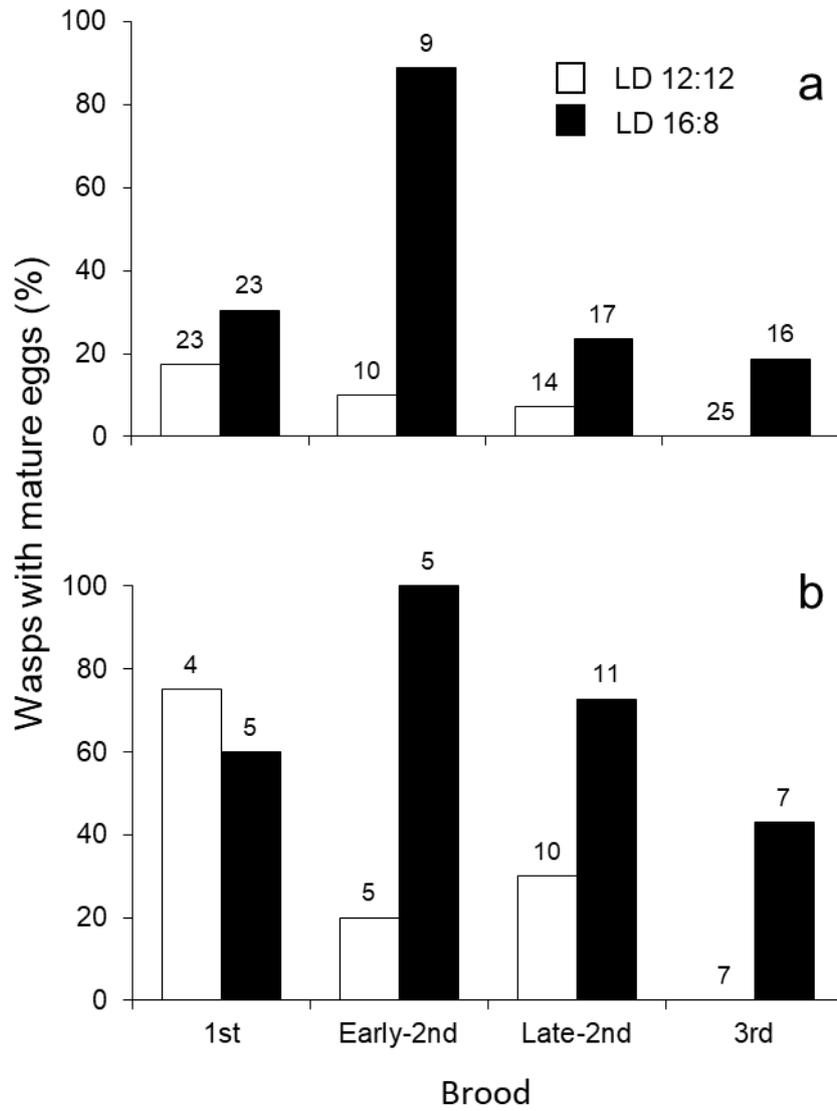


Fig. 17 Effects of broods and the photoperiod during the adult stage on egg maturation (proportion of female adults with mature eggs) in 2016 (a) and 2017 (b). Data (bars) are the proportions of female adults with mature eggs classified by broods. Numbers on the bars are sample sizes.

Table 8 Statistical results for the proportion of adults with mature eggs: *P* values for each factor and interaction

Factors ^a	Broods											
	1st			Early-2nd			Late-2nd			3rd		
	<i>X</i> ²	df	<i>P</i>									
A	1.0	1	0.312	21.9	1	<0.001	6.3	1	0.012	11.8	1	0.001
HW	0.1	1	0.740	0.0	1	1.000	0.2	1	0.620	2.9	1	0.088
Yr	6.1	1	0.013	0.5	1	0.485	2.2	1	0.138	2.3	1	0.129
A*HW	1.1	1	0.292	4.3	1	0.038	0.0	1	0.857	0.0	1	1.000
A*Yr	0.0	1	1.000	1.1	1	0.290	0.2	1	0.650	0.0	1	1.000
HW*Yr	3.3	1	0.068	0.5	1	0.476	0.0	1	0.995	0.0	1	1.000

^a A, photoperiod during the adult stage; HW, head width; Yr, year

Table 9 Statistical results for the IRL

Factors ^a	All wasps ^b			Wasps without mature eggs ^c			Wasps with mature eggs ^c		
	<i>X</i> ²	df	<i>P</i>	<i>X</i> ²	df	<i>P</i>	<i>F</i>	df	<i>P</i>
A	8.7	1	0.003	7.7	1	0.006	0.9	1, 30	0.362
HW	0.4	1	0.513	6.9	1	0.009	2.2	1, 30	0.147
B	17.4	3	0.001	16.8	3	0.001	0.1	1, 32	0.968
EM	0.9	1	0.343	-	-	-	-	-	-
Yr	11.0	1	0.001	8.5	1	0.004	2.1	1, 30	0.162
A*HW	3.0	1	0.081	0.0	1	1.000	0.3	1, 23	0.597
A*B	2.8	3	0.427	1.7	3	0.634	1.0	1, 25	0.382
A*EM	0.1	1	0.818	-	-	-	-	-	-
A*Yr	1.6	1	0.205	2.4	1	0.119	0.1	1, 22	0.753
HW*B	0.3	3	0.958	0.4	3	0.938	0.1	1, 21	0.950
HW*EM	0.4	3	0.938	-	-	-	-	-	-
HW*Yr	0.1	1	0.739	0.0	1	0.996	2.7	1, 26	0.114
B*EM	5.2	3	0.159	-	-	-	-	-	-
B*Yr	2.0	3	0.583	6.4	3	0.092	1.3	1, 29	0.287
EM*Yr	3.4	1	0.063	-	-	-	-	-	-

^a A, photoperiod during the adult stage; HW, head width; B, brood; EM, with or without mature eggs; Yr, year

^b Analysis was performed for all wasps

^c Since interaction (EM*Yr) was nearly significant, analysis was performed separately for wasps with and without mature eggs

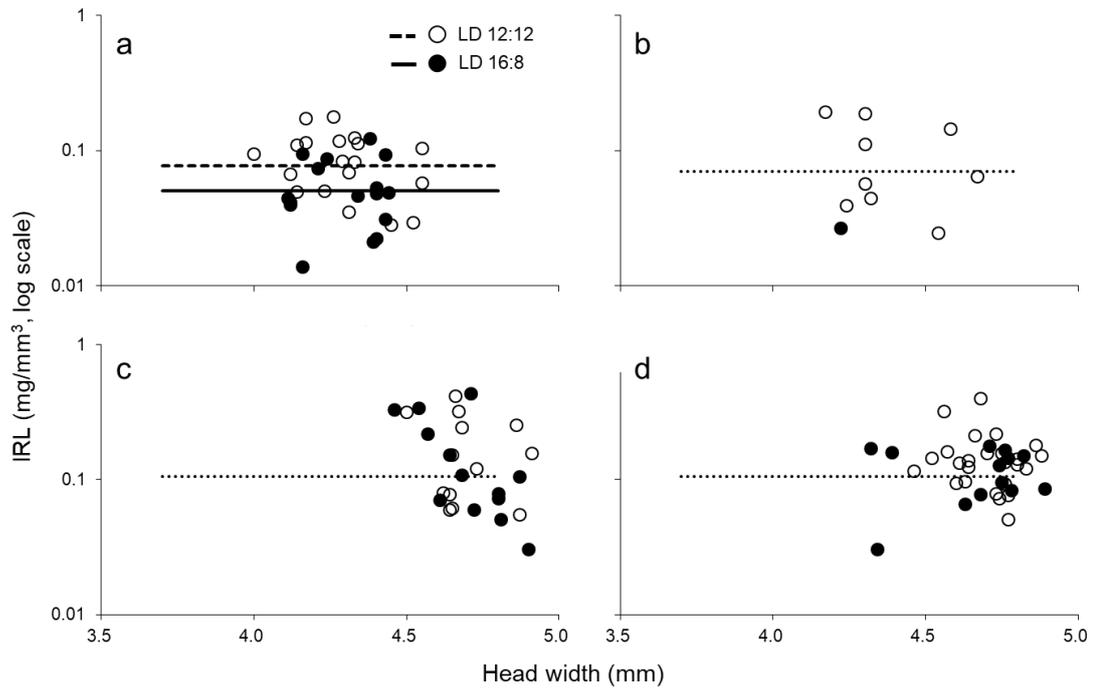


Fig. 18 Relationship between IRL and body size (head width) of wasps without mature eggs in first (a), early-second (b), late-second(c), and third (d) broods in 2016. Lines represent the best-fit linear model (no significant relationship between IRL and body size. Lines (dotted line) in b, c, d indicate short and long day length combined, because significant effect of photoperiod during adult stage was not detected.

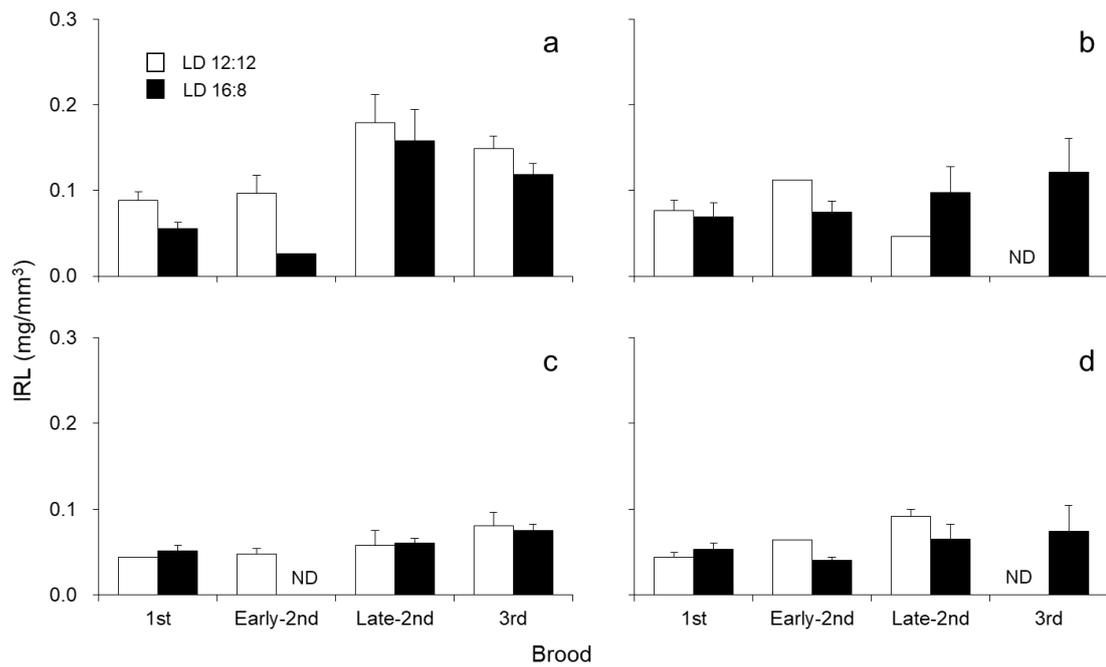


Fig. 19 Effects of broods and the photoperiod during the adult stage on IRL. **a, b**, females without and with mature eggs in 2016, respectively; **c, d**, corresponding females in 2017. Data are mean and SE values. ND, no data.

Fig. 19)。また、体サイズ、年、ブルードの影響も有意であった(Table 9, Fig. 18)。体サイズが大きくなるにともない、IRLも増加した。2016年は2017年より総じて高いIRLを示した(Fig. 19)。さらに、第1ブルード個体は第2後期ブルードと第3ブルード個体より少ないIRLを示した(連続ボンフェローニ多重比較検定, 第1 vs. 第2後期; $P < 0.001$, 第1 vs. 第3; $P < 0.001$, 残りすべて; $P > 0.025$, Fig. 19)。

2017年と2016年の体サイズとコロニーサイズの比較において、2017年の体サイズは2016年より有意に小さかった(Table 10, 一般化線形混合モデル, 年; $F_{1,31.2} = 6.4$, $P = 0.016$, ブルード; $F_{3,29.3} = 20.2$, $P < 0.001$, 交互作用; $F_{3,26.6} = 0.2$, $P = 0.862$)。また、採集したコロニーのコロニーサイズも小さかった(Table 11)が、その差は有意ではなかった(一般化線形混合モデル, 年; $F_{1,34.0} = 1.0$, $P = 0.317$, ブルード; $F_{3,34.0} = 49.4$, $P < 0.001$, 交互作用; $F_{3,31.0} = 0.5$, $P = 0.681$)。

3.4.4 考察

ブルードによって成虫期日長の反応の仕方が異なり、体サイズの影響がなかったことは、アシナガバチが未成熟期(特に蛹期)の日長と羽化後日長との違いを基に季節を把握し、カーストを決定している可能性を強く示唆する。成虫期の長日条件はより卵巣を發育させる繁殖ワーカー型の個体を生じさせた。一方、成虫期の短日条件は卵巣發育の抑制と脂質蓄積の促進を示す新女王型の個体を生じさせた。これは第3.3節と類似した結果であり、羽化後カースト運命決定仮説を強く支持する。

第1ブルードは未成熟期の緩やかな明期期間の増加を経験している。そのため、成虫期の長日経験をすると、冬になるまでの時間に猶予があると判断し、繁殖ワーカーになることを決定しているだろう。第2前期ブルード個体が成虫

Table 10 Colony size (cell numbers) in 2016 and 2017

Broods	2016		2017	
	No. of cells	(Min-Max)	No. of cells	(Min-Max)
1st	19.7±2.9	(16-24)	21.0±3.0	(18-26)
Early 2nd	37.5±7.9	(23-44)	19.5±2.1	(18-21)
Late-2nd	66.8±30.5	(42-140)	58.3±38.8	(33-103)
3rd	171.3±52.4	(111-206)	143.0	143

Data are mean and SE

Table 11 Head width of emerged adults in 2016 and 2017

Brood	2016		2017	
	Mean \pm SE	(Min-Max)	Mean \pm SE	(Min-Max)
First	4.26 \pm 0.04 ^a	(3.80-4.55)	4.14 \pm 0.09 ^c	(4.06-4.24)
Early-second	4.44 \pm 0.06 ^a	(4.17-4.67)	4.26 \pm 0.14 ^{cd}	(4.09-4.35)
Late-second	4.68 \pm 0.05 ^b	(4.46-4.91)	4.49 \pm 0.11 ^{cd}	(4.01-4.85)
Third	4.72 \pm 0.08 ^b	(4.32-4.89)	4.69 \pm 0.19 ^d	(4.41-4.83)

Different letters indicate a significant difference among broods in the same year (sequential Bonferroni multiple comparison test, $P < 0.05$)

期に長日を経験した場合も同様であろう。とりわけ、9割の個体が成熟卵を持ったことから、未成熟期と成虫期との期間の長日の連続は強い効果を持つのであろう。一方、未成熟期に緩やかな明期期間の減少を経験している第2後期と第3ブルード個体が成虫期に短日を経験すると、季節が冬に近づいていることを感知し、卵巣発育を抑制する。対して、第2後期、第3ブルードが成虫期に長日を経験する場合、未成熟期の日長の変化と成虫期日長との間の季節情報は背反する。このような場合、個体自身が置かれている季節の判断がつかね、卵巣発育への反応が遅れるのかもしれない。同様に、第1ブルード個体が成虫期に短日を経験する場合も、季節情報の背反を生じる。短日条件は個体の卵巣発育を抑制する傾向にある(第3.3節)にもかかわらず、第1ブルードの多くの個体が成熟卵を保有した。第1ブルードが未成熟期に経験する日長の増加が未成熟期のカースト決定の偏りを産み出すのかもしれない。

年も有意にカースト決定に影響していた。この原因として、2017年は2016年より第1ブルードの体サイズが小さかったことが挙げられる。これは、2017年のコロニーの栄養状態が悪かった可能性を示唆する。そのため、2017年には第1ブルードにおいて、羽化時の脂質蓄積量が少なく、短日下においてもより卵巣を発育させやすい傾向にあったかもしれない。このことは、第1ブルードで見られるカースト決定における偏りが幼虫時の栄養を反映している可能性を示唆する。ただし、成熟卵を持った個体の割合に対する各要因の解析では、体サイズの影響はみられなかった。また、第2、3ブルードでは年による体サイズの差はなかったが、年の差があった。これらと前節の結果から考えると、蛹期の日長の影響が強いと考えられる。今後、各ブルードで(特に第1ブルード)、餌供給量を変化させ羽化成虫の大きさを変える、あるいは、幼虫・蛹期の日長を操作することによって、体サイズと幼虫・蛹期日長のどちらが未成熟期の偏りを生み出すのにより強く影響するのを実験的に評価する必要がある。また、年によって差があったことは、女王が餌供給を制限して第1ブルードをワーカーになりやすくしているという考えを否定する。第1ブルードは、女王からワ

一カー決定における制御を受けているのではなく、自分自身はその年々の日長の変化あるいは幼虫時の餌供給量に応じて、どのカーストになるかを決定しているのかもしれない。

長日下においては体サイズが大きくなるにつれて成熟卵を持つ個体の割合が高くなった。体サイズが大きい個体は羽化時の脂質蓄積量がより多いことが第 3.1 節で明らかとなった。そのため、羽化個体をワーカー型に向ける長日条件下で、羽化時により多くの脂質(貯蔵エネルギー)を持つ個体がより早く卵巣を発育させたと考えられる。この結果は、前節の結果から予想していたものと大きく異なっている。前節において、長日下でも小さい個体ほど成熟卵を持ちやすい傾向があった。この傾向の違いは、未成熟期にすごした環境の違いから生じているかもしれない。前節では未成熟期を室内飼育環境下で過ごしており、羽化時の体サイズと脂質蓄積量との関係が野外で見られるものと一致しているのかは分からない。そのため、第 3.1 節で明らかとなった羽化時の体サイズと脂質蓄積量との関係を室内飼育環境下で過ごした個体を用いて、今後、調べる必要がある。

この研究は、Bohm (1972)の結果とは異なった。Bohm の結果は 7 月と 8 月に採集された個体は、成虫期日長の影響を受けないことから、未成熟期のカースト決定因子の存在を支持する。しかし、本節ではいずれの採集時期(ブルード)においても成虫期日長が影響することを示した。この違いは、実験手順のわずかな違いから生じているかもしれない。本研究では、タンパク源のエサとして鱗翅目幼虫を用いた。これは、野外で *Polistes* 属がエサとしている昆虫の一種である。一方、Bohm (1972)は牛血清を与えており、一部の個体はエサとして認識していなかった可能性が考えられる。近年、O'Donnell et al. (2018)は、卵巣を発育させる個体は成虫期に動物質のエサを食べていたことを示した。つまり、Bohm (1972)の実験では炭水化物に偏った採餌が行われており、結果として卵巣発育に至らなかったと考えられる。しかし、一部の個体(特に 6 月に採集された個体)は成熟卵を持っており、羽化時に蓄えた脂質を用いて卵巣を発育さ

せたのかもしれない。今後、成虫期のエサ質が日長反応に及ぼす影響を調べる必要がある。加えて、実験対象種の違いも考えられる。本実験で用いられたセグロアシナガバチは *Megapolistes* 亜属に分類され旧世界に分布する。一方、Bohm (1972)で用いられた *P. metricus* は *Fuscopolistes* 亜属に分類され、新世界に分布する。現在、アシナガバチにおける日長の影響を調べた研究はこれら2種でしか行われていない。そのため、様々な種を用いて、亜属内、旧世界と新世界間での比較研究が求められる。

第4章 女王位維持の機構

4.1 はじめに

序論で述べたように、化学物質を介した繁殖制御は高次真社会性グループ全体にわたって用いられている普遍的な特性である。一方、原始真社会性グループの女王は、化学物質よりむしろ、物理的な攻撃(噛みつき、突進、追いか、マウンティング)を用いてこれらを達成していると考えられてきた(van Doorn and Heringa 1986; Monnin and Peeters 1999; Jandt et al. 2014)。特に、原始真社会性昆虫において、攻撃は女王も含むコロニーメンバー間の優劣順位を構築、維持するために用いられている。高順位の個体の優位行動頻度は高い(Reeve 1991; Monnin and Peeters 1999)。そして、原始真社会性昆虫の女王(もしくは女王位継承個体)は、コロニーメンバ内で最も攻撃を行い、優劣順位の最高位に位置し、繁殖を独占する(e.g., Pardi 1948; Strassmann and Meyer 1983; Reeve 1991; Ishikawa et al. 2011)。さらに、攻撃は優劣順位で直下の個体に対して向けられる(Reeve 1991; Cant et al. 2006; Ishikawa et al. 2010)。

近年、表皮炭化水素もしくは顔模様パターンはいくつかの種で好戦性を伝達するシグナルとして機能していることが報告され、順位を巡る戦闘に関連するコストを低下させる(Tibbetts and Lindsay 2008; Dapporto et al. 2010a, 2010b; Tibbetts et al. 2010)。しかし、化学的もしくは視覚的なシグナルによる繁殖制御の可能性が示されたにもかかわらず、攻撃は順位制維持のために、より重要な役割を担っている。優位行動によって決定される優劣順位の最優位個体は産卵を独占する。Dapporto et al. (2010a)は、優位行動を優しい攻撃行動(おそらく、表皮炭化水素の化学組成を確認している)と、厳しい攻撃行動とに分けたが、両方の行動の区別は容易でない場合も多いと考えられる。

しかし、攻撃によって決定する優劣順位は繁殖に関する優劣順位と異なるかもしれない(Röseler 1991)。前者の優劣順位を社会的優劣順位、後者の優劣順

位を繁殖的優劣順位とする。繁殖と社会的優劣順位間のそのような違いはアシナガバチ亜科 Polistinae のナンヨウチビアシナガバチ *R. marginata* とヤマトアシナガバチ *P. japonicus* で発見された (Chandrashekara and Gadagkar 1991; Sumana and Gadagkar 2003; Ishikawa et al. 2011)。これら 2 種の女王はおとなしく、社会的優劣順位の最優位とはならない。しかし、産卵を独占している。これらの種は、産卵能力のシグナルを伝達することによって女王の地位を維持していると考えられる。*R. marginata* の女王は女王位を維持するためにフェロモンを用いて (Mitra 2014) おり、これは産卵能力を示す正直なシグナルであると考えられる。*P. japonicus* の女王も尻振り行動 (Abdominal wagging: *R. marginata* がフェロモンを放出するときの行動に類似している) を行う (Ishikawa et al. 2011) ので、コロニー内で女王位を維持するためにフェロモンを用いているかもしれない。

アシナガバチの社会的優劣順位がワーカー羽化前の創設女王間もしくは女王が消失した後のワーカー間で調べられていることに気づくことは重要である。我々の知るところでは、女王と娘で構成されるコロニー (女王-娘コロニー) を持つ種間で、個々のコロニーメンバー (女王も含む) の優劣順位は以下の 4 種のみ言及された。*Polistes chinensis antennalis* (Morimoto 1961), *Mischocyttarus cassununga* (Murakami and Shima 2010)、そして、上述の *R. marginata* と *P. japonicus* である。ただし、*R. marginata* のコロニーは、単独もしくは数頭の創設女王によって創設するため、数頭の創設女王を含む (Shakarad and Gadagkar 1995); 観察は創設女王が何頭いたのかが分からない巣で行われている。*P. chinensis* と *M. cassununga* の創設女王は社会的優劣順位の最優位となる。

もし、アシナガバチで見られるような女王が 1 回交配 (Strassmann 2001) の場合、現在と将来のコロニーメンバー間の血縁度は創設女王間もしくは女王消失コロニーより女王-娘コロニーで高い。さらに、女王-娘コロニーにおける女王は既交尾である。一方、その娘は未交尾 (少なくとも初期ステージ) であり、

メスを生産することはできない；女王が十分に産卵能力を持つ限り、未交尾の娘はコロニーで働くことから利益を十分得る(Bourke and Franks 1995)。女王-娘コロニーのこれらの特徴は、女王と娘間の闘争を物理的攻撃よりむしろ産卵能力の正直なシグナルを用いて解決しやすくなる可能性を示唆する。

おとなしい女王をもつ女王-娘コロニーの種がどれくらいの頻度で見られるのか、そして、これらのコロニーで女王がおとなしいのか、あるいは攻撃的であるのかはどのように決まるのかを調べることは興味深い。これらの疑問は、多くの種で女王-娘コロニーの優劣順位の特徴を調べることで答えられるだろう。それにより、アシナガバチ亜科における女王位の確立と維持のための機構の進化のより深い理解を得られるであろう。

本章ではセグロアシナガバチの女王-娘コロニーの女王位を維持するために用いられている機構を調べた。特に、女王位維持が、攻撃に基づいて決定している優劣順位によって達成されているかどうかを調べた。セグロの女王はたいがい単雌創設の独立創設である(Kasuya 1981)。Miyano (1991)は、女王-娘コロニーにおいて女王は攻撃的でないことを観察した。しかしながら、この研究の観察期間は4時間のみであり、女王は産卵をしなかった。加えて、ワーカーは他のコロニーから導入した個体であった。それゆえに、女王とワーカー間の相互作用を解明するためにさらなる観察が求められる。

この研究の第1の目的は以下の3つの疑問に答えることで、攻撃を用いて女王位を維持しているかを調べることである。(1)女王は最も攻撃的であり、攻撃によって決まる社会的優劣順位における最優位個体であるか？(2)女王は社会的優劣順位の最優位ワーカー(女王消失後に主な産卵個体となる[Miyano 1991])に対して主に攻撃を行うのか？(3)女王は独占的(もしくは優先的)に産卵を行うのか？さらに、優劣順位と羽化順との間の関係を明らかにしようとした。なぜなら、温帯性のアシナガバチは老齢ワーカーがより優位個体となるからである(Tsuji and Tsuji 2005)。結果で示されるよう、女王がおとなしいにもかかわらず、産卵を独占もしくは優先的に行うことを示した。そのため、さらに、

女王の産卵能力の正直なシグナルとして機能する可能性のある行動を取り上げ、その頻度と産卵頻度との関係を調べた。

4.2 材料と方法

三重大学構内で5年間にわたり4コロニーを観察した。それぞれ観察したコロニーは、Colony 3 (2010年)、Colony 5 (2011年)、Colony 6 (2013年)、Colony 9 (2014年)である (Table 12)。ただし、Colony 3 と Colony 5 に関して、観察の全てと行動解析の一部は山田純一氏によって行われた。観察したコロニーの番号は年ごとに発見された順につけられたが、多くのコロニーは繁殖成虫の出現以前に崩壊してしまい、結果として上記のコロニー番号となった。観察は第1ワーカーが羽化後から始められた。初期ステージのコロニーでは女王とワーカー間を体サイズ、翅の破れ具合、膨腹部の黄紋のサイズ (初期に羽化したワーカーは女王より小さい紋を持つ; 吉村と山田, 未発表) によって容易に識別が可能である。Colony 3 と Colony 9 は向かい合う2面が網で覆われたキャンプ用テント (天井部分が湾曲した三角錐型, 2.0 m × 1.5 m × 1.3 m) 内で飼育された。Colony 3 では、テントの窓部分は閉鎖されており、十分量のハチノスツヅリガ幼虫、ハチミツ、水、巣材として乾燥した木材が給餌された。Colony 9 では、テントの窓を開け、自由に外役活動が行えるようにした。Colony 5 と 6 はガラス室内に自然営巣したコロニーであった。これら3コロニーに対して、ハチミツと水が巣の近くに置かれた。個体は異なる色の背景で番号の書かれた写真紙の小片を中胸背板に瞬間接着剤 (Aron Alpha® jerry type, Toagosei, Osaka, Japan) を用いてつけた。軽くするため、その小片は裏面の紙部分を限りなく取除いて貼り付けた。巣上での個々の個体の行動はデジタルビデオカメラ (HDC-TM 35 もしくは V700M, Panasonic, Osaka, Japan) を用いて、毎日朝6時から夕方6時まで、第1ワーカー羽化後もしくはコロニーを発見した後から各年の8月20日まで撮影した。ビデオ撮影は強風や強雨の時には行わなかった。ビデ

Table 12 Information on colony development and analysis periods

Colony	Date of first worker emergence or colony discovery	Date of first male emergence	Date of queen disappearance	Analysis period	Total analysis time (h)	Observation dates	Number of workers on each observation day
3	June 22 (2) ^a	August 4	August 3	1	17	July 4, 6, 7, 9, 16	5
				2	30	July 18, 20, 22, 24, 25	6 or 7
				3	29	July 26, 27, 28, 29, 30	7 or 8
5	July 3 (4) ^a	- ^b	August 16	1	12	17-Jul-18	4
				2	11	28-Jul-30	7 or 8
				3	12	12-Aug-14	12
6	June 24 (4) ^a	August 11	July 21	1	7.7	3-Jul-05	3
				2	15.1	July 7, 9, 11	3
				3	5.2	15-Jul-17	3
				4	8.5	July 18, 19, 20	3
9	June 11	October 9	July 18	1	24	June 16, 17, 19, 21	8 or 10
				2	24	June 23, 25, 27, 29	12
				3	20	July 1, 4, 5, 6	12
				4	17.5	July 15, 16, 17	9

^a Some workers had already emerged when the colony was discovered. Numbers in parentheses indicate the numbers of workers when colonies 3, 5, and 6 were discovered.

^b The colony collapsed due to an ant attack on August 16, just before the reproductives were assumed to emerge.

オ解析はコロニーが女王とワーカーで構成される共同営巣期(Reeve 1991)に行われた。コロニーメンバーができる限り同じであるいくつかの期間(4~7日)を設定し、その期間の2~5日を解析した(通常1日おきに)。ビデオ解析は6時間(通常、午前11時から午後5時)行われた。一部、悪天候等で撮影継続して撮影できなかったときは6時間に達しなかった。

優位行動、産卵、外役行動がビデオ観察から記録され、それらの時間あたりの頻度が計算された。優位行動は、噛みつき、突進、追いかけを含む。噛みつきは、大顎で一部分を噛む(通常、頭部である)。対象物に対する突進は、結果として頭部の一部が対象物に接触するときもある。追いかけは対象個体が突進から逃げるときに起こる行動である。突進と追いかけは識別が難しいときが多いため、同じ行動として記録した。コロニーメンバー以外の個体に対してマウンティング(対象個体に馬乗りになる行動で、同時に激しい噛みつき行動を伴う場合がある)が観察されたが、同巣内のコロニーメンバーに対しては行わなかった。優位行動を行った個体と受けた個体が記録された。メス個体は膨腹部を育房に挿入し、育房壁に卵を産み付ける。観察中、膨腹部を挿入しているにもかかわらず、産卵されなかったメス個体を確認した。172回の産卵行動で、膨腹部の挿入後に卵が産まれたか否かを確認することができた。産卵が確認できた41回のうち38回は膨腹部を挿入する継続時間が120秒以上であった。一方、残りの131回の行動では産卵が確認されず、継続時間は120秒未満であった。このことから、実際に産卵されたか否かを確認できない場合でも、120秒以上の継続時間を示した行動を産卵成功と仮定した。

腹部横振動、羽ばたき突進、腹部擦り付けは産卵能力を示すシグナルの候補行動として記録された。そして、産卵行動頻度との関係を解析した。腹部横振動は、約1秒間に膨腹部を素早く左右に振動させる行動である。羽ばたき突進は、巣上を羽ばたきながら次から次へと突進していく行動である(1つの行動は最大362秒継続したが、ほとんどは120秒未満であった)。そして、腹部擦り付け行動は、1つもしくは複数の育房を次から次へと膨腹部先端を擦りながら

歩行する行動である(1つの行動は1-33秒継続したが、ほとんどは10秒未満であった)。

各行動の時間あたりの頻度は1日に確認された行動頻度をその個体が巣上にいた時間で割った値である。つまり、1日の解析時間から外役に出た時間を差し引いた値である。

優劣順位は2つの方法で決定された:(1)優位指数(DI; Premnath et al. 1990)を計算して、その指数もとに決定。(2)巣上の個体の全てのペアで対戦表を作成し、勝ち数と負け数をもとに決定(Ishikawa et al. 2010)。対戦表を用いたとき、ペア間で相手に対してより高頻度で優位行動を示した個体が優位であると仮定した。対象個体の順位は、その個体より劣位の個体の数をもとに算定した。これら2つの方法は優劣順位の違いを示すかもしれないが、結果で述べるように、この違いは極めて小さかった。優劣順位の算定で、異なる種類の優位行動はその違いによって重み付けしけなかった。

女王によって行われた5つの行動(優位行動、産卵、羽ばたき突進、腹部横振動、腹部擦り付け)の時間あたりの行動頻度は、コロニー内のワーカー内で対象となっている行動を最も高頻度に行った個体と比較された。階層ウィルコクソン符号順位検定(ペアになったサンプルに対して正確確率検定)が用いられ、コロニーは層別変数(stratum variable)としてモデルに組み込んだ。なぜなら、データは正規分布をとらないからである。コロニー発達によって結果は異なる可能性があるため、観察日を前期と後期(女王消失の2週間前か後か)に分け、両者の対象行動の日当たり頻度を比較した。比較は、層を持つ2つの独立したサンプルに対して正確ランダム化検定(exact permutation test)を用いた。さらに、女王が最優位ワーカーに対して、もしくは最も高頻度で優位行動を行ったワーカーに対してより集中的に優位行動を向けているかを、観察された頻度を他のコロニーメンバーにランダムに行っていると仮定したとき得られる頻度($1/\text{観察されたコロニーメンバー数}$)の確率で他個体に優位行動を向ける)と比較した。この比較には二項検定を用いた。

優劣順位と羽化順との関係は、解析期間を層別変数として組み込んだ一般化コ克蘭・マンテル・ヘンツェル検定を用いて各コロニーについて解析した。そして、P 値は正確確率検定法で計算された。この解析は、各コロニーで全解析期間を通して関係性が存在するかどうかを明らかにする。同日に羽化したワーカーとコロニーを発見した時点で羽化していたワーカーは、同じ羽化順が割り当てられた(羽化順の平均値)。優劣順位と羽化順は、その期間に存在する全個体数の影響を除くために、以下の式で計算される相対優劣順位もしくは相対羽化順とした。

(対象個体に割り当てられた優劣順位もしくは羽化順 - 1) / (ワーカー数 - 1)

上記の式の値が 0 であるとき、最優位もしくは最老齢を示す。一方、値が 1 であるとき、最劣位もしくは最若齢を示す。

二項検定については NCSS (version 11, NCSS Statistical Software, Kaysville, UT, USA)、それ以外は StatXact 10 software (Cytel, Cambridge, MA, USA)を用いて行われた。必要な場合には、統計学的有意性はホルムの連続ボンフェローニ多重比較検定法(Holm 1979)を用いて評価された。

時間あたりの産卵行動頻度と時間あたりの腹部横振動頻度、腹部擦り付け行動頻度、羽ばたき突進行動頻度との関係も調べた。この解析は、(1)各コロニーの女王と(2)全コロニーメンバーに適用した；(2)の解析は腹部横振動には適用しなかった。なぜなら、女王のみが行ったからである。解析は一般化線形混合モデルを用いて行った。対象行動の頻度は固定要因としてモデルに組み込まれ、コロニーと個体(コロニーにネストされている)はランダム要因(対象行動の頻度に対する傾きと切片あるいは切片のみをランダム変数とした；どちらを用いるかは AIC 値に基づいて決定した。結果として、女王の羽ばたき突進の解析以外では、後者が用いられた)として組み込まれた。一般化線形混合モデル解析は R (version 3.4.3; R Foundation 2017)中の“lme4”パッケージを用いて行った。

産卵と対象行動頻度間に有意な関係が検出されないとき、さらに対象行動を行った個体が行わない個体より産卵しているかどうかを調べた。我々は、対象

個体が対象行動を行った日の中で産卵した日の割合(r)と対象個体が対象行動を行わなかった日の中で産卵した日の割合(r')を比較した。この解析は女王と全コロニーメンバーの両方に対して行った。残念だが、この解析でいずれの場合でも有意な違いは検出されなかった: メスがその日に対象行動を行ったとしても、その日に産卵することを必ずしも示すというわけではなかった。そこで、調査期間 4 日と設定し、その 4 日のうち少なくとも 1 度でも対象行動を行ったメスについて、少なくとも 1 度でも産卵を行ったメスの割合(s)と 4 日間で対象行動を 1 度も行わなかったメスについて、産卵を行わなかったメスの割合(s')を比較した。もし、違いが検出されるならば、対象行動を行ったその日に産卵する(もしくは、産卵しない)かもしれないが、対象行動を行った個体が行わなかった個体より産卵しやすいことを示す。

上述の 2 つの解析で、差の有意性は、コロニーもしくは個体間で、オッズ比 $r/(1-r):r'/(1-r')$ もしくは $s/(1-s):s'/(1-s')$ の均一性を確かめた後に正確確率値を計算することによって評価した(つまり、異なる個体もしくは異なるコロニーの個体が対象行動を行うとき、それらの個体が同一の率で産卵しやすいことを確認した後)。個体番号もしくはコロニーは層別変数として組み込まれ、SatXact[®] software を用いて解析した。

4.3 結果

4.3.1 コロニーの特徴

総育房数とワーカー総数はそれぞれ 36 から 48 育房と 11 から 22 頭であった(Table 12)。1 頭もしくは数頭の繁殖個体(オスと新女王、つまり第 1 オス羽化後に羽化したメス)が Colony 5 を除く各コロニーで羽化した。Colony 5 は、繁殖個体羽化前にアリによって攻撃を受け崩壊してしまったため、繁殖個体が

羽化しなかった。Colony 3 で、女王はオス羽化後に消失した。一方、Colony 5、6、9 ではオス羽化前に消失した (Table 12)。Colony 5 では巣が崩壊したときに女王も消失した。

4.3.2 産卵

女王は、各解析期間中に 0–35 回の産卵行動を行った (Table 13)。一方、Colony 5 を除いて、1 頭から数頭のワーカーがコロニーの発達に伴い産卵を始めた。各解析期間中で最大 11 回の産卵が個々のワーカーによって観察された。しかし、Colony 3 の期間 3 を除いて、ワーカーによる産卵回数は女王による産卵回数より少なかった。コロニー発達の前期では、女王による時間あたりの産卵行動頻度がワーカー間で最も産卵を行った個体より有意に高かった (Fig. 20)。しかし、後期では有意な違いは見られなかった (Fig. 20)。産卵したワーカーはたいてい優劣順位の高位であった。しかし、最優位個体よりむしろ 2 位、3 位のワーカーが最も高頻度で行った (Fig. 21)。

4.3.3 優劣順位

DI もしくは対戦表にもとづいて決定された優劣順位に関係なく、4 コロニーとも各解析期間で女王が最優位個体となることは稀であった (Fig. 22)。DI と対戦表にもとづく 2 種の優劣順位で、ほとんどの解析期間で老齢ワーカーがより優位であった (一般化コクラン・マンテル・ヘンツェル検定: colonies 3, 5, 9, $P < 0.001$ [DI], $P < 0.001$ [standings]; colony 6, $P = 0.056$ [DI], $P = 0.037$ [standings])。しかしながら、最老齢ワーカーはしばしば最優位とならなかった。また、いずれの解析期間中も女王はコロニーメンバー間で最も優位行動を示すことはなかった (Fig. 23); 女王による時間あたりの優位行動頻度は、最も高頻度で優位行動を示すワーカーより有意に低かった (Fig. 20)。高位のワーカーは

Table 13 Colony size and eggs laid

Colony	Total number		Analysis period	Frequency of oviposition	
	Cells	Reproductives ^a		Queen	Workers ^b
3	42	5, 0	1	7	2 (1-1, 4-1)
			2	14	8 (1-5, 4-3)
			3	10	17 (1-5, 4-11, 6-1)
5	36	-	1	0	0
			2	8	0
			3	6	0
6	38	5, 4	1	2	0
			2	2	1 (3-1)
			3	0	0
			4	0	0
9	48	1, 0	1	7	0
			2	11	9 (2-5, 3-1, 6-1, 7-2)
			3	14	16 (2-9, 7-3, 9-4)
			4	35	3 (2-1, 9-1, 10-1)

^a Left, males; right, females. Colony 5 collapsed just before the reproductives were assumed to emerge.

^b Numbers in parentheses are the number of eggs for each ovipositing worker. The numbers before and after each en dash indicate the emergence order of the workers and the frequency of oviposition.

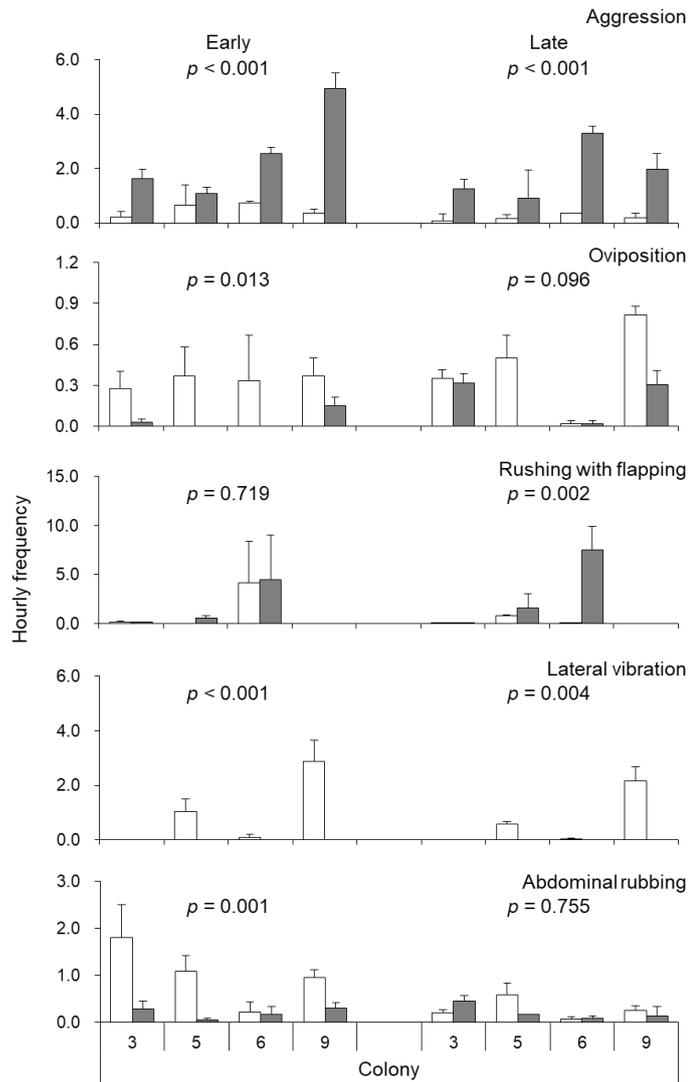


Fig. 20 Comparison of the frequencies of five kinds of behavior between the queen (open) and the worker (gray) that performed the focal behavior most frequently. Comparisons were made separately for the early and late stages of the worker phase. The p values were obtained using the stratified Wilcoxon signed-rank test, and those for comparisons between the early and late stages for each behavior performed by the queen (q) and the worker (w) were as follows: aggression, 0.057 (q) and 0.063 (w); ovipositing, 0.114 (q) and 0.004 (w); rushing with flapping, 0.170 (q) and 0.504 (w); lateral vibration, 0.418 (q); and abdominal rubbing, <0.001 (q) and 0.972 (w) (exact permutation test).

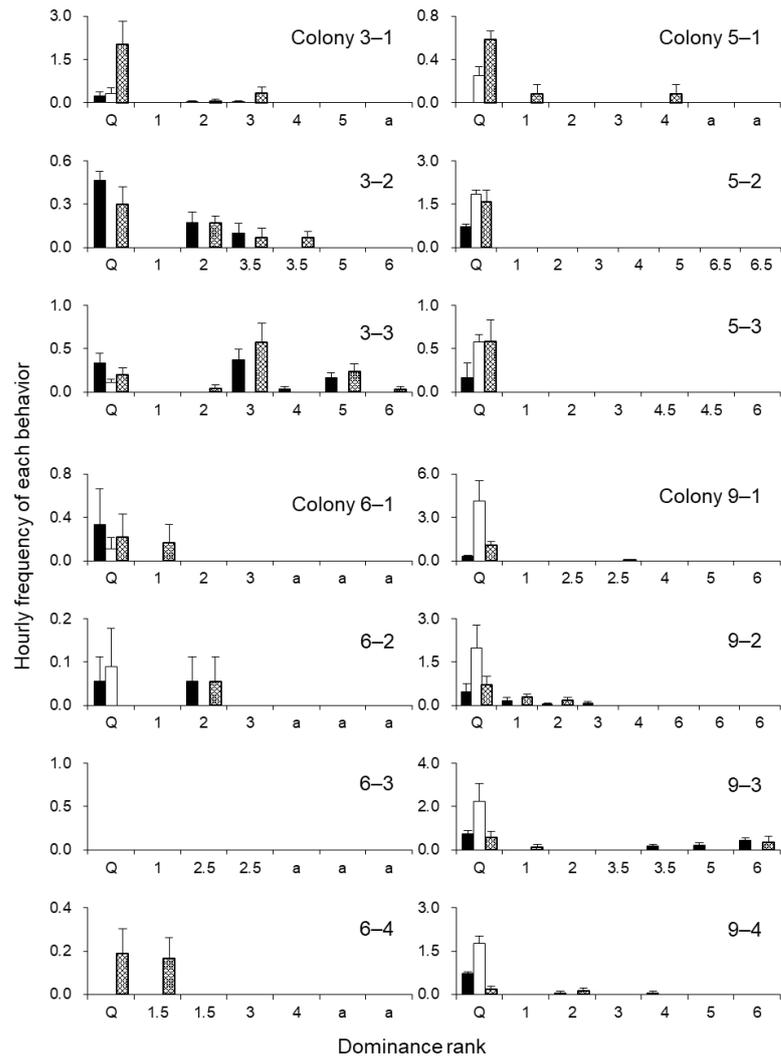


Fig. 21 Hourly frequencies (means and SE values) of ovipositing (solid), lateral vibrations (open), and abdominal rubbing (checked) performed by the queen (Q) and the first- to sixth-ranked workers. Dominance ranks were based on the dominance index (DI). No workers performed lateral vibrations. The number following the colony number indicates the analysis period. The letter “a” on the x-axis indicates no corresponding worker. Seventh- and lower-ranked workers occasionally performed ovipositing and abdominal rubbing: ovipositing, 0.06 ± 0.06 (mean \pm SE) for the eighth-ranked worker during period 4 in colony 9; abdominal rubbing, 0.17 ± 0.00 for the eighth-ranked worker during period 3 in colony 5, and 0.08 ± 0.00 for the eighth-ranked worker during period 1 in colony 9.

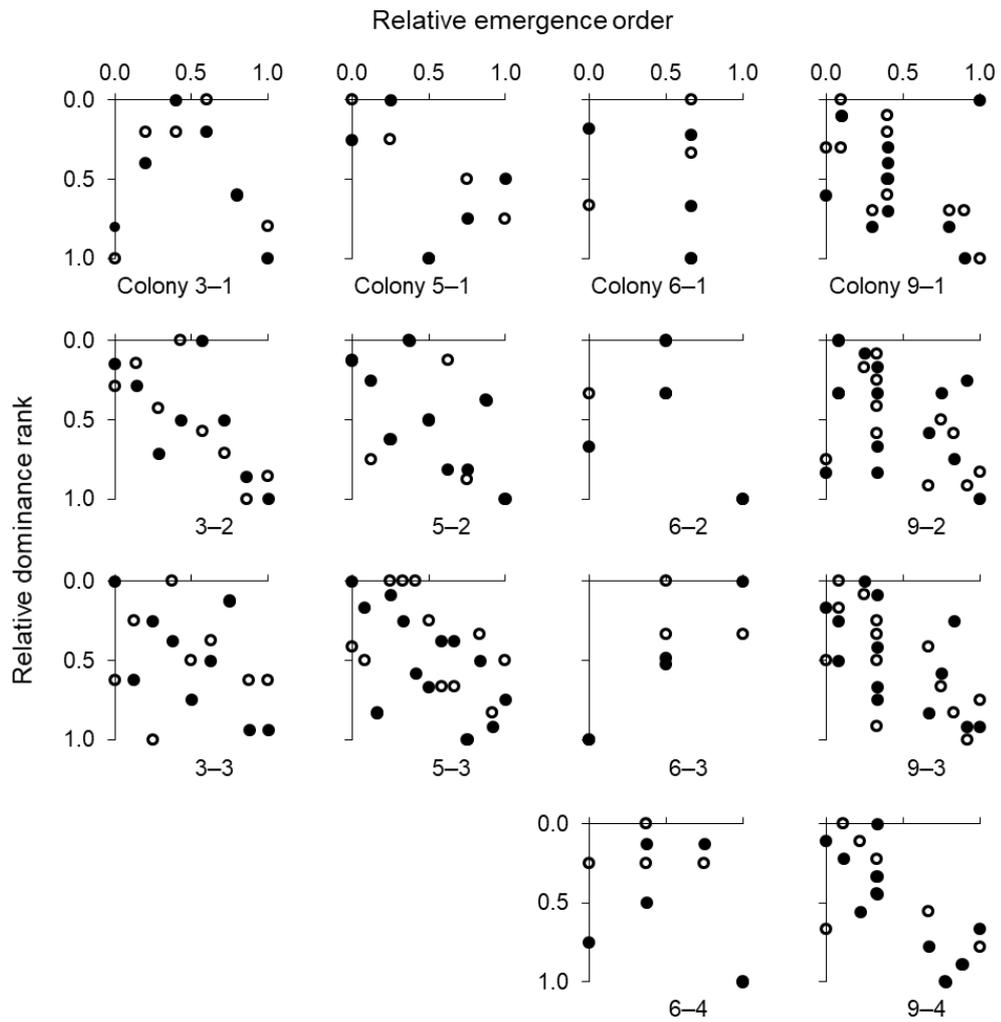


Fig. 22 Relationship between the dominance rank and the emergence order. The dominance rank was based on the dominance index (DI, solid) and standings (open). The dominance rank and emergence order are expressed according to the relative rank or order: the first and last ones are indicated by 0 and 1, respectively. The queen was designated by a relative emergence order of 0.

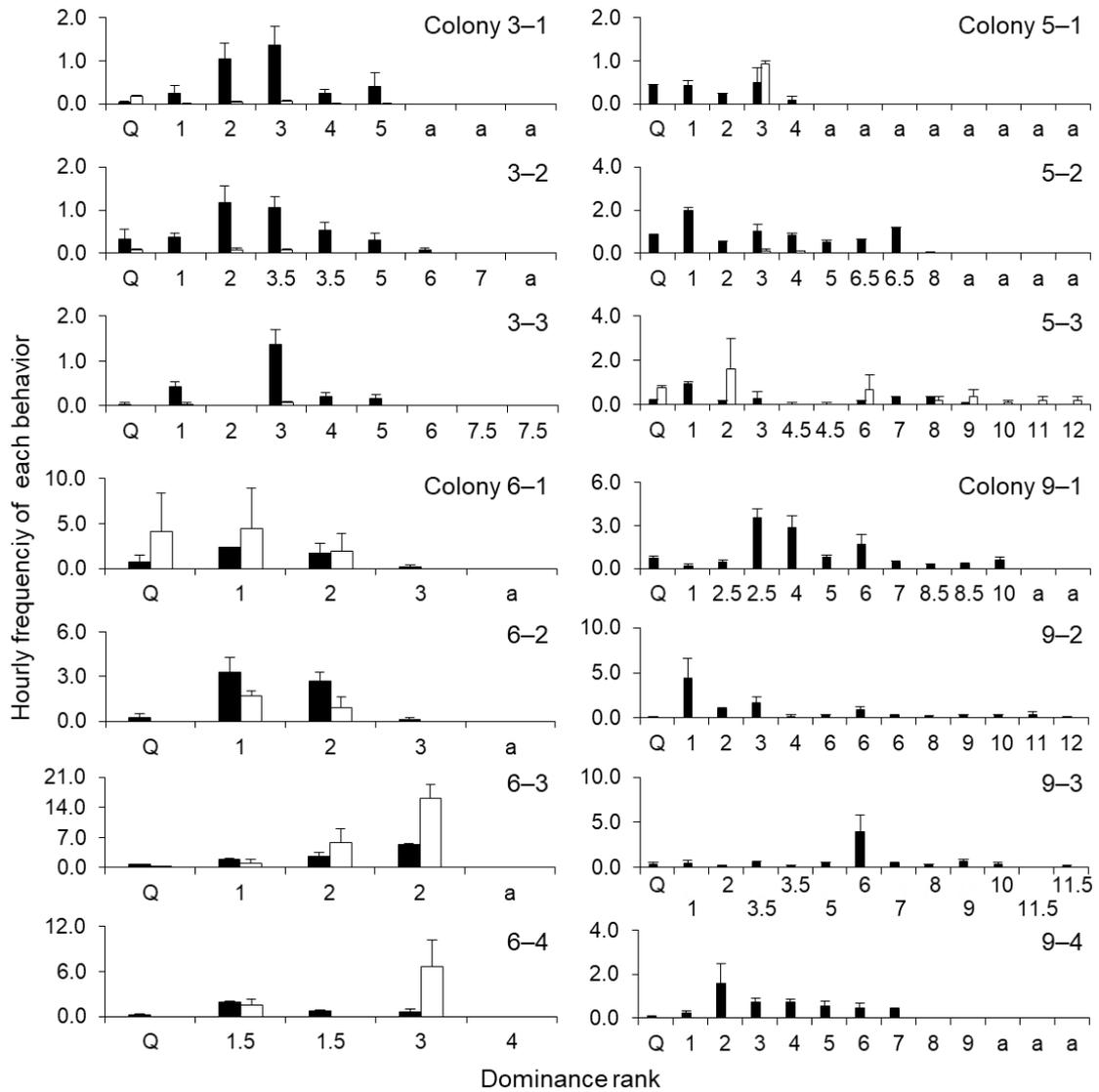


Fig. 23 Hourly frequencies (means and SE values) of aggressive behaviors (solid) and rushing with flapping (open) performed by the queen (Q) and workers, who are ordered according to their dominance ranks based on the DI.

しばしば(常にではないが)、より頻繁に優位行動を行った(Fig. 23)。しかしながら、いずれのコロニーでも、最優位ワーカーはしばしば、最高頻度で優位行動を示さなかった。

4 コロニーのいずれの期間でも、女王は最優位ワーカーに対して優位行動を集中的に示すことは稀であった(Fig. 24)。つまり、DI もしくは対戦表にもとづいた優劣順位に関係なく、優位行動頻度は、全個体にランダムに優位行動を示すと仮定した値と有意に異ならなかった($P > 0.05$, 二項検定; 詳細な統計解析結果はここでは示さない)。1つの例外は Colony 9 の期間 4 である。対戦表で優劣順位を出した場合、女王は全ての優位行動を最優位ワーカーに向けた($P < 0.001$)。ただし、この個体は DI を用いた場合に最優位でなかった。女王は最も優位行動を行っているワーカーに対しても優位行動を集中させなかった($P > 0.05$, 二項検定; 詳細な統計解析結果はここでは示さない)。特に興味ぶかい発見は、女王が優劣順位に関係なく多くのワーカーから優位行動を受けるということである(Fig. 24)。

4.3.4 腹部横振動、腹部擦り付け、羽ばたき突進

腹部横振動は女王のみが行い、ワーカーは一度も行わなかった(Fig. 20)。女王によって行われた時間あたりの産卵行動頻度は時間あたりの腹部横振動行動頻度と有意に関係していた($\chi^2_1 = 6.6$, $P = 0.010$, Fig. 25)。これは、コロニーメンバーは女王の産卵能力を腹部横振動行動頻度によって推定できることを示唆する。

優位ワーカーのいくつかは、女王同様に腹部擦り付け行動を行った(Fig. 21)。コロニー発達段階の初期に女王はこの行動を最も高頻度で行ったが、後期では行わなかった(Fig. 20)。腹部擦り付け行動を行った女王の頻度は産卵行動頻度を反映しなかった($\chi^2_1 = 0.4$, $P = 0.554$; 図は提示していない)。これは、全コロニーメンバーを用いた場合でも同じであった($\chi^2_1 = 0.0$, $P = 0.851$; 図は提示し

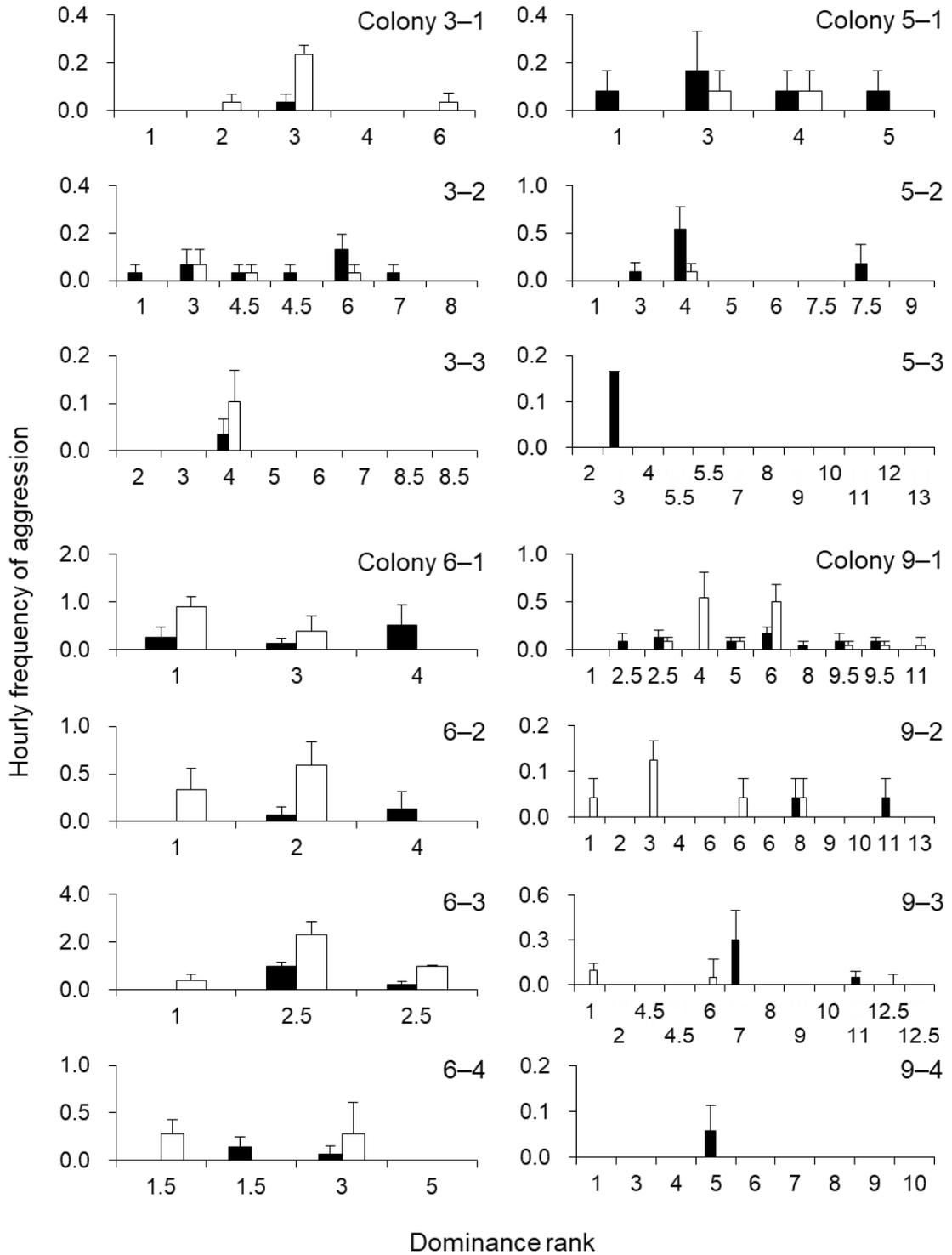


Fig. 24 Hourly frequencies (means and SE values) of the aggressive behaviors that the queen exhibited toward (solid) and received from (open) individual workers, who are ordered according to their dominance ranks based on the DI. The missing dominance rank for each analysis period indicates the queen's rank.

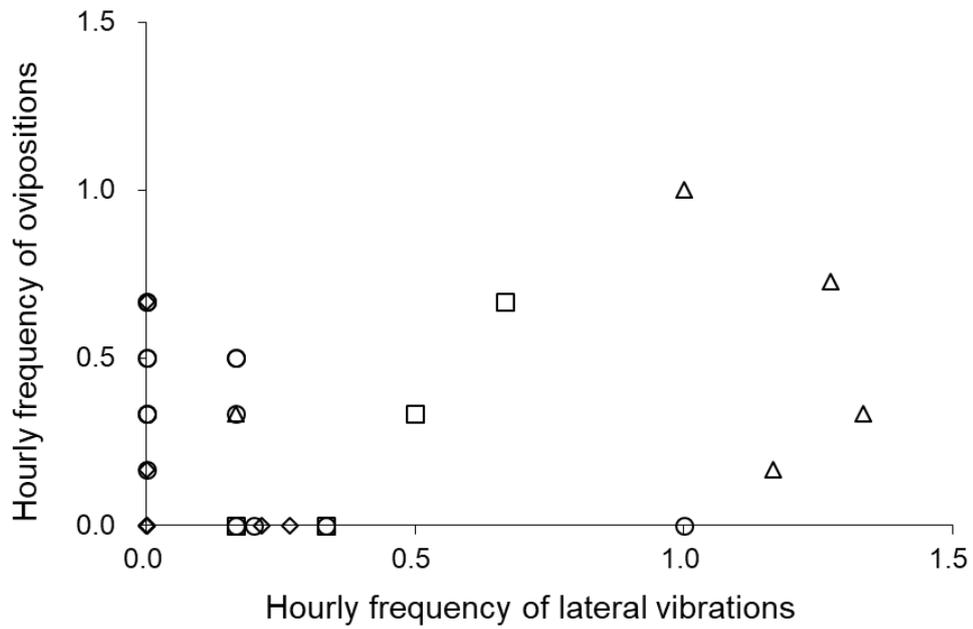


Fig. 25 Relationship between hourly frequencies of ovipositing and lateral vibrations performed by the queen during one day. Circles, squares, diamonds, and triangles indicate colonies 3, 5, 6, and 9, respectively. Note that the queen of colony 6 performed neither ovipositing nor lateral vibration during one day on six occasions.

ていない)。しかしながら、4日間のうち少なくとも1度腹部擦り付け行動を行った個体は、行わなかった個体より産卵した(Table 14)。

羽ばたき突進の頻度はコロニー間で明らかに異なった(Fig. 20, Fig. 23)。Colony 9では全くみられず、Colony 3ではわずかにみられたのみであった。羽ばたき突進は主に優位ワーカーと女王によって行われた(Fig. 23)。しかしながら、最優位ワーカーは、ワーカー間で常に最高頻度で行うことはなかった。そして、Colony 5の期間3では、多くのワーカー(劣位の個体も含めて)が羽ばたき突進を行った。最も高頻度のワーカーが行った羽ばたき突進の時間あたりの頻度は、コロニー発達段階の初期では女王が行ったものと類似していた。しかし、後期ではワーカーは女王より高頻度で行った(Fig. 20)。

産卵と羽ばたき突進間の有意な関係はどの解析でも検出されなかった。コロニーメンバーは誰が産卵したのか、もしくはどれくらいの卵が産卵者によって産まれたのかを、羽ばたき突進をもとに推定できていないように思われる。

4.4 考察

セグロアシナガバチの女王は最も攻撃的な個体でなく、もしくは優位行動によって決定される社会的優劣順位の最優位ではなかった。しかし、独占的もしくは優先的に産卵した。さらに、女王は最も攻撃的なワーカーもしくは社会的優劣順位の最優位のワーカー(潜在的な女王位継承個体)に対して集中して向けられなかった(他のワーカーに対してランダムに向けられたと仮定した頻度と比較して)。これらの観察は、女王が優位行動を用いず女王位を維持していることを強く示唆する。その代わりに、女王はあるシグナルを通して産卵能力もしくは繁殖の潜在能力を示すことによって女王位を維持していると考えられる。もっともらしい候補シグナルは、腹部横振動である。なぜなら腹部横振動頻度は産卵行動頻度と正の相関を持っていたからである。加えて、腹部擦り付け行動もシグナルとして機能していると考えられる。しかしながら、このシグナルはだれが産卵したかを予測するのみで、どれくらい産卵したかは予想できない。羽ばたき突進は女王位維持とは関連してないと考えられる。

腹部横振動は *Polistes dominulus* (Brillet et al. 1999)、*P. fuscatus* (Savoyard et al. 1998)、*Polistes instabilis* (Molina and O'Donnell 2009)を含む、多くの *Polistes* 属アシナガバチで示されている。これらの種の女王はコロニー内で最高頻度の腹部横振動を行い、*P. jokahamae* では女王のみがそれを行う。腹部横振動は主に幼虫給餌かコロニーメンバーに遭遇したときに行われることが、これまで観察された種で発見された。そのため腹部横振動は主に2つの機能を持つと仮定されてきた。(1)幼虫—成虫間のコミュニケーションのためのシグナル。もしくは、(2)優劣順位における攻撃行動の一つ(Jeanne 2009)。腹部横振動は、たいてい幼虫給餌もしくはコロニーメンバーに遭遇したときに行われる。*P. jokahamae* の創設女王はこれらの状況下では腹部横振動を行わない。そのため、腹部横振動は幼虫—成虫間コミュニケーションの機能を持たないと考えられる。さらに、腹部横振動のシグナルは明らかに機械的であるが、振動が匂いを放出することを伴うならば化学的でもあるかもしれない。今後、実験により腹部横振動の特徴と機能をさらに明らかにする必要がある。

産卵行動頻度と腹部擦り付け行動頻度が関連していないにもかかわらず、腹部擦り付けを行う個体は行わない個体より産卵していることが示唆された。これに対する説明として、腹部擦り付け行動頻度が卵巣発育と関連しているということが挙げられる。女王の存在下でワーカーは簡単に産卵をすることが許されない。そして女王でさえも、もし産卵に適さない育房であれば産卵しない(つまり、空の育房、5 齢幼虫もしくは蛹の入った育房のみが利用可能である)。結果として、腹部擦り付け行動頻度が産卵行動頻度と関連していないかもしれない。

腹部擦り付け行動は *P. japonicus* で観察された尻振り行動(Ishikawa et al. 2011)に対応していると考えられる。そして、巣上への腹部末端の腹面の擦り付け行動は *R. marginata* でも観察されている(“rub abdomen”と表現されている; Bhadra et al. 2007, 2010; Mitra and Gadagkar 2011)。これらの行動は巣の育房上に化学物質もしくは女王フェロモンの放出そして、もしくは匂い付けを伴うと考えられる。*R. marginata* 女王は腹部擦り付け中に放出している女王フェロモンを女王位維持に用いていることが近年発見された (Mitra 2014)。しかしながら、腹部撫でつけ(Abdominal stroking)という類似の行動がいくつかの

他のアシナガバチで発見されたことには注意すべきである。これは異なる機能を持つと示唆されている(例えば、Cervo and Lorenzi 1996; van Hooser et al. 2002; Lorenzi et al. 2011)。行動を行う個体は自身の状態(女王もしくは、優劣順位の高位)を幼虫に伝えていると考えられている。*P. jokahamae*における腹部擦り付け行動の機能を明らかにするために、さらなる実験が求められる。

腹部横振動は女王の産卵能力の正直なシグナルであると考えられる。一般的に、シグナルの正直さを維持するために、示されたシグナルはあるコストを負う必要がある(Bradbury and Vehrencamp 2011)。腹部横振動は身体負担になる行動であるかもしれない。あるいは、腹部横振動のコストは無視できるかもしれない。ワーカーはシグナルに絶対的信頼をおかず、代わりの方法で女王の産卵能力を確認しているかもしれない。ワーカーは、*P. dominulus* でみられるように、女王によって産まれた卵の数を直接調べる(Liebig et al. 2005)ことによって、もしくは腹部擦り付け行動のときに放出されるかもしれない化学組成もしくは表皮炭化水素の化学組成を間接的に確認することによって、女王の産卵能力を確認しているかもしれない(注意すべきこととして、セグロの女王は頻繁に優位行動を受ける, Fig. 22)。ワーカーがシグナルの不正直であると判断した場合、ワーカーはワーカーになることをやめ、産卵のための準備をするかもしれない。ワーカーが女王の産卵能力に関連するシグナルを受容するのと同様に、産卵能力を直接確認しているかどうかは、今後の研究の面白いテーマである(Tibbetts and Izzo 2010)。

いくつかの優位ワーカーはコロニー発達段階の後期に産卵を開始した。しかし、女王はこれらの産卵行動を攻撃によって妨げなかった。しかしながら、ワーカーによって産まれたいくつかの卵は女王(女王ポリシング)もしくはワーカー(ワーカーポリシング)によって食卵を受け、女王によって産まれたいくつかの卵もワーカーによって食卵を受けた。そのような行動はいくつかのアシナガバチ種で調べられている(Saigo and Tsuchida 2004; Liebig et al. 2005; Dapporto et al. 2010a)が、残念ながら、この研究ではビデオによる観察によってそのような行動の全てを識別し量的な解析を行うことはできなかった。

Ishikawa et al. (2010)と本章の実験から2種の*Polistes*種の女王-娘コロニーで女王はおとなしく、女王位を維持するために社会的優劣順位を用いないことを明らかにした。興

味ぶかいことに、コアシナガバチ *Polistes snelleni* 女王もおとなしい(Yamasaki and Tsuchida 2014)。これは、コロニーは女王のシグナルによってコントロールされていることを示唆するが、優劣順位が調べられていない。他の種において、優位行動が女王-娘コロニーで女王位の維持に関連しているかどうかを調べることで、もし優位行動が関係していなければどのシグナルが関連しているかを調べるのが極めて重要である。

第5章 総合考察

セグロアシナガバチは、蛹期日長の変化と成虫期日長の組み合わせによって自身の置かれている季節を判断し、カーストを決定していると考えられる。特に、蛹期日長の日々の減少と成虫期の短日との組み合わせは、羽化個体の休眠準備を誘導する。成虫期日長の影響は羽化後カースト決定を支持する結果であるが、第1ブルードは成虫期日長の影響を受けなかった。また、蛹期に長日に長く経験したとき成虫期の日長に関わらず小さい個体はより卵巣を發育させやすい傾向があった。これらは、羽化前のカースト決定に関連する偏りの存在を支持する。また、セグロアシナガバチにおいて、体サイズと羽化時の脂質蓄積量との間に正の相関が見られた。そのため、おそらく羽化時の脂質蓄積量も影響している可能性がある。このような体サイズと脂質蓄積量を通した偏りは第1ブルードにみられ、エサ供給量と関連している可能性が高い(Rossi and Hunt 1988; Karsai and Hunt 2002; Hunt and Amdam 2005)。

一般に羽化時のカースト決定における偏りを生み出す要因として、エサ量の違い以外に以下の要因が考えられている。

1. 女王によるエサ質の違い。例えば、セイヨウミツバチ *Apis mellifera* のカースト分化では、ロイヤルゼリーを給餌され続けた幼虫は女王を運命づけられた個体となる(Hartfelder and Emlen 2012)。しかし、原始真社会性昆虫において、このような機能をもつエサは今のところ発見されていない。
2. 女王が第1ブルードの生理状態を変化させるシグナル(例えばフェロモン、もしくは機械的振動)を発生させる。この要因では、女王からのシグナルを受け取った第1ブルード個体自身が生理状態を変化させる。
3. 女王が化学的そして、もしくは機械的振動を用いて生理状態を直接変えさせる。これは、要因2とは異なり、第1ブルードの意を介さず、直接女王による制御が起こっている(Peeters and Liebig 2009)。アシナガバチでは、機械的振動が報告されているが、要因2である可能性も残されている(Jeanne and Suryanarayanan 2011; Suryanarayanan et al. 2011b; Jandt et al. 2017)。一方、セイヨウオオマルマルハナバチ *Bombus terrestris* で

は、女王フェロモンがカースト決定に関連した偏りを引き起こす主要な要因として機能していると考えられる(Amsalem et al. 2015)。しかし、より詳細な機能解析を行う必要がある。

4. 日長のような非生物学的要因が第1ブルードの生理状態を変化させる。第3.3節では、日長を制御した室内飼育コロニーにおいて、蛹期と成虫期の日長がカースト決定に影響することを発見した。蛹期の多くの期間長日を経験したとき、より小さい個体が成虫期日長に関係なくより成熟卵を持った。これは、未成熟期のカースト決定に関連した偏りの存在を示唆する。一方、蛹期の多くの期間短日を経験したとき、体サイズの影響は見られなかった。これは、未成熟期のカースト決定に関連した偏りが影響しなかったことを示唆する。つまり、未成熟期の偏りの影響は二次的であり、成虫期の日長が主要な要因としてカースト決定に影響している。また、第3.4節で、幼虫・蛹期を野外環境下で育った個体を、成虫期に異なる日長下に置いた場合、第1ブルード以外の個体は成虫期短日下で成熟卵を持ちにくかった。第1ブルードでは成虫期日長の影響を受けず、また、大きさに関わらず、成熟卵を持つ個体が多く出た。これは、幼虫・蛹期に経験した日長の影響の強さを表していると考えられる。

多くの非社会性昆虫は日長や温度のような非生物学的な環境要因によって休眠導入を決定している(Hudson 1977; Conradi-Larsen and Sømme 1978; Tauber et al. 1986; Danks 1987; Saunders 2002)。そのため、真社会性へと進化していく過程で、要因4から要因2と3を通して要因1へとカーストに関連する偏りの機構が変化したと考えられる(Judd 2018)。特に、未成熟期のカースト決定に関連した偏りと羽化後の環境要因の両方からなる、カースト運命決定機構を持つ原始真社会性アシナガバチは、単独性から真社会性への進化の過渡期に位置することを反映していると考えられる。

また、第3.1節では、新女王を運命づけられた個体は、羽化時点でより高い脂質蓄積量を持っていた。これは、“diapause ground-plan hypothesis” (Hunt 1991, 2006)を部分的に支持する結果であった。この仮説では、温帯の単独性カリバチが真社会性の起源であると仮定しているが、近年、Kelstrup et al. (2017)によって示唆された2つの事実によってその仮説は書き換えられようとしている。(1)近年のアシナガバチ属の系統発生学と生物地理学的な解析は属の起源が熱帯である可能性を示唆している(Santos et al. 2015)。そして、

(2)温帯の単独性カリバチのほとんどが成虫越冬ではない(Evan and West-Eberhard 1970)。それゆえに、真社会性が熱帯のカリバチで確立された後、温帯に分布を広げる時に、休眠機構(休眠誘導と越冬準備の機構を含む)を発達させたように思われる。同時に、生活史が変化し、特定の時期にオス生産と交尾が起こるようになったのであろう。フタモンアシナガバチ *P. chinensis antnialis* の創設女王は、日長の変化をもとにオス卵産卵を行っている(Suzuki 1981)。社会性昆虫において休眠機構とそれに付随する生活史上の変化がどのように起こったのかの解明は興味深い。熱帯(亜熱帯)から温帯に広く分布する種もしくは姉妹種はその研究の理想的な対象種である。熱帯性(亜熱帯性)と温帯性種間の休眠と生活史に関連する特徴を比較することは実りあることであろう。

カースト決定方法と同じように、創設女王とワーカー間のオス生産を巡る競争を解決する手段も、社会性の進化に伴い変化したと思われる。セグロアシナガバチの創設女王は、攻撃よりむしろ、腹部横振動行動(振動もしくは化学シグナル)と腹部擦り付け行動(化学シグナル)を介して女王位を維持していることが示唆された。腹部横振動行動は産卵能力を示す正直なシグナルと機能している可能性がある。一方、腹部擦り付け行動は産卵者の特定もしくは卵巣発育を示すシグナルとして機能しているかもしれない。本種のようにコロニー内の個体数が 100 頭以下の小さなコロニーを持つ種(ただし、稀に 100 頭を超える場合もある[松浦 1995])では、女王は基本的に優位行動だけでなく、視覚シグナルあるいは化学シグナルを加えて女王位を維持していることが知られている(Tannure-Nascimento et al. 2008; Leonhardt et al. 2016)。優位行動が主体となっているのか、シグナルが主体となっているかは種によって異なると考えられるが、何がそれを決めているのか(例えば、ある環境要因もしくは系統)の解明が今後の課題である。一方、高次真社会性のように、個体数が数百となる大きいコロニーを持つ種では、完全に化学シグナル(女王フェロモン)に依存する(Hölldobler and Wilson 1990; Keller and Nonacs 1993; Leonhardt et al. 2016)。これは、ワーカー数が増え高次真社会性へと進化する過程で、コストがかかる優位行動の利用が減り、コストがかからず、しかも広範囲にそして同時に複数個体へ情報を伝達できるシグナルの利用が主体となってきたことを示す。ワーカー数の増加にともない、ワーカーと

して間接的に利益を得るほうが、直接産卵するよりも常に高い利益を保証されるようになったことを反映すると考えられる。

アシナガバチの女王位維持機構に対する化学シグナルもしくは振動シグナルの関与は、ナンヨウチビアシナガバチ *R. marginata* (Chandrashekara and Gadagkar 1991; Sumana and Gadagkar 2003)とヤマトアシナガバチ *P. japonicus* (Ishikawa et al. 2011)に次ぐ 3 例目の報告となった。特に、セグロアシナガバチとヤマトアシナガバチは同じ *Polistes* 属に分類されるが、セグロアシナガバチは *Megapolistes* 亜属に、ヤマトアシナガバチは *Polistella* 亜属にそれぞれ分けられる (Carpenter 1996; Arévalo et al. 2004)。今回の発見は、亜属特有の特徴ではなく、属内に幅広く広がった特徴である可能性を示唆する。今後、*Polistes* 属の様々な種を用いた研究を行うことで、属内での社会性レベルの差を解明することによって、より詳細な社会性進化の軌道をたどることができるだろう。

第6章 摘要 (SUMMARY)

原始真社会性種は形態的なカースト間差の欠如と不完全な繁殖分業で特徴づけられる社会を持つため、真社会性の初期を表すと考えられている。特に原始真社会性を持つアシナガバチはそれが属するスズメバチ科の中に単独性種、原始真社会性種、高次真社会性種(形態的な差がカースト間で見られる)を含んでいるため、真社会性の進化の道筋を明らかにするための適した材料となる。本研究では、セグロアシナガバチを用いて、カースト決定と女王位維持の機構の解明を通し、その進化の道筋を明らかにすることを試みた。

1) セグロアシナガバチにおけるカースト決定に関連する形質の羽化時点での偏りの存在を明らかにするために、羽化時の体サイズ、生体重、太り度合い(IF; 生体重を頭幅から計算される体積によって補正した値)、脂質蓄積量、相対脂質蓄積量(IRL; 脂質蓄積量を頭幅から計算される体積によって補正した値)を調べた。これらの個体は、羽化時期に応じて、第1ブルード(女王のみに世話を受けた個体)、第2ブルード(女王とワーカーによって世話を受け、オス羽化前に羽化した個体)、第3ブルード(オス羽化後に羽化した個体。通常、新女王と定義される)に分けられた。第1ブルードの羽化成虫は第2、第3ブルードより小さく、軽かった。また、第1ブルードは体サイズの影響を除いたとしても低いIRLを示し、このIRLはIFの増加にともなって増えなかった。そのため、高いIF値を持つ個体は、脂質の割合が増加し、他の構成成分の割合が減少していると考えられる。女王に第1ブルードのような小さな個体は見られないこと、そして低い脂質蓄積量から、第1ブルード個体はよりワーカー型になりやすい傾向を持って羽化していることが示唆された。

2) 晩秋から初夏にかけての創設女王候補と創設女王の卵巣発育状態と脂質蓄積量の変化を測定した。越冬前は成熟卵をもたず、越冬後3月中旬から成熟卵を持った。越冬前の個体は約30 mgの脂質を蓄積しており、第1ブルード個体よりも体サイズが大きかった。越冬に必要な脂質蓄積量は体サイズの影響を受ける傾向があるため、IRLで0.3 mg/mm³が越冬に必要な値であると予測された。越冬中、脂質量(IRLを含む)と生体重(IFを含む)は一定の率で減少した。このため、体サイズが小さくても栄養が十分取れるなら越冬できる可能性をもつことが推察された。越冬後の個体の脂質は9.9 mgまで減少し、その値を

創設女王となった後も維持した。初春に卵巣発育開始の早晚に対する体サイズの影響は見られなかった。

3) 日長に反応する発育ステージを明らかにするために、日長と温度が完全に制御された室内環境下で未成熟期をすごした個体を、羽化直後から個別に長日(LD 16:8)もしくは短日(LD 12:12)下で飼育し、成虫期日長の影響を評価した。ブルードの関わらず成虫期短日に曝された個体は卵巣を発育させず、脂質を多く蓄積したので、越冬準備を開始したと考えられた。蛹期に長日に曝された日が多い場合、成虫期短日下の小さい個体はより卵巣を発育させやすかったことから、未成熟期にカースト決定に偏りが生じていると考えられた。ただし、蛹期に短日に曝された日が多い場合、卵巣発育に対する体サイズの影響が見られなかったため、蛹期から成虫期にかけての日長が体サイズより上位の手掛かりとなることが示唆された。

4) 日長を含む野外コロニーでの未成熟期の経験と成虫期の日長の相対重要性を明らかにするために、野外採集したコロニーから羽化した個体について、成虫期日長の影響を調べた。第2、3ブルードでは成虫期日長がカースト決定に対して影響した：長日は卵成熟を促し、短日は脂質蓄積を促した。対照的に、第1ブルードではその影響が見られなかった。体サイズの影響は見られなかったため、第1ブルードが経験した蛹期における明期時間の日々の増加が、ワーカーになりやすい(越冬しない)特性を作り出したと考えられる。ただし、成熟卵を持った個体の割合は高くなく、脂質量も越冬前個体の水準に達してない個体が多いため、日長に対する反応はまだ完了してないことが示唆された。それが、体サイズのカースト決定に対する影響が見られなかった原因であるのかもしれない。

5) 女王位の維持機構を明らかにするために、野外の4コロニーを観察し、行動解析を行った。女王は社会的優劣順位の最優位とならず、優位行動頻度も低いにもかかわらず、産卵を独占もしくは優先的に行った。これは、女王が優位行動で決まる優劣順位を使って女王位を維持していることを否定した。腹部横振動が女王のみで観察され、その行動頻度と産卵頻度との間に正の関係が見られたことから、腹部横振動は産卵能力を示すシグナルとして機能し、それによって産卵権を維持している可能性が示唆された。これは、セグロアシナガバチがシグナルを使って女王位を維持していることを示す。一方、腹部擦り付け行

動は産卵個体でより高い頻度で観察されたが、その頻度は産卵頻度と関係はなかった。この行動は卵巢発育状態を示すシグナルとして機能しているのかもしれない。腹部擦り付けは、巣盤に腹部を擦り付けることによって化学物質を塗布していると考えられる。

SUMMARY

Primitively eusocial species are suitable animals to explore the origin of eusociality, i.e., the origin of non-reproductive individuals, workers, because they have no critical morphological differences between the queen and workers and appears to represent an early stage for eusociality. In particular, primitive eusocial paper wasps were one of the most suitable animals for it because the Vespidae, which paper wasps belong to, includes not only solitary and primitive eusocial species but also advanced eusocial species, which have clear morphological differences between the queen and workers. In the present study, I have tried to explore an evolutionary trajectory of eusociality through the elucidation of mechanisms for caste-fate determination and maintenance of the queen's status in the paper wasp *Polistes jokahamae* (Hymenoptera: Vespidae).

1) To clarify the caste-fate-related bias at emergence, I compared the head width, wet mass, lipid stores, IRL (index of relative lipid stores; lipid stores/head width cubed), and IF (index of fatness; wet mass/head width cubed) of newly emerged wasps among different broods. Newly emerged females were divided into three broods: the first brood, females that are nursed only by the queen; the second brood, females that are nursed by the queen and workers and emerge before male emergence; the third brood, females that emerge after the emergence of the first male. The first brood produced smaller and lighter adults with lower lipid stores. These lipid stores were lower even after adjusting for head width. In addition, the IRL increased with the wet mass in the second and third broods but not in the first brood, suggesting that the component proportion of lipid stores did

not increase but that of some other nutrients decreased with increasing wet mass in the first brood. These results suggest the presence of a preimaginal bias toward worker caste in the first brood.

2) Lipid stores and ovarian development of gynes (potential queen for the next spring) and foundresses were determined from autumn to early summer through winter. The gynes before overwintering stored lipids approximately 30 mg without matured oocytes in the ovary. It was predicted that the IRL-value of 0.3 mg/mm^3 was required to successfully overwinter, because lipid stores of preoverwintering gynes tend to be related with body size. Preoverwintering gynes were larger than first brood females. The lipid stores (including IRL) and wet mass (including IF) decreased at a constant rate during overwintering. These facts that small females can overwinter successfully if they have substantial lipid stores. Overwintered gynes had approximately 9.9 mg, and then low levels of lipid stores ($< 11.3 \text{ mg}$) were maintained during the nest-founding phase. They initiated to develop their ovary from mid-March. The body size did not influence the initiating time of ovarian development after overwintering.

3) To elucidate which developmental stage is sensitive to day length for caste-fate determination, immature females in the colonies were reared in photoperiod- and temperature-controlled rooms and after emergence were exposed individually to long (LD 16:8) or short (LD12:12) days. I show for the first time that short days during the adult stage (but not during the immature stage) facilitated caste-fate determination toward gynes in a paper wasp, irrespectively of the brood. The wasps reared under short days during the adult stage stored lipids instead of maturing oocytes,

suggesting that they initiated to prepare for overwintering. Moreover, when the wasps were exposed to many long days during the pupal stage, smaller wasps were more likely to develop their ovary under short days during the adult stage, supporting caste-related biases were generated during the immature stage. However, when the wasps were exposed to many short days during the pupal stage, the body size did not influence the egg maturation. These findings suggest that the photoperiod is a higher priority cue than adult size.

4) To elucidate the relative significance of experience immatures received under field colonies and photoperiod during the adult stage, wasps emerging from field-collected nests were exposed individually to long (LD 16:8) or short (LD12:12) days after emergence. The second and third broods likely matured eggs under long days, while they likely stored lipid under short days. In contrast, the first brood wasps did not response to the photoperiod during the adult stage, strongly supporting the imaginal caste-fate determination. Because body size did not influence the caste-fate determination, the gradual increase of day length during the immature stage may generate caste-related biases toward worker caste. However, the proportion of wasps with mature eggs was low and the level of lipid stores did not reach the level of preoverwintering wasps, suggesting the response to the photoperiod was progressing. It may explain that the effects of body size on caste-fate determination were not detected.

5) To elucidate the mechanisms for maintenance of the queen's status, the behaviors performed on the nest by the foundress queen and workers were observed in three colonies in the field and one colony in a cage set in

the field. Each queen was rarely ranked top in the dominance hierarchy determined by the pairwise dominance–subordinate interactions and did not display aggression toward the top-ranked worker more frequently than toward other workers. Furthermore, the queen exhibited aggression less frequently than did the most aggressive workers in all four colonies. However, the queen laid eggs in a dominant or monopolized way; some dominant workers laid eggs in three colonies. These observations suggest that the queen maintained her queen status, including her reproductive priority, using signals rather than aggression. Lateral vibrations (rapidly laterally vibrating the abdomen) and abdominal rubbing (rubbing the abdomen onto the comb) appeared to be candidate signals. Lateral vibrations were performed only by the queen, and their frequency was positively correlated with the frequency of ovipositing. It indicates a possibility that the queen exhibits her fecundity using lateral vibration. The queen and some dominant workers performed abdominal rubbing; the frequency was higher for the queen than for any of the dominant workers early in the colony development, but not later. Although performers of abdominal rubbing were more likely to lay eggs than non-performers, the frequency of abdominal rubbing was not a predictor of that of ovipositing. The wasps may exhibit the level of egg maturation by using abdominal rubbing.

謝辞

本研究を進めるにあたり、三重大学大学院生物資源学研究科昆虫生態学研究室の山田 佳廣教授には懇切な御指導を賜りました。研究を暖かく後押しして頂くとともに、時に批判的な御助言を頂いたことは、研究遂行の励みとなりました。心より厚く御礼申しあげます。また、同研究室の塚田 森生准教授からは研究のみならず、学生生活の面でも多大なる御支援を頂きました。厚く御礼申しあげます。

東京大学大学院農学生命科学研究科附属生態調和農学機構の山崎 和久特任助教授からは、アシナガバチの室内飼育方法を快く御教示して頂き、本研究に関しても様々な御助言を頂きました。また、玉川大学大学院農学研究科動物昆虫機能科学の佐々木 謙教授からは、膜翅目のカースト決定機構について有益な御助言を頂きました。心より感謝の意を表します。また、植物遺伝育種学研究室の諏訪部 圭太准教授には、研究に取り組む姿勢を御指南して頂きました。資源作物学研究室の梅崎 輝尚教授、附带施設農場の長菅 輝義准教授には、常日頃から研究生活を御支援して頂きました。心より感謝の意を表します。

当研究室のアシナガバチ研究に関わる卒業生・在学生で、実験方法を教えて頂いた山田 純一氏をはじめ、共に研究に取り組んだ仙田 香代氏、藪田 浩史氏、重政 貴都氏、安藤 正章氏、岩城 里奈氏、三木 健太郎氏、榊原 聡一郎氏、田中 晏奈氏、麻野 景太氏、榊井 美咲氏、山本 圭太氏には、日頃から御助言、御助力を頂きました。また、日頃から有益な議論を交わし、叱咤激励して頂いた川竹 友志氏、野田 詩織氏、長谷川 聡氏、西條 喜来氏、黒田 貴仁氏、古屋敷 淳氏、藪内 美奈実氏、西 智生氏、結城 健吾氏、永尾 千菜美氏、堀田 賢志氏をはじめ昆虫生態学研究室卒業生・在学生の皆様心より感謝申しあげます。また、研究材料を収集するにあたり、御理解と御協力して頂いた、地域の方々に御礼申しあげます。

最後に、研究の道へと進むことを理解し、陰ながら応援して頂いた両親に感謝いたします。

引用文献

- Adkisson PL, Bell RA, Wellso SG (1963) Environmental factors controlling the induction of diapause in the pink bollworm, *Pectinophora gossypiella* (Saunders). *J Insect Physiol* 9:299–310
- Alford DV (1969) A study of the hibernation of bumblebees (Hymenoptera: Bombidae) in southern England. *J Anim Ecol* 38:149–170
- Amsalem E, Grozinger CM, Padilla M, Hefetz A (2015) The physiological and genomic bases of bumble bee social behaviour. *Adv Insect Physiol* 48:37–39
- Arèvalo EA, Zhu Y, Carpenter JM, Strassmann JE (2004) The phylogeny of the social wasp subfamily Polistinae: evidence from microsatellite flanking sequences, mitochondrial COI sequence, and morphological characters. *BMC Evol Biol* 4:8
- Berens AJ, Hunt JH, Toth AL (2015) Nourishment level affects caste-related gene expression in *Polistes* wasps. *BMC Genomics* 16:235
- Bhadra A, Iyer PL, Sumana A, Deshpande SA, Ghosh S, Gadagkar R (2007) How do workers of the primitively eusocial wasp *Ropalidia marginata* detect the presence of their queens? *J Theoretical Biol* 246:574–582
- Bhadra A, Mitra A, Deshpande SA, Chandrasekhar K, Naik DG, Hefetz A, 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
- Bohm MK (1972) Effects of environment and juvenile hormone on ovaries of the wasp, *Polistes metricus*. *J Insect Physiol* 18:1875–1883

- Bourke AFG, Franks NR (1995) *Social evolution in ants*. Princeton: Princeton University Press, 529 p
- Bradbury JW, Vehrencamp SL (2011) *Principles of animal communication, 2nd edn*. Sunderland: Sinauer Associates, 697 p
- Brillet C, Tian-Chansky SS, Conte YL (1999) Abdominal waggings and variation of their rate of occurrence in the social wasp, *Polistes dominulus* Christ. I. Quantitative analysis. *J Insect Behav* 12:665–686
- Cant MA, Llop JB, Field J (2006) Individual variation in social aggression and the probability of inheritance: theory and a field test. *Am Nat* 167:837–852
- Carpenter JM (1996) Distributional checklist of species of the genus *Polistes* (Hymenoptera: Vespidae; Polistinae, Polistini). *Am Mus Novit* 3188:1–39
- Cervo R, Lorenzi MC (1996) Behaviour in usurpers and late joiners of *Polistes biglumis bimaculatus* (Hymenoptera, Vespidae). *Insect Soc* 43:255–266
- Chandrashekara K, Gadagkar R (1991) Behavioural castes, dominance and division of labour in a primitively eusocial wasp. *Ethol* 87:269–283
- Conradi-Larsen E-M, Sømme L (1978) The effect of photoperiod and temperature on imaginal diapause in *Dolycoris baccarum* from southern Norway. *J Insect Physiol* 24:243–249
- Danks HV (1987) *Insect dormancy: An ecological perspective*. Monograph Series no. 1. Biological Survey of Canada, Ottawa

- Dapporto L, Palagi E, Turillazzi S (2005) Sociality outside the nest: helpers in pre-hibernating clusters of *Polistes dominulus*. *Ann Zool Fennici* 42:135–139
- Dapporto L, Bruschini C, Cervo R, Petrocelli I, Turillazzi S (2010a) Hydrocarbon rank signatures correlate with differential oophagy and dominance behaviour in *Polistes dominulus* foundresses. *J Exp Biol* 213:453–458
- Dapporto L, Bruschini C, Cervo R, Dani FR, Jackson DE, Turillazzi S (2010b) Timing matters when assessing dominance and chemical signatures in the paper wasp *Polistes dominulus*. *Behav Ecol Sociobiol* 64:1363–1365
- Eickwort K (1969) Separation of the castes of *Polistes exclamans* and notes on its biology (Hym.: Vespidae). *Insect Soc* 16:67–72
- Evans HE, West-Eberhard MJ (1970) *The wasps*. Univ of Michigan Press, Ann Arbor, Michigan
- Foster DR, Crowder LA (1980) Diapause of the pink bollworm, *Pectinophora gossypiella* (Saunders), related to dietary lipids. *Compar Biochem Physiol* 65:723–726
- Gadagkar R (1987) Social structure and the determinants of queen status in the primitively eusocial wasp *Ropalidia cyathiformis*. In: *Chemistry and biology of social insects* (Eder J, Rembold H, Eds), Verlag J. Peperny, München. pp 377–378
- Gadagkar R (1991) The role of larval nutrition in pre-imaginal biasing of caste in the primitively eusocial wasp *Ropalidia marginata* (Hymenoptera: Vespidae). *Ecol Entomol* 16:435–440

- Gao S, Tang Y, Wei K, Wang X, Yang Z, Zhang Y (2016) Relationships between body size and parasitic fitness and offspring performance of *Sclerodermus pupariae* Yang *et* Yo (Hymenoptera: Bethyridae). *PLos One* 11:e0156831
- Haggard CM, Gamboa GJ (1980) Seasonal variation in body size and reproductive condition of a paper wasp, *Polistes metricus* (Hymenoptera: Vespidae). *Can Entomol* 112:239–248
- Hahn DA, Denlinger DL (2011) Energetics of insect diapause. *Annu Rev Entomol* 56:103–121
- Hartfelder K, Emlen DJ (2012) Endocrine control of insect polyphenism. In: *Insect Endocrinology* (Gilbert LI, Ed), Academic Press, San Diego, CA, pp 464–522
- Heideman PD, Bierl CK, Galvez ME (2000) Inhibition of reproductive maturation and somatic growth of Fischer 344 rats by photoperiods shorter than L14:D10 and by gradually decreasing photoperiod. *Biol Reprod* 63:1525–1530
- Hölldobler B, Wilson EO (1990) *The ants*. Harvard University Press, Cambridge
- Holm S (1979) A simple sequentially rejective multiple test procedure. *Scand J Statist* 6:65–70
- Hudson JE (1977) Induction of diapause in female mosquitoes, *Culiseta inornata* by a decrease in daylength. *J Insect Physiol* 23:1377–1382

- Hunt JH (1991) Nourishment and the evolution of the social Vespidae. In: *The social biology of wasps* (Ross KG, Matthews RW, Eds), Cornell Univ Press, New York, pp 426–450
- Hunt JH (2006) Evolution of castes in *Polistes*. *Ann Zool Fennici* 43:407–422
- Hunt JH (2012) A conceptual model for the origin of worker behaviour and adaptation of eusociality. *J Evol Biol* 25:1–19
- Hunt JH, Amdam GV (2005) Bivoltinism as an antecedent to eusociality in the paper wasp genus *Polistes*. *Science* 308:264–267
- Hunt JH, Kensinger BJ, Kossuth JA, Henshaw MT, Norberg K, Wolschin F, Amdam GV (2007) A diapause pathway underlies the gyne phenotype *Polistes* wasps, revealing an evolutionary route to caste-containing insect societies. *Proc Natl Acad Sci USA* 104:14020–14025
- Ishikawa Y, Yamada YY, Matsuura M, Tsukada M, Tsuchida K (2010) Dominance hierarchy among workers changes with colony development in *Polistes japonicus* (Hymenoptera: Vespidae) paper wasp colonies with a small number of workers. *Insect Soc* 57:465–475
- Ishikawa Y, Yamada YY, Matsuura M, Tsukada M, Tsuchida K (2011) *Polistes japonicus* (Hymenoptera: Vespidae) queens monopolize ovipositing but are not the most active aggressor in dominance-subordinate interactions. *Insect Soc* 58:519–529
- Iwahashi O (1989) Society of *Ropalidia fasciata*. In: *Society of Ropalidia wasp* (Iwahashi O, Yamane S, Eds), Tôkai University Press, Tokyo. pp 3–209 (in Japanese)

- Jandt JM, Tibbets EA, Toth AL (2014) *Polistes* paper wasps: a model genus for the study of social dominance hierarchies. *Insect Soc* 61:11–27
- Jandt JM, Suryanarayanan S, Hermanson JC, Jeanne RL, Toth AL (2017) Maternal and nourishment factors interact to influence offspring developmental trajectories in social wasps. *Proc R Soc B* 284:20170651
- Jeanne RL (2003) Social complexity in the Hymenoptera, with special attention to the wasps. In: *Genes, behaviors and evolution of social insects* (Kikuchi T, Azuma N, Higashi S Eds), Hokkaido Univ Press, Sapporo, pp 81–131
- Jeanne RL (2009) Vibrational signals in social wasps: a role in caste determination? In: *Organization of insect societies: from genome to sociocomplexity* (Gadau J, Fewell J Eds), Harvard University Press, Cambridge, pp 243–265
- Jeanne RL, Suryanarayanan S (2011) A new model for caste development in social wasps. *Comm Integr Biol* 4:373–377
- Judd TM (2018) Effect of the presence of brood on the behavior and nutrient level of emerging individuals in field colonies of *Polistes metricus*. *Insect Soc* 65:171–182
- Judd TM, Magnus RM, Fasnacht MP (2010) A nutritional profile of the social wasp *Polistes metricus*: Differences in nutrient levels between castes and changes within castes during the annual life cycle. *J Insect Physiol* 56:42–56
- Judd TM, Teal PEA, Hernandez EJ, Choudhury T, Hunt JH (2015) Quantitative differences in nourishment affect caste-related

- physiology and development in the paper wasp *Polistes metricus*.
PLoS One 10:e0116199
- Kamakura M (2011) Royalactin induces queen differentiation in honeybees.
Nature 473:478–483
- Karsai I, Hunt JH (2002) Food quantity affect traits of offspring in the paper wasp *Polistes metricus* (Hymenoptera: Vespidae). *Environ Entomol* 31:99–106
- Kasuya E (1981) Polygyny in the Japanese paper wasp, *Polistes jadwigae* (Dalla Torre) (Hymenoptera: Vespidae). *Kontyû* 49:306–313
- Keeping MG (2002) Reproductive and worker castes in the primitively eusocial wasp *Belonogaster petiolata* (DeGeer) (Hymenoptera: Vespidae): evidence for pre-imaginal differentiation. *J Insect Physiol* 48:867–879
- Keller L, Nonacs P (1993) The role of queen pheromones in social insects: queen control or queen signal? *Anim Behav* 45:787–794
- Kelstrup HC, Hartfelder K, Esterhuizen N, Wossler TC (2017) Juvenile hormone titers, ovarian status and epicuticular hydrocarbons in gynes and workers of the paper wasp *Belonogaster longitarsus*. *J Insect Physiol* 98:83–92
- Kono Y (1979) Abnormal photoperiodic and phototactic reactions of the beetle, *Epilachna vigintioctopunctata*, reared on sliced potatoes. *App Entomol Zool* 14:185–192
- Kozyra KB, Baraniak E (2016) Causes of mortality of *Polistes nimpha* colonies. *Insect Soc* 63:481–482

- Leonhardt SD, Menzel F, Nehring V, Schmitt T (2016) Ecology and evolution of communication in social insects. *Cell* 164:1277–1287
- Liebig J, Monnin T, Turillazzi S (2005) Direct assessment of queen quality and lack of worker suppression in a paper wasp. *Proc R Soc B* 272: 1339–1344
- Litte M (1977) Behavioral ecology of the social wasp, *Mischocyttarus mexicanus*. *Behav Ecol Sociobiol* 2:229–246
- Litte M (1981) Social biology of the polistine wasp *Mischocyttarus labiatus*: survival in a Columbian rain forest. *Contrib Zool* 327:1-27
- Lorenzi MC, Cervo R, Bagnères A-G (2011) Facultative social parasites mark host nests with branched hydrocarbons. *Ani Behav* 82:1143–1149
- Makino S (2016) Post-hibernation ovary development in queens of the Japanese giant hornet *Vespa mandarinia* (Hymenoptera: Vespidae). *Entomol Sci* 19:440–443
- 松浦 健二 (2014) 昆虫の社会性. *昆虫生態学* (藤崎 憲治, 大串 隆之, 宮竹 貴久, 松浦 健二, 松村 正哉, 著), 朝倉書店, 東京. pp129–173
- Matsuura K, Himuro C, Yokoi T, Yamamoto Y, Vargo EL, Keller L (2010) Identification of a pheromone regulating caste differentiation in termites. *PNAS* 107:12963–12968
- 松浦 誠 (1995) 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, 札幌. pp14–353
- Matsuura M, Yamane S (1990) *Biology of the Vespine wasps*. Springer, Berlin Heidelberg New York

- Michener CD (1969) Comparative social behavior of bees. *Ann Rev Entomol* 14:299–342
- Michener CD (1974) The social behavior of the bees. Harvard Univ Press, Cambridge
- Mitra A (2014) Queen pheromone and monopoly of reproduction by the queen in the social wasp *Ropalidia marginata*. *Proc Indian Natl Sci Acad* 80:1025–1044
- Mitra A, Gadagkar R (2011) Can Dufour’s gland compounds honestly signal fertility in the primitively eusocial wasp *Ropalidia marginata*? *Naturwissenschaften* 98: 157–161
- Miyano S (1986) Colony development, worker behavior and male production in orphan colonies of a Japanese paper wasp *Polistes chinensi 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
- Molina Y, O’Donnell S (2009) Worker reproductive competition affects division of labor in a primitively social paperwasp (*Polistes instabilis*). *Insect Soc* 56:14–20
- Monnin T, Peeters C (1999) Dominance hierarchy and reproductive conflicts among subordinates in a monogynous queenless ant. *Behav Ecol* 10:323–332

- Morimoto R (1961) On the dominance order in *Polistes* wasps. II. Studies on the social Hymenoptera of Japan XIII. *Sci Bull Fac Agric Kyushu Univ* 19:1–17 (in Japanese with English summary)
- Murakami ASN, Shima SN (2010) Regulation of social hierarchy over time in colonies of the primitive eusocial wasp *Mischocyttarus* (*Monocyttarus*) *cassununga*. Von Ihering, 1903 (Hymenoptera, Vespidae). *J Kan Entomol Soc* 83:163–171
- 沼田 英治 (2004) 光周性とは. 休眠の昆虫学—季節適応の謎 (田中 誠二, 檜垣 守男, 小滝 豊美, 編著), 東海大学出版会, 秦野
- O'Donnell S (1998) Reproductive caste determination in eusocial wasps (Hymenoptera: Vespidae). *Annu Rev Entomol* 43:323–346
- O'Donnell S, Jeanne RL (1995) Worker lipids stores decrease with outside-nest task performance in wasps: Implications for the evolution of age polyethism. *Experimentia* 51:749–752
- O'Donnell S, fiocca K, Campbell M, Bulova S, Zelanko P, Velinsky D (2018) Adult nutrition and reproductive physiology: a stable isotope analysis in a eusocial paper wasp (*Mischocyttarus mastigophorus*, Hymenoptera: Vespidae). *Behav Ecol Sociobiol* 72:86
- Page PE, Peng CY-Sand (2001) Aging and development in social insects with emphasis on the honey bee, *Apis mellifera* L. *Exp Gerontol* 36:695–711
- Pardi L (1948) Dominance order in *Polistes* wasp. *Physiol Zoöl* 21:1–13
- Peeters C, Liebig J (2009) Fertility signaling as general mechanism of regulating reproductive division of labor in ants. In: *Organization*

- of insect societies: from genome to sociocomplexity* (Gadau J, Fewell J Eds), Harvard University Press, Cambridge pp 220–242
- Premnath S, Chandrashekara K, Chandran S, Gadagkar R (1990) Constructing dominance hierarchies in a primitively eusocial wasp. In: *Social insects and the environment* (pp. 80). Proceeding of the 11th international congress of IUSI, Bangalore, India, August, 1990. New Delhi: Oxford and IBH Publishing Co.
- Queller DC (1996) The origin and maintenance of eusociality: the advantage of extended parental care. In: *Natural history and evolution of paper wasps* (Turillazzi S, West-Eberhard MJ Eds), Oxford University Press, Oxford, pp 218–234
- Reeve HK (1991) *Polistes*. In: *The social biology of wasps* (Ross KG, Matthews RW Eds), Cornell Univ Press, New York, pp 99–148
- Reeve HK, Peters JM, Nonacs P, Starks PT (1998) Dispersal of first “workers” in social wasps: causes and implications of an alternative reproductive strategy. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:13737–13742
- Rice WR (1989) Analyzing tables of statistical test. *Evolution* 43:223–225
- Röseler P-F (1991) Reproductive competition during colony establishment. In: *The Social Biology of Wasps* (Ross KG, Matthews RW Eds), Comstock Publishing Associates, A division of Cornell University Press, London pp 309–335
- Roseler R-F, Roseler I, Strambi A (1980) The activity of corpora allata in dominant and subordinated females of the wasp *Polistes gallicus*. *Insect Soc* 27:97–107

- Rossi AM, Hunt JH (1988) Honey supplementation and its developmental consequences: evidence for food limitation in a paper wasp, *Polistes metricus*. *Ecol Entomol* 13:437–442
- Saigo T, Tsuchida K (2004) Queen and worker policing in monogynous and monandrous colonies of a primitively eusocial wasp. *Proc R Soc B* 271:S509–S512
- Santos BF, Payne A, Pickett KM, Carpenter JM (2015) Phylogeny and historical biogeography of the paper wasp genus *Polistes* (Hymenoptera: Vespidae): implications for the overwintering hypothesis of social evolution. *Cladistics* 31:535–549
- Saunders DS (1997) Under-sized larvae from short-day adults of the blow fly, *Calliphora vicina*, side-step the diapause programme. *Physiol Entomol* 22:249–255
- Saunders DS (2002) *Insect clocks. 3rd edn.* Elsevier Science, Amsterdam
- Savoyard JL, Gamboa GJ, Cummings DLD, Foster RL (1998) The communicative meaning of body oscillations in the social wasp, *Polistes fuscatus* (Hymenoptera, Vespidae). *Insect Soc* 45: 215–230
- Shakarad M, Gadagkar R (1995) Colony founding in the primitively eusocial wasp, *Ropalidia marginata* (Lep.) (Hymenoptera: Vespidae). *Ecol Entomol* 20:273–282
- Smith CR, Toth AL, Suarez AV, Robinson GE (2008) Genetic and genomic analyses of the division of labour in insect societies. *Nature Revs Gen* 9:735–748

- Solís CR, Strassmann JE (1990) Presence of brood affects caste differentiation in the social wasp, *Polistes exclamans* Viereck (Hymenoptera: Vespidae). *Funct Ecol* 4:531–541
- Strassmann JE (2001) The rarity of multiple mating by females in the social Hymenoptera. *Insect Soc* 48:1–13
- Strassmann JE, Meyer DC (1983) Gerontocracy in the social wasp, *Polistes exclamans*. *Anim Behav* 31:431–438
- Strassmann JE, Lee RE, Rojas RR, Baust JG (1984) Caste and sex differences in cold-hardiness in the social wasps, *Polistes annularis* and *Polistes exclamans* (Hymenoptera, Vespidae). *Insect Soc* 31:291–301
- Sumana A, Gadagkar R (2003) *Ropalidia marginata* – a primitively eusocial wasp society headed by behaviourally non-dominant queens. *Curr Sci* 84:1464–1468
- Suryanarayanan S, Hantschel AE, Torres CG, Jeanne RL (2011a) Changes in the temporal pattern of antennal drumming behavior across the *Polistes fuscatus* colony cycle (Hymenoptera, Vespidae). *Insect Soc* 58:97–106
- Suryanarayanan S, Hermanson JC, Jeanne RL (2011b) A mechanical signal biases caste development in a social wasp. *Curr Biol* 21:231–235
- Suzuki T (1981) Effect of photoperiod on male egg production by foundresses of *Polistes chinensis antennalis* Pérez (Hymenoptera, Vespidae). *Jap J Ecol* 31:347–351

- Suzuki T (1986) Production schedules of males and reproductive females, investment sex ratios, and worker-queen conflict in paper wasps. *Am Nat* 128:366–378
- Tannure-Nascimento IC, Nascimento FS, Zucchi R (2008) The look of royalty: visual and odour signals of reproductive status in a paper wasp. *Proc Biol Sci* 275:2555–2561
- Tauber MJ, Tauber CA, Masaki S (1986) *Seasonal adaptations of insects*. Oxford Univ Press, New York
- Tibbetts EA (2007) Dispersal decisions and predispersal behavior in *Polistes* paper wasp ‘workers’. *Behav Ecol Sociobiol* 61:1877–1883
- Tibbetts EA, Izzo A (2010) Social punishment of dishonest signalers caused by mismatch between signal and behavior. *Cur Biol* 20:1637–1640
- Tibbetts EA, Lindsay R (2008) Visual signals of status and rival assessment in *Polistes dominulus* paper wasps. *Biol Lett* 4:237–239
- Tibbetts EA, Mettler A, Stephanie L (2010) Mutual assessment via visual status signals in *Polistes dominulus* wasps. *Biol Lett* 6:10–13
- Tibbetts EA, Levy S, Donajkowski K (2011) Reproductive plasticity in *Polistes* paper wasp workers and the evolutionary origins of sociality. *J Insect Physiol* 57:995–999
- Toth AL, Bilof KBJ, Henshaw MT, Hunt JH, Robinson GE (2009) Lipid stores, ovary development, and brain gene expression in *Polistes metricus* females. *Insect Soc* 56:77–84

- Tsuchida K (1991) Temporal behavioral variation and division of labor among workers in the primitively eusocial wasp, *Polistes jadwigae* Dalla Torre. *J Ethol* 9:129–134
- Tsuchida K, Suzuki T (2006) Conflict over sex ratio and male production in paper wasps. *Ann Zool Fennici* 43:468–480
- Tsuji K, Tsuji N (2005) Why is dominance hierarchy age-related in social insects? The relative longevity hypothesis. *Behav Ecol Sociobiol* 58:517–526
- van Doorn A, Heringa J (1986) The ontogeny of a dominance hierarchy in colonies of the bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). *Insect Soc* 33:3–25
- van Hooser CV, Gamboa GJ, Fishwild TG (2002) The function of abdominal stroking in the paper wasp, *Polistes fuscatus* (Hymenoptera Vespidae). *Ethol Ecol Evol* 14:141–148
- Visser ME (1994) The importance of being large: the relationship between size and fitness in females of the parasitoid *Aphaereta minuta* (Hymenoptera: Braconidae). *J Anim Ecol* 63:963–978
- West-Eberhard MJ (1969) The social biology of polistine wasp. *Misc Publ Mus Zool Univ Mich* 140:1–140
- West-Eberhard MJ (1978) Temporary queens in *Metapolybia* wasps: non-reproductive helpers without altruism? *Science* 200:441–443
- Wheeler DE (1986) Developmental and physiological determinants of caste in social Hymenoptera: evolutionary implications. *Am Nat* 128:13–34

- Wilson EO (1971) *The insect societies*. Harvard Univ Press, Cambridge
- Wilson EO (1975) *Sociobiology: the new synthesis*. Harvard Univ Press, Cambridge
- Winston ML (1992) The biology and management of africanized honey bees. *Annu Rev Entomol* 37:173–193
- Winter B (2014) A very basic tutorial for performing linear mixed effects analyses (Tutorial 2). Available from: http://www.bodowinter.com/tutorial/bw_LME_tutorial2.pdf (November 11, 2018)
- Wyatt TD (2014) Pheromones reproduction in social groups: control or cooperative signaling? In: *Pheromones and animal behavior: chemical signals and signatures, 2nd edn* (Wyatt TD, Auth), Cambridge University Press, New York, pp 133–148
- Yamamoto Y, Matsuura K (2011) Queen pheromone regulates egg production in a termite. *Biol Lett* 7:727–729
- Yamane S (1985) Social relations among females in pre- and postemergence colonies of a subtropical paper wasp, *Parapolybia varia* (Hymenoptera: Vespidae). *J Ethol* 3:27–38
- Yamane S (1996) Ecological factors influencing the colony cycle of *Polistes* wasps. In: *Natural history and evolution of paper wasps* (Turillazzi S, West-Eberhard MJ Eds). Oxford University Press, Oxford, pp 75–97

Yamasaki K, Tsuchida K (2014) Orphaning does not affect the colony productivity of the primitively eusocial wasp *Polistes snelleni*. *Insect Soc* 61:133–140