



神奈川県  
農業総合研究所

ISSN 0388-8231

神奈川県農業総合研究所

# 研究報告

第144号

BULLETIN OF THE  
KANAGAWA PREFECTURAL AGRICULTURAL RESEARCH INSTITUTE  
NO.144

平成16年3月

神奈川県農業総合研究所研究報告  
第144号

所長	伊藤正宏	史誠裕子	敏誠保涉修
編集委員会	眞吉田	深植鈴岡	山草木本門
委員長	正宣陽秀	北山	植木
委員	子田	深植	草木
事務局	吉田	鈴岡	長門
	眞吉	長瀧	埜埜

BULLETIN OF THE  
KANAGAWA PREFECTURAL AGRICULTURAL RESEARCH INSTITUTE  
NO.144

Executive Director : Masahiro ITO

Editorial Committee

Chief Editor : Masafumi MANAGO

Editorial Board : Makoto YOSHIDA

Nobuhiko KITA

Yoko MIYAMA

Hidetoshi UEKUSA

Makoto SUZUKI

Tamotsu OKAMOTO

Wataru NAGATO

Editorial Secretariat : Osamu TAKINO

略 号

神奈川農総研報 第144号

Bull. Kanagawa. Agri. Res. Inst.  
No. 144

## 目 次

### 日本在来種マルハナバチ類の室内増殖技術の開発および 施設トマトのポリネーターへの応用研究

浅田真一

緒 論	.....	1
第1章 オオマルハナバチおよびクロマルハナバチの室内飼育とコロニーの成長解析		
第1節 室内での周年飼育技術の開発		
緒 言	.....	3
材料および方法	.....	4
(1)供試虫		
(2)飼育方法		
(3)室内飼育下での交尾と低温処理		
(4)低温処理後の覚醒処理		
(5)劣勢なコロニーを早期検出するための指標		
結 果	.....	8
(1)オオマルハナバチとクロマルハナバチの野外採集女王蜂の室内飼育		
(2)オオマルハナバチの室内継代飼育		
(3)クロマルハナバチの室内継代飼育		
(4)営巣準備日数と働き蜂および新女王蜂生産数の関係		
(5)第1蜂児の成長日数と働き蜂および新女王蜂の生産数の関係		
考 察	.....	18
(1)オオマルハナバチとクロマルハナバチの室内周年飼育		
(2)劣勢なコロニーの早期検出技術		

<b>第2節 室内飼育条件下でのコロニーの成長解析</b>	
緒 言	21
材料および方法	21
(1)供試虫およびコロニーの成長記録	
(2)受精卵産卵期間の計算および推定方法	
(3)新女王蜂生産期の推定方法と早晚性の分類	
(4)競合行動の分類と観察記録の方法	
結 果	26
(1)2種マルハナバチ間での産卵パターンの比較	
(2)受精卵産卵期間の推定方法の確立および種間と地域個体群間の比較	
(3)新女王蜂生産期の推定方法の確立および種間と地域個体群間の比較	
(4)競合行動の解析および種間の比較	
考 察	36
(1)オオマルハナバチとクロマルハナバチのコロニーの成長に関する比較	
(2)オオマルハナバチとクロマルハナバチの競合行動に関する比較	
<b>第2章 在来種マルハナバチの施設トマトのポリネーターとしての機能</b>	
<b>第1節 トマトでのポリネーション効果</b>	
緒 言	40
材料および方法	40
(1)供試虫	
(2)トマトでの訪花行動の観察	
(3)ポリネーション能力の検定	
結 果	41
(1)トマトでの訪花行動	
(2)トマトに対するポリネーション効果	
考 察	44
<b>第2節 施設内温度管理がトマトの受粉に及ぼす影響</b>	
緒 言	46
材料および方法	46
(1)トマト花粉の活性および生成量の評価方法	
(2)人工気象下での温度管理条件および花粉の採集方法	
(3)施設栽培での温度管理条件および花粉の採集方法	
結 果	47
(1)人工気象下における温度管理の違いが花粉に及ぼす影響	
(2)施設栽培における温度管理の違いが花粉に及ぼす影響	
考 察	49

第3節 オオマルハナバチとクロマルハナバチの花粉採餌行動のシミュレーション		
緒　言	.....	50
材料および方法	.....	50
(1)室内でのマルハナバチコロニーの訪飼試験		
(2)採餌場所での花粉の有無に関するシミュレーション試験		
(3)採餌場所の匂いの有無に関するシミュレーション試験		
結　果	.....	52
(1)採餌場所での花粉の有無が採餌行動に及ぼす影響		
(2)花粉に含まれる揮発性物質が採餌行動に及ぼす影響		
考　察	.....	53
総合考察	.....	56
(1)オオマルハナバチとクロマルハナバチのコロニー発達における生態的特性と大量増殖システムへの展開		
(2)日本在来種マルハナバチの利用の意義		
摘　要	.....	59
Summary	.....	61
引用文献	.....	63

BULLETIN  
OF THE  
KANAGAWA PREFECTURAL  
AGRICULTURAL RESEARCH INSTITUTE

No. 144

Mar. 2004

Contents

**Studies on year-round rearing of Japanese native bumblebees (*Bombus* spp.)**

**for buzz-foraging crop pollination**

..... S.ASADA ..... 1

# 日本在来種マルハナバチ類の室内増殖技術の開発および 施設トマトのポリネーターへの応用研究

浅田真一

Studies on Year-round Rearing of Japanese Native Bumblebees (*Bombus* spp.)  
for Buzz-foraging Crop Pollination

Shi-ichi ASADA

## 緒 論

近年、農業生産において農地周辺に土着している受粉昆虫(ポリネーター)に、作物のポリネーションを依存する以外に、人為的にポリネーターを管理する技術が広がっている。それに伴い、ポリネーターの商業生産も拡大し(Free 1993)その中でもセイヨウミツバチ(*Apis mellifera*)は、アメリカ合衆国において年間16から57億ドルの社会的な利益をあげていると推定されている(Southwick and Southwick 1992)。ミツバチは、国内でも施設イチゴ、施設メロンの他に、ナシなどの果樹栽培や野菜類の種子生産にも利用されて、農業生産に貢献してきた(日本養蜂はちみつ協会 1999)。近年施設園芸の進展に伴い、ポリネーターの周年利用の要望が高まってきた。養蜂家がコロニーで管理しているセイヨウミツバチは、これらのニーズに対応できるポリネーターであると言え、さらにセイヨウミツバチは、多種類の花の形態に適応したジェネラリストの訪花昆虫である点も広く普及している理由と考えられる(松香 1996)。

一方で、セイヨウミツバチよりもポリネーション効果の高いポリネーター、もしくは、セイヨウミツバチよりも安価なポリネーターの供給体制ができている作物もある。北米では、牧草としてアルファルファが栽培されており、花の形態からセイヨウミツバチよりもアルファルファハキリバチ(*Megachile rotundata*)のポリネーション効果が高いとされている(Richard 1987)。さらにこの地域では、アルファルファハキリバチを繭の状態で流通させており、アブラナ科野菜の種子生産にも利用されている。

国内では、リンゴ園でマメコバチ(*Osmia cornifrons*)が利用されている。リンゴのポリネーションの多くが人の手

によって行われてきたが、青森県のリンゴ生産者から土着のハナバチであるマメコバチの利用が始まった。セイヨウミツバチでは、リンゴ園の下草や、設置した園地以外の蜜源にまで訪花するため、広域的な利用をしない限り、十分なポリネーション効果は期待できない。これに対しマメコバチは、セイヨウミツバチよりも行動半径が狭く、経済的受粉範囲は50mとされていることから(前田 1993)、園地ごとに営巣施設を設置すれば、それぞれの園地でポリネーション効果を期待することができる。本種は、前年度営巣した巣ごと園内に設置され、さらに新たなアシや人工の筒など、リンゴの開花時に園内に新たな営巣場所を用意することで、翌年のマメコバチを自分の圃場で利用しながら維持することができる。さらにマメコバチの生活史やその効果および天敵類などの研究がすすみ(山田ら 1984)、リンゴ栽培の主産地で広く普及するに至っている。ナシ、キウイフルーツでもマメコバチの利用が試験されたが、ポリネーションの効果はあるものの、これらの樹種では翌年のマメコバチを生産するには栄養面で不足しているとされており、生産現場への普及にはいたっていない(前田 1985)。この他にも、アルカリハナバチ(*Nomia melanderi*)などの地中営巣性のハナバチ類についてもポリネーターとして活用されている(Free 1993)。また、日本には定着できないと思われる熱帯性のハリナシバチも施設イチゴなどでポリネーション試験がなされており(前田 1992、天野・Boongird 1997)、ポリネーターの応用研究も新たな展開を見せている。

セイヨウミツバチをポリネーターとして利用できなかつた作物のひとつとして施設トマトがあげられる。トマト(*Lycopersicon esculentum*)の花は、筒状の薬の内側が開裂することで花粉が放出される。開薬と同時に柱頭が

伸長することで、受粉が行われるほか、物理的な振動によって薬の先端の小孔から花粉がこぼれ出ることでも受粉する。花はやや下向きに開花することから、昆虫の訪花や風によっても容易に振動し、受粉することが可能である。また、自家、他家のいずれでも受粉は可能である。野外での訪花昆虫は膜翅目が多く記録されている(浅田 1998)。しかし、施設栽培になった時点で、露地栽培よりも着果率が大きく低下し、ポリネーションの必要性が重視された。施設トマトを着果させる方法には従来2つの方法がとられてきた。ひとつは、人為的に花を振動させて受精させる方法であり、主に欧州、北米に広がった。後に、バイブレーターが普及し、これによる着果作業が広がった。もうひとつの方法として、オーキシン類を花に噴霧する方法がある。Gustafson(1960)によってオーキシン類が果実の単為結果を誘起することが明らかにされて以来、より有効な物質の探索が行われ、現在では、パラクロロフェノキシ酢酸をもとに、着果のためのホルモン剤として製剤化されている。花にホルモン剤を局所施用するこの技術は、日本で1960年代から広く普及してきたが、この方法では空洞果の発生が問題となる。空洞果は、果皮および隔壁部の発達過剰や胎座部の発育不良により、果皮部と胎座部の発育の不均衡が生じ、子室内に間げきを生じた果実である。これらの方法の違いは、栽培条件をも変えた。受粉させる方法では、花の状態が受粉に適している必要があることから、冬期の最低夜温を12°C以上に管理する方法がとられている。一方、ホルモン剤処理では、単為結果で結実することから、花の状態にはあまり留意する必要がない。ホルモン剤には落花防止効果があること、植物体の成長をより促進する温度条件になると、空洞果の発生が多くなるなどの点から、夜温度を8°C程度で管理する方法がとられてきた。

後に、Pinchinat *et al.*(1979)が、トマトのF<sub>1</sub>種子生産の交配にマルハナバチの訪花行動が効果的であることを報告した。その後、Röseler(1985)が、セイヨウオオマルハナバチ(*Bombus terrestris*)の室内飼育での低温処理、および二酸化炭素麻酔による女王蜂の休眠回避技術を報告した。この時点でベルギー、オランダを中心に、セイヨウオオマルハナバチの室内大量増殖技術が企業化され、施設トマトのポリネーターとして急速に普及した(岩崎 1995)。セイヨウオオマルハナバチは、トマトの花で振動採粉行動をとり、効果的に薬の内側の花粉を採集する。Banda and Paxton (1991)は、セイヨウミツバチとセイヨウオオマルハナバチの施設トマトのポリネーターとしての比較試験を行い、セイヨウオオマルハナバチがより

効果的なポリネーターであることを明らかにした。日本には、1991年に試験的に導入された。日本の施設トマト栽培では、前述のとおりホルモン剤処理によって着果させる方法がとられていたが、セイヨウオオマルハナバチを利用することで、ホルモン剤処理にかかる作業が省力化できるとともに(松浦 1993)、受粉によって結実させることから空洞果の発生を抑えることが可能となった(池田・忠内 1992)。その後、国内への普及は急速に進み、2001年では、58,000コロニーが流通していると推計されている(Mitsuhata *et al.* 2002)。

しかし、これらのセイヨウオオマルハナバチが施設から拡散し、日本の生態系に侵入した場合のリスクが指摘された(加藤 1993, Ono 1997, 鷺谷 1998)。実際に、1996年には北海道で人家の床下にセイヨウオオマルハナバチの自然巣が発見されている(鷺谷 1998)。さらに、その後の調査で、北海道、福島、山梨、静岡、富山、岐阜および関東全都県でセイヨウオオマルハナバチが野外で採集された他(片山 2000)、熊本ではセイヨウオオマルハナバチが利用されていない場所での採集記録もあり、野生化が懸念されている(杉浦ら2001)。セイヨウオオマルハナバチが野生化した場合に、餌となる花資源、営巣場所、越冬場所などで在来種と競合することが予想される。生態系のなかで植物とポリネーターの関係は極めて複雑であり、それぞれの種ごとに送受粉のパートナーが多い場合が多い(Kato *et al.* 1993)。このような関係の中に新たなポリネーターを人為的に入れることは、餌資源で競合した在来種の個体群に影響を及ぼすだけでなく、それらのポリネーターに受粉を依存していた植物相にも影響を及ぼす(Washitani *et al.* 1994, 鷺谷 1998)。

光畠(1996)は、エゾオオマルハナバチ(*Bombus hypocrita sapporoensis*)の女王蜂とセイヨウオオマルハナバチの雄蜂の実験室内での交雑実験を行い、雑種が生まれることを報告しており、遺伝子汚染が懸念されているが、Goka *et al.*(2002)の野外調査では今のところ雑種は確認されていない。さらに、セイヨウオオマルハナバチが、そのコロニーに寄生する生物とともに輸入されていることが明らかになった。五箇ら(2000)は、販売されているコロニーに寄生していたマルハナバチポリプダニ(*Loucastacarus buchneri*)を確認している。また、丹羽ら(1998)は、*Nosema*型の微胞子虫に感染しているセイヨウオオマルハナバチのコロニーを確認している。病原生物の侵入が壊滅的な影響を在来種の個体群にもたらす事例もあり(鷺谷・矢原 1996)、直接野外に拡散したセイヨウオオマルハナバチが在来種の個体群に及ぼす影響と

は違った観点から懸念されている。

施設トマト栽培ではすでにセイヨウオオマルハナバチが広く普及しており、使用を規制する法律も日本はない。すでにアメリカ合衆国ではセイヨウオオマルハナバチを利用せずに、北米在来種の *Bombus impatiens* の利用を行っている (Thomson 1997)。また、欧洲の大陸産とカナリー諸島産のセイヨウオオマルハナバチ間での、マイクロサテライトDNAおよびミトコンドリアDNAの違いから、両亜種間の遺伝的な相違が明らかとなり (Estoup *et al.* 1996)，カナリー諸島では、*B. terrestris canariensis* が使用されるようになった (Van Doorn 私信)。

そこで、施設トマト栽培におけるポリネーター利用技術を活かしながら、外来種であるセイヨウオオマルハナバチに替わるポリネーターを創出するため、日本在来種のマルハナバチ類を利用する考えた。日本在来種のマルハナバチについては片山栄助博士による生態学的な観点からの研究はあるものの、応用研究例は限られており、Ono *et al.* (1994)、小野 (1995) がオオマルハナバチの飼育方法について、Hannan *et al.* (1997) が、在来種の増殖のための基礎研究として、クロマルハナバチのコロニーの成長過程を報告している程度である。本研究では、日本在来種マルハナバチの実用化および施設トマトでのマルハナバチの利用技術の安定化を目指し、第1章では、実用化に有望視されているオオマルハナバチとクロマルハナバチの室内での周年増殖技術の開発およびその生態学的な研究について論じる。特に営巣が開始されてからコロニーがどのように形成されていくのかについては、日本在来種での知見は乏しく、明らかにすべきことは多い。第2章では、ポリネーションの応用研究を中心に、在来種マルハナバチのポリネーション効果、施設トマトの栽培管理がポリネーション効果に及ぼす影響について論じる。

## 第1章 オオマルハナバチおよびクロマルハナバチの室内飼育とコロニーの成長解析

熱帯域に生息する一部の種を除き、マルハナバチは、春に越冬から覚めた女王蜂が1頭で営巣し、夏から秋にかけて、働き蜂を増やし、成熟した巣で、翌年巣を作る新女王蜂とオス蜂の生殖虫を生産するといった生活史をもつ。新女王蜂は交尾後、翌春まで越冬し、営巣に入る。セイヨウオオマルハナバチ同様、日本在来種であるオオマルハナバチ (*B. hypocrita hypocrita*)、クロマルハナバチ (*B. ignitus*) でも、野外で営巣を始める時期の女王蜂を採集し、室内で強制的に営巣させることが可能である (Ono *et al.* 1994)。

ポリネーションの対象となる施設トマトは、促成、半促成、抑制栽培に大別され、さらに、雨よけ栽培を加えると、ほぼ1年を通じて受粉が必要となる。従ってポリネーターであるマルハナバチをこれらの作型に供給するためには、年間を通じた室内飼育技術を確立する必要がある。また、野外からマルハナバチを採集するといった生態的なリスクを最小限に抑えるためにも、室内での周年増殖技術が望まれる。そのためには、飼育技術の開発とともに、コロニーの形成および成長パターンを把握する必要がある。しかし、マルハナバチの巣は不定形であり、初期営巣時からの飼育例も少ないとから、コロニーの成長に関する比較生態学的な研究は少ない。そこで、飼育開始から巣の形を1から2日おきにスケッチで記録し、営巣終了後にそのスケッチから各卵室の作られた日と雌雄および働き蜂、新女王蜂のカストなどのデータを得ることで、コロニーの成長を比較生態学的な観点から解析し、日本在来種をポリネーターとして供給するための飼育管理技術に資することとした。

### 第1節 室内での周年飼育技術の開発

#### 緒 言

マルハナバチのコロニー発達などの観察は、野生のコロニーを採集して木箱に移し、開放条件下で、より本来の営巣条件に近い状態で行うことから始まった (Sladen 1912)。日本でも、この方法によって、マルハナバチの巣箱飼育が行われ、オオマルハナバチやクロマルハナバチの女王蜂の産卵習性、コロニーの成長解析に関する研究が行われた (Katayama 1971, 1973, 1974, 1975)。しかし、これらの方法は、コロニーを野外から採集するため

Table 1. Collection date and locality of bumblebee queens used for experiments

Species	Year	Date (Locality <sup>1)</sup>
<i>B. hypocrita</i>	1996	29 Apr(Y), 12 May(Y, S), 15 May(Y, S), 23 May(N)
	1997	27 Apr(Y), 1 May(Y), 5 May(Y), 7 May(Y), 9 May(Y, S), 11 May(Y, S), 16 May(S)
	1998	29 Apr(Y), 4 May(Y, M), 6 May(Y, S), 14 May(N)
<i>B. ignitus</i>	1996	27 May(N)
	1997	18 May(N)
	1998	14 May(N)

<sup>1</sup> Y: Oshino-mura, Yamanashi Pref., S: Oyama-machi, Shizuoka Pref., M: Mukawa-mura, Yamanashi Pref.  
N: Shinano-machi, Nagano Pref.

に、トマト生産者のポリネーターの需要に対応することは不適当である。野外のコロニーを直接利用するのではなく、そこから離巣した創設女王蜂に営巣させ、さらにそのコロニーを室内で継代飼育し、増殖させる技術を確立してはじめて、在来種のマルハナバチを実用的に利用することができるはずである。

Plowright and Jay(1966)は、7種類のマルハナバチの創設女王蜂を越冬後に野外で採集し、実験室内の飼育箱内で営巣させることに成功している。他にも6種類のマルハナバチ間での比較や(Manino *et al.* 1994)、長舌種のマルハナバチの周年飼育についても、ニュージーランドでの*B. huotorum*, *B. ruderatus*, *B. subterraneus*での例が報告されている(Griffin *et al.* 1991)。すでに、マルハナバチの生産を行う企業によって、セイヨウオオマルハナバチ、*B. impatiens*, *B. terricola*、クロマルハナバチの大量生産がされている、もしくは過去にされたことで、複数種での周年飼育技術が確立されつつあるが、室内周年飼育に関する報告例は、セイヨウオオマルハナバチを中心である(Röseler 1985, Van Heemert *et al.* 1990, Van den Eijnde *et al.* 1991)。特に日本在来種であるクロマルハナバチの増殖効率は低く、セイヨウオオマルハナバチと同レベルの大量増殖技術は未完成である(Van Doorn 私信)。オオマルハナバチおよびクロマルハナバチの野外で採集した女王蜂を室内飼育下で営巣させる方法はほぼ確立しているものの(Ono *et al.* 1994, 光畑 1996)，それらのコロニーで生産された新女王蜂に営巣させるための継代処理技術および室内周年飼育技術に関する報告はない。

そこで、本節では、オオマルハナバチ、クロマルハナバチの閉鎖系での周年飼育技術について論ずる。なお、本節の結果は、すでにAsada and Ono(1997), 浅田ら(1999), Asada and Ono (2000), 浅田・小野(2002)に報告してある。

## 材料および方法

### (1) 供試虫

越冬後、主に花上で採餌行動をしている女王蜂を採集した。オオマルハナバチおよびクロマルハナバチの採集地および採集時期はTable 1に示した。山梨県南都留郡忍野村、北巨摩郡武川村、静岡県駿東郡小山町では、主にマメザクラ(*Prunus incisa*)、モミジイチゴ(*Rubus palmatus*)、ムラサキケマン(*Corydalis incisa*)、ドウダンツツジ(*Enkianthus perulatus*)、グミ(*Elaeagnus sp.*)に訪花している女王蜂を採集した。これらの地域では、供試虫としたオオマルハナバチの他に、コマルハナバチ(*B. ardens ardens*)、トラマルハナバチ(*B. diversus diversus*)、ウスリーマルハナバチ(*B. ussurensis*)、ナガママルハナバチ(*B. consobrinus wittenburgi*)、ヒメマルハナバチ(*B. beaticola beaticola*)、ミヤママルハナバチ(*B. honshuensis*)の生息を確認した。山梨県北巨摩郡長坂町では、主にイカリソウ(*Epimedium grandiflorum*)、グミに訪花するクロマルハナバチを採集した。本地では、他にコマルハナバチ、オオマルハナバチを確認した。長野県上水内郡信濃町では、栽培されているブルーベリー(*Vaccinium spp.*)に訪花するオオマルハナバチ、クロマルハナバチを園主の協力を得て採集した。当地では、他にコマルハナバチ、トラマルハナバチを確認した。採集した女王蜂を2mm径の孔をあけた内径3cm、高さ4cmのプラスチック製容器に1頭ずつ入れ、50%ショ糖液を脱脂綿にふくませて、容器の外から給餌し、実験室に持ち帰った。採集から実験室に持ち帰るまでの間、これらの容器を発砲スチロール製の箱に入れ、直射日光を当てないように保持し、また保冷剤、ビニル袋で作成した氷嚢を適度に利用しながら、容器内温度の上昇、または過冷却を防ぐように保持した。

### (2) 飼育方法

女王蜂を小型の飼育箱(後述)に1頭ずつ入れ、温度

26±0.5°C, 湿度RH70±5%, 全暗条件下での飼育室内で営巣させた。飼育室内は全暗条件であるが、飼育管理時に赤色蛍光灯を点灯させ、コロニー内の観察や、オス蜂、新女王蜂のサンプリング時には、白色蛍光灯を用いた。飼育室は、神奈川県農業総合研究所昆虫機能実験棟内に設置されたものである(Fig.1)。窓はなく、床はコンクリート張りで、壁および天井はパネルボード製である。飼育室内へは約2m<sup>2</sup>の前室を経由して入るようにし、空調は、別室の機械室から、空調機(小糸製作所製ACU-1型, Fig.1)によって温湿度を調整した空気を飼育室内に入れた。空調機に循環する空気は、外気からフィルターを経由し取り込んだ。同時に飼育室内の空気を屋外に排気することで、飼育室内の空気を常に入れかえる条件で飼育を行った。また、年1回、飼育室を含む実験棟内にホルマリン30%溶液を微粒子状に噴霧し、消毒を行つ



Fig. 1. Rearing room and air control unit

た。

飼育に用いた小型の飼育箱Type1(Fig.2, 縦×横×高: 15cm×8cm×7cm, 造巣室/飼料室: 7cm×8cm×7cm)および給餌方法は、Ono *et al.*(1994)に準じたが、営巣開始時には、ヘルパーとしての働き蜂は加えず、女王蜂のみでの単独営巣とした。飼料は、水1リットルに対して上白糖1kg、アスコルビン酸1g、ソルビン酸0.16gを溶解させた溶液(以下、糖液と略す)とセイヨウミツバチから採集した花粉ダンゴを用いた。花粉ダンゴは、採集後冷凍保存されたものを使用し、給与時には上記の糖液で練り、ペレット状にして与えた。

第1蜂児の羽化後、コロニーを大型の飼育容器に移した。小型の容器からType2(縦×横×高: 24cm×17.5cm×12cm)の木製の巣箱(Fig.2)にコロニーを移し、養成した。この巣箱では、底面にスリット入りのプラスチック板を付けるとともに、巣箱底面を浮かせる状態で置くことで、マルハナバチの排泄物が乾燥しやすいようにした。コロニーが成長し、Type2巣箱の底面の全部に巣が拡張し、飼料の交換時などに、働き蜂が塩化ビニル製の上蓋にあけた給餌口から出てきてしまうようになったら、Type3のケージ(Fig.2, 縦×横×高: 32cm×38cm×25cm, 以下ケージと略す)に、上蓋をはずしたType2の巣箱を入れた。Type3巣箱の底には、ゼオライトや土などを入れ、マルハナバチの排泄物の水分を吸収させ、飼育中にはこ

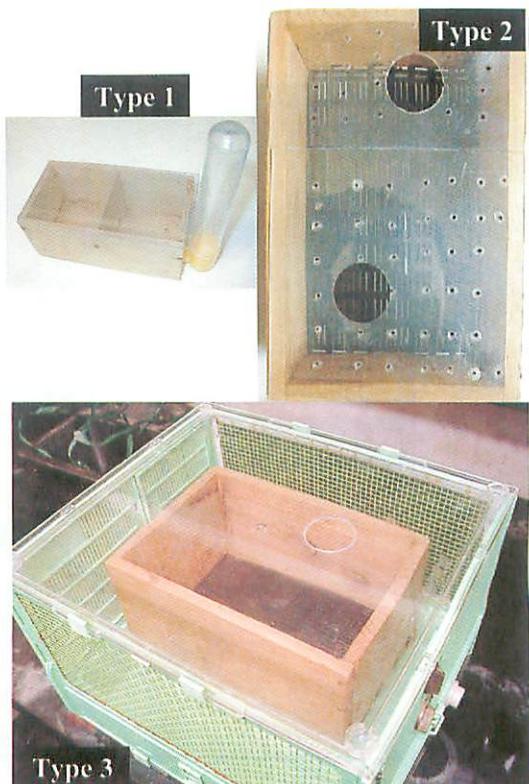


Fig. 2. Three types of nest box for laboratory rearing of bumblebees

れらが乾燥するように管理した。

飼育管理時に使用したピンセット等の器具は、毎日の作業終了後に洗浄、消毒(70%エチルアルコール)した。また、飼育箱を含むその他の飼育容器は、使用後に、次亜塩素酸ナトリウム溶液に1日以上浸漬した後に水洗浄した。木製の飼育箱は、洗浄、自然乾燥後、さらに100°Cで40分間の乾熱滅菌をした。

### (3) 室内飼育下での交尾と低温処理

野外採集女王蜂が形成したコロニーで生産された新女王蜂に室内条件下で営巣させるため、基本技術は Röseler(1985)に従い、Fig.3で示した交尾、低温、覚醒、飼育といった処理を行った。コロニーが新女王蜂、およびオス蜂の生産期に入ったところで、これらの蜂をサンプリングした。新女王蜂は、1週間ごとに巣から出ようとする個体をサンプリングした。また、日齢を特定する場合には、1から2日ごとに胸部背面にアクリル絵具を用いてマーキングした。オス蜂は、巣から出ようとする個体を採集し、Fig.2、Type3で用いたケージに入れて飼育室内で飼育した。交尾用のオス蜂には羽化後15日以内の個体を用いた。なお、オス蜂の排泄物は働き蜂、女王蜂と異なり、固形物が少なく、排泄場所も一定でない。羽化したオス蜂を巣内に閉じ込めた状態で飼育すると巣の全体にオス蜂の排泄物が撒き散らされ、巣が粘着性を増し、コロニーの成長に悪影響を及ぼすことが観察された。そこで、オス蜂生産時期には、交尾用のオス蜂をケージで別に管理するとともに、巣箱内にいる成熟したオス蜂は

巣外に出した。

交尾のために、これらの新女王蜂とオス蜂をケージに入れ、太陽光の入る部屋に置いた。交尾用の部屋は、25±2°Cに管理し、換気扇を常に運転した。また、昼間には扇風機で風を送り、ケージ内の空気を循環させた。本試験で用いたケージには、最大で女王蜂10頭までとし、オス蜂は女王蜂の2倍の頭数を入れた。なお、このケージ以外にも1辺50cmの立方体のケージも用いたが、この場合の女王蜂数は最大20頭とした。交尾期間は1週間とした。

交尾処理終了後の女王蜂は、1週間後、2mm径の孔をあけた内径3cm、高さ4cmのプラスチック製容器に代用土壤としてバーミキュライトを半分ほど入れたものに、1頭ずつ入れた。これを、バーミキュライトの入ったプラスチック製容器(24×33×9cm)に埋め込み、この容器を5±0.5°Cの低温室内に置いた。なお、バーミキュライトは、乾燥した状態で滅菌袋に入れ、オートクレーブで加圧滅菌したもの用いた。

低温処理中の4か月は、温度変化が無いよう低温室内で女王蜂の生死を確認した。低温処理中の女王蜂は、Fig.3に示すような状態で容器内のバーミキュライト上に定位しており、容器を軽くたたくと前肢をあげるような反応を見せた。この反応で生存個体を判定し、反応しない個体については、容器から出して、生死を確認した。なお、この調査は約2週間ごとに行った。この調査時に死亡していた個体については、腹部を解剖し受精囊中を観

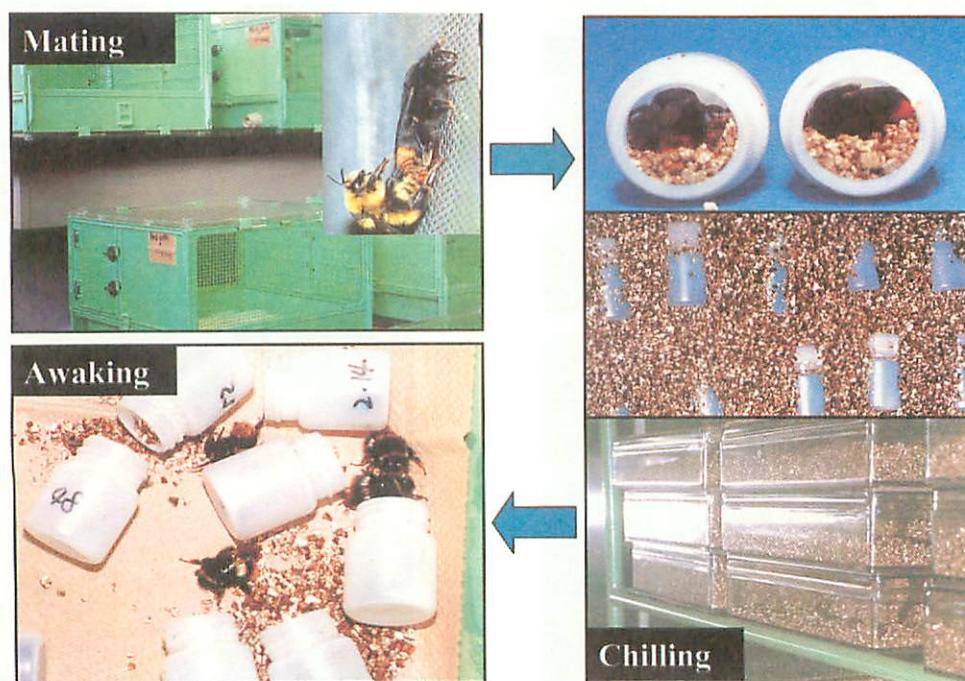


Fig. 3. Flow of mating and artificial hibernation in laboratory rearing

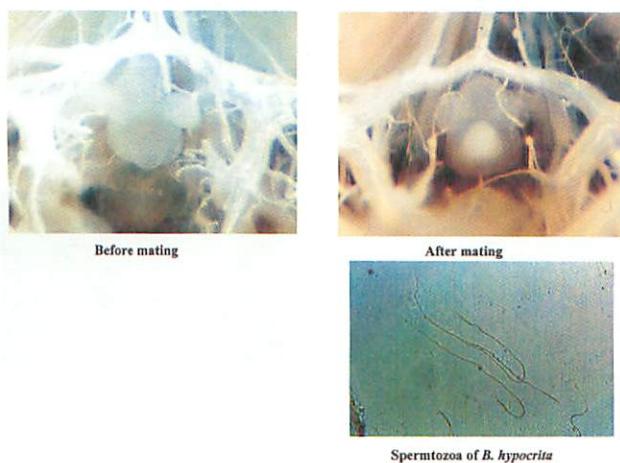


Fig. 4. Spermatheca of *B. hypocrita* queens before and after mating

察し、交尾の有無を判定した(Fig.4)。

なお、クロマルハナバチについては、交尾室から低温室に移す条件、および低温処理中の代用土壌の水分率について検討した。代用土壌の水分率は、一定量の水を加えた後、その資材を秤量瓶に入れ、調整直後および乾燥後の重量を測定して求めた。なお、この場合には代用土壌に用いる資材の水分率を変えた試験を行ったため、一部では代用土壌にピートモスも用いた。

#### (4) 低温処理後の覚醒処理

低温処理後、女王蜂を入れたケースを交尾処理時と同条件の $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ に管理した覚醒室に戻し、ケージ内に女王蜂を開放した(Fig.3)。この状態で1週間から10日間、糖液だけを給餌して飼育した。両種について、低温室から覚醒室に移す時の条件について検討した。

まずオオマルハナバチについては、直接低温室から覚醒室に移す方法と、インキュベーター内に入れ $5^{\circ}\text{C}$ 、 $10^{\circ}\text{C}$ 、 $25^{\circ}\text{C}$ と段階的に温度を上げ、女王蜂を保持しているケース内が外の温度と同じになったことを確認してから開放する方法を比較した。さらに、 $10^{\circ}\text{C}$ で保持する時間を6時間と24時間で比較した。クロマルハナバチについては、インキュベーターを利用して段階的に温度を上げる途中の $10^{\circ}\text{C}$ の時間を6時間と24時間で比較した。

なお、これらの継代処理は1997年、1998年に野外で採集したオオマルハナバチとクロマルハナバチの女王蜂に、室内で営巣させたコロニー、およびそれらの次世代のコロニーで生産された新女王蜂を行った。また、両種とも各処理時の生存数を記録した。特にオオマルハナバチについては、女王蜂の羽化後の日齢と各処理時の生存率の関係を調べた。Table 2, Table 3に示すように、新女王蜂は、個体ごとに交尾開始時の羽化後の日数を記

録して、交尾ケージに入れた新女王蜂の集団ごとに、平均の日齢を算出した。さらに、異なる2群を用いて、それぞれの群から平均日齢の異なる女王蜂の集団を2つずつ作り、交尾率および各処理時の生存率を同一群の供試虫間で比較した。

Table 2. Age of *B. hypocrita* queens used for mating experiment

Number of queens	Age in days	
	Mean	± SD
15	7.3	±2.3
7	7.6	±1.0
17	7.8	±5.1
5	9.8	±1.6
8	10.6	±2.0
18	10.8	±2.9
14	13.8	±5.8
8	16.1	±2.3
6	17.3	±5.2
7	5.7	±3.7
10	8.2	±2.1

Table 3. Age of *B. hypocrita* queens used for artificial hibernation experiment

Number of queens	Age in days	
	Mean	± SD
15	7.3	±2.3
7	7.6	±1.0
17	7.8	±5.1
5	9.8	±1.6
8	10.6	±2.0
18	10.8	±2.9
14	13.8	±5.8
8	16.1	±2.3
6	17.3	±5.2
7	5.7	±3.7
10	8.2	±2.1

#### (5) 劣勢なコロニーを早期検出するための指標

野外から採集した女王蜂、もしくは室内飼育女王蜂を、飼育室内で、Fig.2のType1の巣箱で飼育を始めた日を飼育開始日とした。その後、第1卵室を作った日を初産卵日、最初の働き蜂の羽化を確認した日を第1働き蜂羽化日とした。第1卵室が飼育中に創設女王蜂によって放棄された後に、新たな卵室が形成された場合も、放棄された第1卵室の形成日を初産卵日とした。これらの数値をもとに下記の式により、コロニーごとの営巣準備日数、第1働き蜂の成長日数を得た。

$$\text{営巣準備日数} = \text{初産卵日} - \text{飼育開始日}$$

$$\text{第1働き蜂の成長日数} = \text{第1働き蜂羽化日} - \text{初産卵日}$$

コロニーごとに、働き蜂、新女王蜂の生産数を記録し、それらと営巣準備日数、第1働き蜂の成長日数との相関関係(Spearmanの順位相関)を調査した。さらに、営巣準備日数については、10日間隔にコロニーを区分し、それぞれの働き蜂、新女王蜂生産数を比較した

(Mann-WhitneyのU検定)。同様に、第1蜂児が、室内飼育条件下で正常に成長した場合の羽化までの成長日数の最大値は、両種とも28日であったことから(Table 4)、その日数を28日間以下と29日間以上のコロニーに分けて、働き蜂、新女王蜂生産数を比較した(Mann-WhitneyのU検定)。これらのデータは、野外採集と室内飼育の女王蜂の飼育結果に基づいている。ただし、野外採集女王蜂は、採集前の状態が不明であり、また、採集時や採集後の管理条件が営巣準備日数に影響すると考えられることから、Mann-WhitneyのU検定は、両種とも1997年に採集した女王蜂から得たF<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>および1998年に採集した女王蜂のF<sub>1</sub>から得られた室内飼育女王蜂についてだけ行った。

Table 4. Developmental period of first brood workers in two laboratory-reared *Bombus* species

Species	n	Developmental period (days)		
		Mean ± SD	Min.	Max.
<i>B. hypocrita</i>	70	23 ± 2.5	16	28
<i>B. ignitus</i>	86	24 ± 2.3	16	28

## 結果

### (1) オオマルハナバチとクロマルハナバチの野外採集女王蜂の室内飼育

オオマルハナバチとクロマルハナバチの飼育を行う前に、コマルハナバチの野外採集女王蜂の飼育を行ったところ、営巣行動をまったく示さず、また与えた花粉も食べない個体が見られた。飼育開始から数日後に花粉を食べて、ワックスを分泌し、それを巣箱の床面になすりつけるような営巣行動を示す女王蜂は、Fig.5 type 1の様な花粉粒を含む排泄物を巣箱の端にするが、営巣行動を示さない女王蜂の中には、type 2の様な透明な排泄物だけしかしない個体も見られた。この透明な排泄物を顕鏡したところ、多くのセンチュウが確認された。さらにその女王

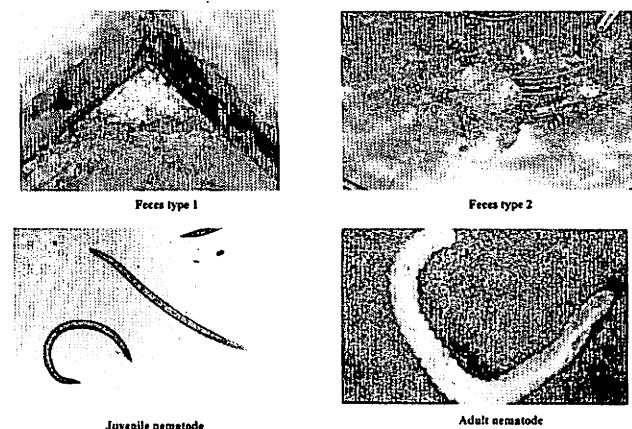


Fig. 5. Feces of field-collected bumblebee queens and nematode parasite

蜂の腹部を解剖したところ、5~10mm程度にキュウリ状に肥大した生殖器官をもつセンチュウを確認した(Fig.5)。マルハナバチに寄生するセンチュウとして、*Sphaerularia bombi*が報告されており(Sladen 1912, Alford 1969<sup>a</sup>)、このセンチュウは北米、欧州、ニュージーランドに分布しているが(Macfarlane et al. 1995)、国内での記載はない。*Sphaerularia bombi*は、越冬中のマルハナバチ女王蜂の体内に侵入し腹腔内で成長する。成長したセンチュウは、生殖器官が10~15mm程度まで肥大し、腹腔内で次世代のセンチュウを産出する。また、寄生された女王蜂の卵巣は発達せず、営巣行動も行わない(Poinar and Van der Laan 1972)。本飼育試験のデータを正確に評価するために、このセンチュウの影響を除く必要があることから、以下の飼育試験の結果からは、国内では未記載種であるこのセンチュウに寄生されていた個体を供試虫数から除いた。

野外から採集した女王蜂を室内飼育条件下で営巣させた場合の、産卵率は、寄生性天敵の影響を除けば、オオマルハナバチで94%、クロマルハナバチで91%であった(Table 5)。本実験でも、野外採集および室内飼育

Table 5. Nesting rate of field-collected queens

	Number of queens <sup>*1</sup> (a)	Number of egg-laying queens (b)	Nesting rate (%) (b/a×100)
<i>B. hypocrita</i>			
1997	54	52	96
1998	23	20	87
Total	77	72	94
<i>B. ignitus</i>			
1997	20	19	95
1998	24	21	88
Total	44	40	91

\*1 Queens parasitized by nematodes were excluded.

Table 6. Total number of workers produced in *B. hypocrita* colonies from field-collected and laboratory-reared queens

	Number of colonies	Number of workers per colony	
		Mean $\pm$ SD	Range
Field-collected queen <sup>1</sup>	54	31 $\pm$ 29	0~134
Laboratory-reared queen			
1997 F <sub>1</sub>	19	27 $\pm$ 31	0~97
1997 F <sub>2</sub>	24	30 $\pm$ 38	0~121
1998 F <sub>1</sub>	32	54 $\pm$ 60	0~203

<sup>1</sup> Queens parasitized by nematodes were excluded.

Table 7. Total number of workers produced in *B. ignitus* colonies from field-collected and laboratory-reared queens

	Number of colonies	Number of workers per colony	
		Mean $\pm$ SD	Range
Field-collected queen <sup>1</sup>	20	67 $\pm$ 66	0~191
Laboratory-reared queen			
1997 F <sub>1</sub>	8	71 $\pm$ 47	18~152
1997 F <sub>2</sub>	59	58 $\pm$ 62	0~222
1998 F <sub>1</sub>	17	70 $\pm$ 45	0~143

<sup>1</sup> Queens parasitized by nematodes were excluded.

Table 8. Comparison of head width between field-collected and laboratory-reared queens of *B. hypocrita*

	Number of queens	Head width (mm)		
		Mean	$\pm$ SD	Min.
Field-collected	33	5.46	$\pm$ 0.13	5.21
Laboratory-reared	78	5.42	$\pm$ 0.14	4.89

No significant difference by Mann-Whitney U-test ( $p>0.05$ )

Table 9. Relationship between head width and mating success in laboratory-reared queens of *B. hypocrita*

Result of mating	Number of queens	Head width (mm)		
		Mean	$\pm$ SD	Min.
Success	78	5.42	$\pm$ 0.14	4.89
Failure	26	5.34	$\pm$ 0.20	4.93

No significant difference by Mann-Whitney U-test ( $p>0.05$ )

Table 10. Relationship between head width and survival during chilling in laboratory-reared queens of *B. hypocrita*

Result of chilling treatment (4 months)	Number of queens	Head width (mm)		
		Mean	$\pm$ SD	Min.
Surviving queens	50	5.42	$\pm$ 0.13	4.89
Dead queens	28	5.42	$\pm$ 0.15	5.14

No significant difference by Mann-Whitney U-test ( $p>0.05$ )

の女王蜂のいずれも、産卵は行われるもの、卵、または若齢幼虫以降の成長が見られないコロニーがあった。1997年の飼育記録では、屋外採集女王蜂が営巣したコロニー当たりの働き蜂生産数が、オオマルハナバチでは0頭から134頭(平均31頭)、クロマルハナバチでは0から191頭(平均67頭)であり、いずれもコロニー間での差が

大きかった(Table 6, 7)。これらには、第1蜂児が羽化前に死亡し、働き蜂が生産されなかったコロニーや、第1蜂児の羽化が認められたものの、第2蜂児以降の働き蜂生産がされなかったコロニーも含まれている。

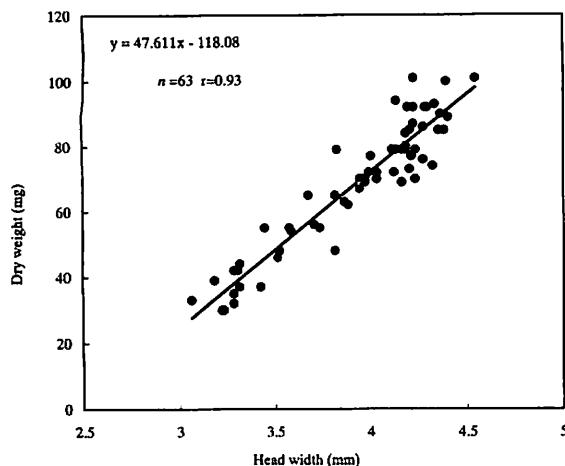


Fig. 6. Relation between dry weight and head width of *B. hypocrita* workers  
Spearman rank correlation test ( $p < 0.01$ )

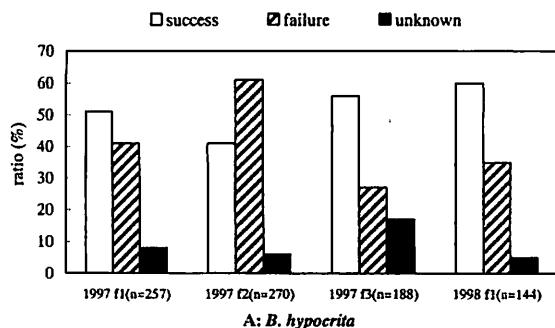


Fig. 7. Mating Success ratio of *B. hypocrita* (A) and *B. ignitus* (B) in each laboratory-reared generation in laboratory

## (2) オオマルハナバチの室内継代飼育

1997年に採集したオオマルハナバチの女王蜂と飼育個体との体の大きさを比較した。なお、オオマルハナバチの働き蜂の乾燥体重と頭幅との関係を見たところ、両者には相関関係が認められたことから(Fig.6)、頭幅を体のサイズの指標とした。その結果、野外採集女王蜂と、室内での継代飼育で生産された女王蜂の頭幅には、Mann-Whitneyの  $U$ -検定で有意差は認められず(Table 8)、体の大きさの差はないと考えられた。次に、交尾成立

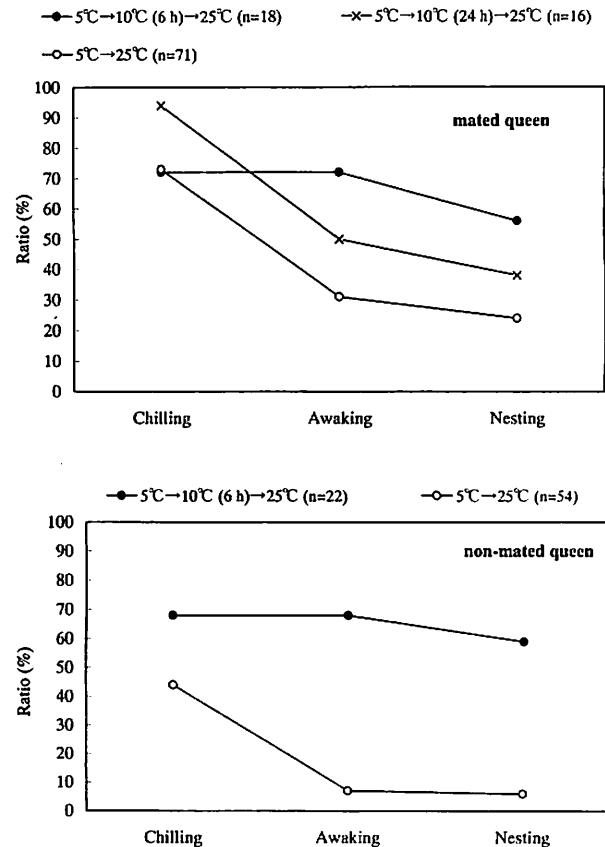
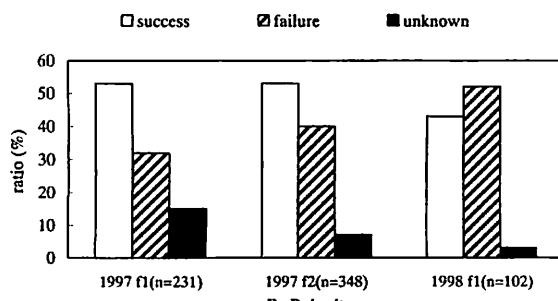


Fig. 8. Effect of post-chilling treatments on survival rate of laboratory-reared *B. hypocrita* queens

Chilling: Survival rate during 4 months at 5°C

Awaking: Survival rate during 7 to 10 days at 25°C in flight cage

Nesting: Ratio of first egg-laying queens under rearing condition



および低温処理中の死亡との体の大きさの関係を調べた。室内の交尾条件で、交尾した女王蜂の平均頭幅は5.42mm、しなかった女王蜂では5.34mmであり、Mann-Whitneyの  $U$ -検定の結果、両者には有意差は認められなかった(Table 9)。同様に、4か月間の低温処理中に死亡した女王蜂と生存していた女王蜂の体の大きさを比較したところ、両者とも平均頭幅は5.42mmであり、Mann-Whitneyの  $U$ -検定の結果、有意差は認められなかった(Table 10)。

オオマルハナバチの室内での交尾成功率は40から60%であった(Fig.7)。これらの供試女王蜂を交尾した個体および未交尾個体に分けて、低温処理、覚醒処理、営巣率をみたところ、未交尾個体でも45から70%の個体が低温処理中でも生存していた。一方、交尾した個体は70から90%が生存していた(Fig.8)。なお、この数値は、以下に述べる各試験区の値をまとめていることから、やや低い値となっている。

覚醒室から低温室に直接移す方法でも70から90%の生存率が得られたことから、低温室に移すときには、直接

入れる方法でも、その後生存率には影響ないと考えられた。また、低温室から覚醒室に移す時に、インキュベーター内で5°Cから10°C, 25°Cと段階的に温度を上げる処理をしたところ、直接、覚醒室に移すよりも生存率が高くなる傾向が見られた。特に未交尾の個体では直接、低温室から覚醒室に移した場合、顕著に生存率が低くなつた。また、段階的に温度を上げる場合、10°Cの時間は6時間の方が、24時間よりも覚醒時の生存率が高い傾向にあった(Fig.8)。

次に、オオマルハナバチの供試女王蜂の羽化後の日齢と交尾の成功率および低温、覚醒処理時の生存率との関係を調べた。新女王蜂を飼育箱から取り出し、交尾

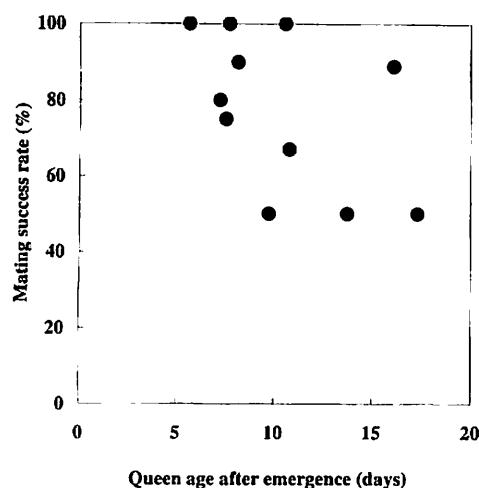


Fig. 9. Relationship between age of *B. hypocrita* queen and mating success in laboratory

Spearman rank correlation test ( $p > 0.05$ )

用の容器に入れた時点での羽化後の日齢と交尾の成功率の関係をFig.9に示した。供試した女王蜂の平均日齢が5から10日前までは70から100%の高い交尾率が見られたが、それ以上の日数を経過していた女王蜂のグ

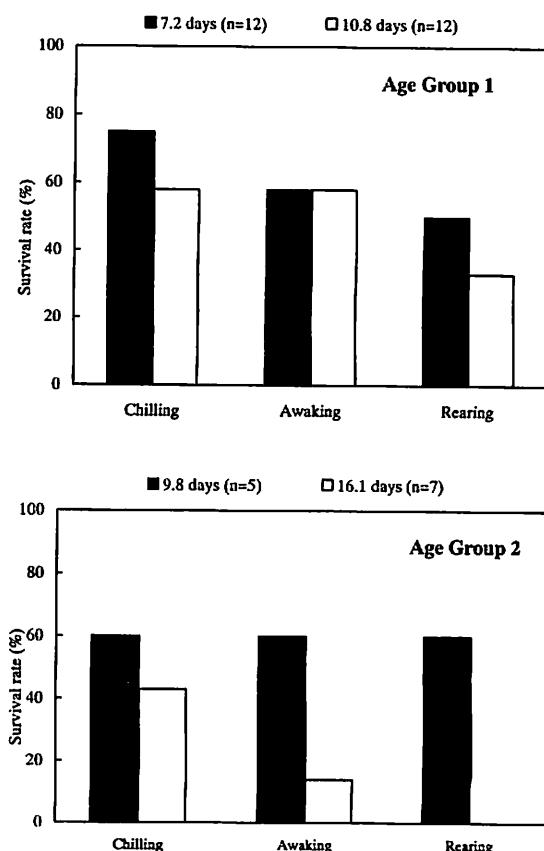


Fig. 11. Survival of mated *B. hypocrita* queens during artificial hibernation

Queens were collected from the same colony, and divided into two age groups. These experiments were replicated twice.

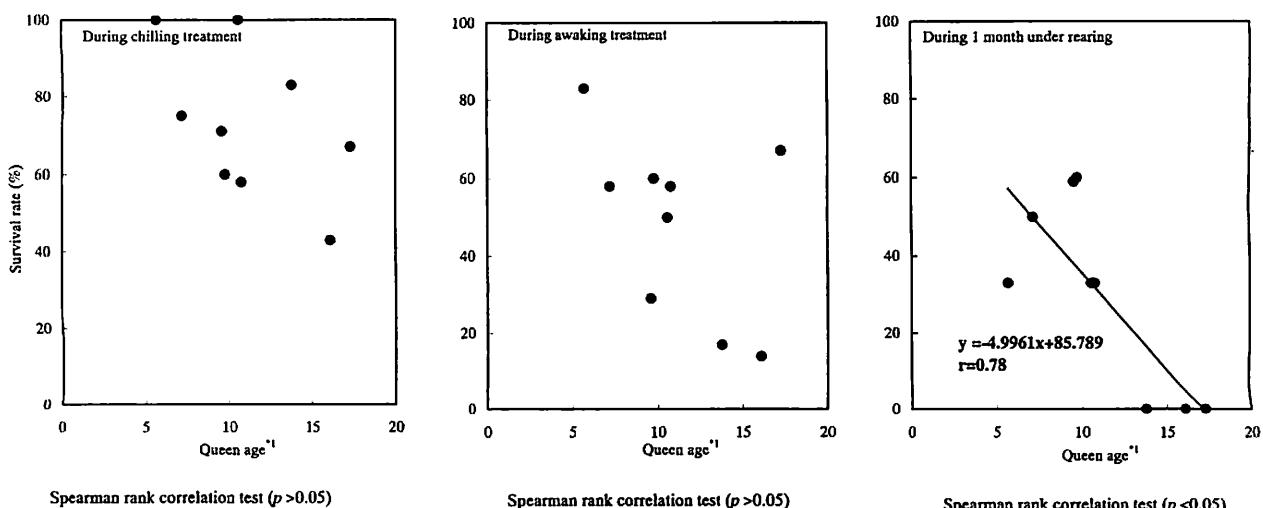


Fig. 10. Relationship of survival rate between each treatment and age of *B. hypocrita* queen  
\*1 See Table 3.

ループでは、50から90%と低くなる傾向が見られた。次に各処理時の生存率と女王蜂の日齢との関係をFig.10に示した。いずれの処理時でも供試虫の平均日齢が高いほど生存率が低い傾向が見られた。特に平均日齢が10日以上を経過している女王蜂の集団における生存率の低下が大きい傾向が見られた。これらの影響を詳しく見るため、異なる2群を用いて、それぞれの群から平均日齢の異なる女王蜂の集団を2つずつ作り、各処理時の生存率を同一群の供試虫で比較したところ、両群とも平均日齢の経過している女王蜂の方が、低い生存率である傾向が認められた(Fig.11)。以上のことから、継代処理時の生存率には、供試女王蜂の羽化後の日齢が影響していると示唆された。

### (3) クロマルハナバチの室内継代飼育

クロマルハナバチの室内での交尾成功率は40から50%であり(Fig. 7), オオマルハナバチよりもやや低い割合であった。オオマルハナバチと同じ方法で低温処理を行ったところ、生存率が30%以下と低かった(Fig.12)。そこで、乾燥を防ぐために、水を加えたバーミキュライトを用いた。その結果、通常の乾燥したバーミキュライトでは、低温処理開始2週間ですでに50%の女王蜂が死亡したのに対して、バーミキュライトの水分率を50%, 68%に調整した区では4か月後でも80%以上の高い生存率であった(Fig.12)。この実験以降は、バーミキュライトもしくはピートモスの水分率を50から80%程度に調整して用いた。なお、低温室内に入れた場合、保護ケース内でのこれらの資材の水分率は、4か月間はほぼ一定であった

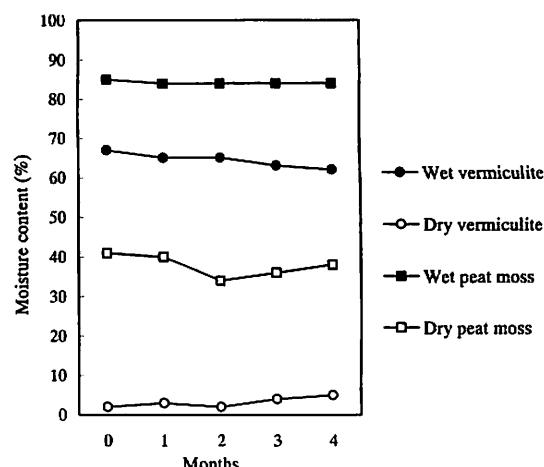


Fig. 13. Comparison of long term stability of moisture content of substrate used for queen artificial hibernation  
Materials in hibernation boxes without queens were placed in the chilling room.

(Fig.13)。

次に供試した女王蜂を交尾した個体および未交尾個体に分けて、低温処理、覚醒処理、営巣率をまとめた。ただし、Fig.14に示した値は、用土の水分率を検討していた値が入っているため、やや低い値となっている。オオマルハナバチでは、未交尾個体でも45から70%の個体が低温処理中でも生存していたのに対して、クロマルハナバチの未交尾女王蜂は、低温処理中に20%程度しか生存できなかった。また、交尾した女王蜂でも低温処理中の生存率は、60から80%であり、オオマルハナバチよりもやや低い傾向が見られた。

交尾後に低温室に入るまでの方法について検討した。Fig.14からFig.16に示した対照区は、交尾期間終了後に、交尾室で低温処理用の容器に女王蜂を入れて、そのケースを直接低温室に入れる方法とした。まず、低温処理用の容器に入れるタイミングを、交尾室ではなく低温室に交尾用ケージを入れ、低温室内で行ったところ、対照区よりもやや低い生存率となった(Fig.14)。次に、25°Cの室温から5°Cの低温室に移す方法として、10°C, 6時間の処理を入れて段階的に温度を落とした。交尾終了後に対照区同様、低温処理用の容器に入れ、そのケースをインキュベーターに入れて、直接低温室に入った場合と比較したところ、段階的に温度を落とした方が、むしろ低い生存率になる傾向が見られた(Fig.15)。さらに、用土をピートモスとし、水分率を80から85%に調節し、同様の処理をしたが対照区とほぼ同じ傾向を示した。なお、インキュベーターで段階的に温度を落とす処理を、低温処理用のケースおよび交尾ケージの両方で比較をしたが、両者に差は見られなかった(Fig.16)。

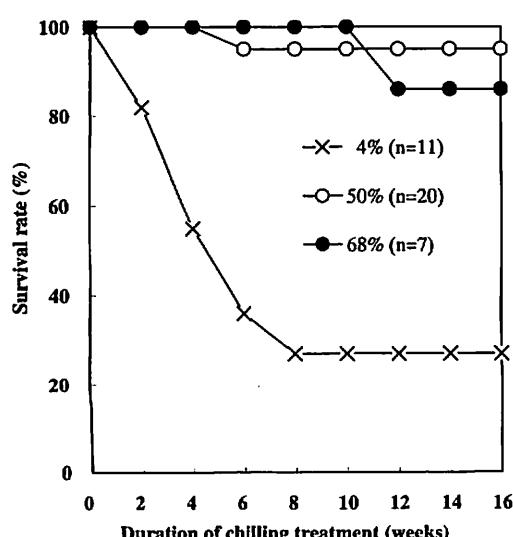


Fig. 12. Effect of moisture content of vermiculite on survival rate of *B. ignitus* queens during artificial hibernation  
Chilling treatment  
room temperature → 5°C (about 4 months)

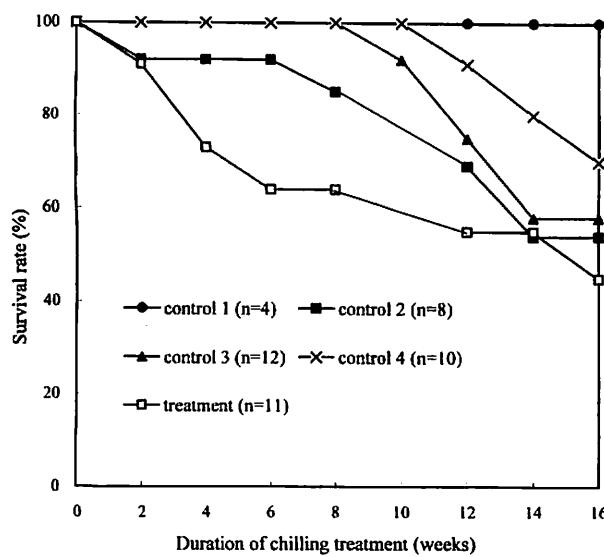


Fig. 14. Effect of pre-chilling treatment on survival rate of *B. ignitus* queens during artificial hibernation

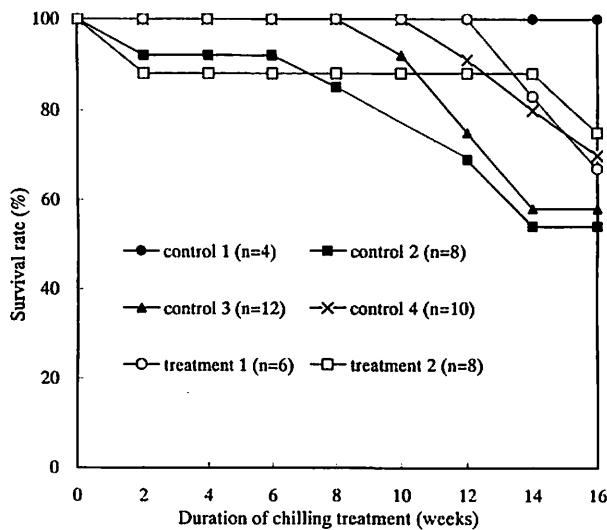
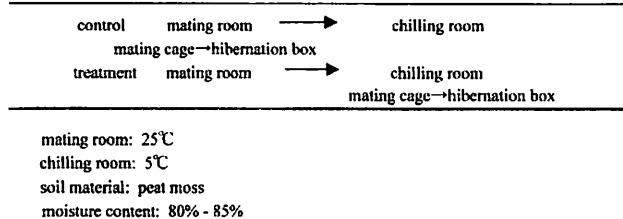


Fig. 16. Effect of pre-chilling treatment on survival rate of *B. ignitus* queens during artificial hibernation

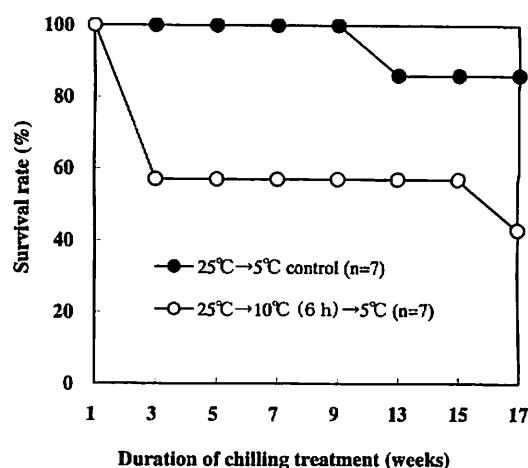
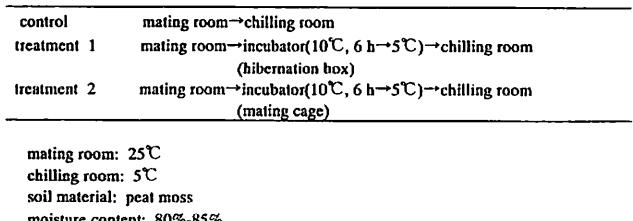


Fig. 15. Effect of pre-chilling treatment on survival rate of *B. ignitus* queens during artificial hibernation

control	mating room → chilling room
treatment	mating room → incubator(10°C, 6 h → 5°C) → chilling room (hibernation box)

mating room: 25°C  
chilling room: 5°C  
soil material: vermiculite  
moisture content: 50% - 60%

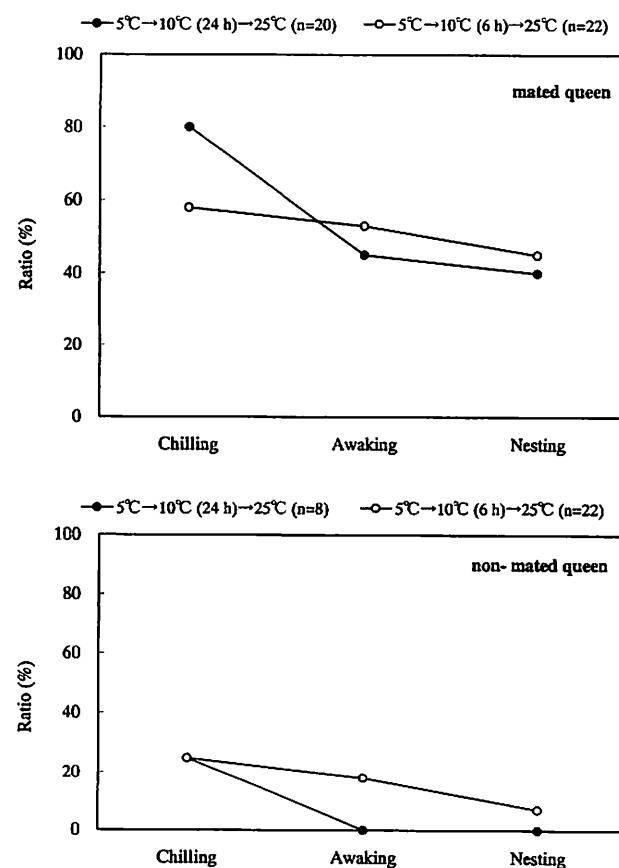


Fig. 17. Effect of post-chilling treatments on survival rate of laboratory-reared *B. ignitus* queens

Chilling: Survival rate during 4 months at 5°C  
Awaking: Survival rate during 7 to 10 days at 25°C in flight cage  
Nesting: Ratio of first egg-laying queens under rearing conditions

低温処理から覚醒室に移す処理は、5°Cから10°C、25°Cと段階をつけたところ、10°Cの時間は、オオマルハナバチと同様に24時間よりも6時間の方が覚醒期間中の生存率が高い傾向が見られた(Fig.17)。以上の結果から、交尾処理後に低温室に移す方法としては、オオマルハナバチ同様、交尾室で低温処理用の容器に女王蜂を入れて、そのケースを直接低温室に入れる方法が良いことがわかった。

#### (4) 営巣準備日数と働き蜂および新女王蜂生産数の関係

野外採集および室内飼育の女王蜂の飼育結果では、両者とも、営巣準備日数(p.9材料および方法)とコロニー当たりの働き蜂生産数には負の相関が認められた( $p<0.01$ ) (Table 11)。そこで、室内飼育女王蜂に関して、営巣準備日数で10日おきに類別し、コロニー当たり

の働き蜂と新女王蜂の生産数を比較したところ、オオマルハナバチでは、営巣準備日数が長くなるほど、コロニー当たりの働き蜂と新女王蜂の生産数が減少する傾向にあった。特に、21日間以上かかったコロニーでは、有意に少なくなった( $p<0.01$ ) (Table 12)。データ数が少ないことから統計処理は行っていないが、これらの傾向は野外採集女王蜂の飼育結果でも見られた(Table 13)。そこで、営巣準備日数が1から20日間のコロニーと21日間以上のコロニーにわけ、それぞれの働き蜂、新女王蜂の生産数別のヒストグラムをFig.18に示した。いずれのグループでも働き蜂、新女王蜂の生産数が0から20頭の範囲での頻度が高いが、20頭を超える生産性を示したコロニーは、営巣準備日数が1から20日間のコロニーにのみ見られた。

Table 11. Correlation between latent period until oviposition<sup>\*1</sup> and production of workers and progeny queens

Species	Number of colonies	Production of workers		Production of progeny queen	
		r <sup>2</sup>	r <sup>2</sup>	r <sup>2</sup>	r <sup>2</sup>
<i>B. hypocrita</i>					
Field-collected queen	54	-0.474		-0.511	
Laboratory-reared queen	75	-0.410		ns <sup>*3</sup>	
<i>B. ignitus</i>					
Field-collected queen	20	-0.648		ns <sup>*3</sup>	
Laboratory-reared queen	78	-0.464		-0.334	

\*1 Period from first day of laboratory rearing to first day of oviposition

\*2 Spearman rank correlation test ( $p<0.01$ )

\*3 Spearman rank correlation test ( $p>0.05$ )

Table 12. Effect of latent period until oviposition on production of workers and progeny queens in laboratory-reared queens

Latent period until oviposition(days) <sup>*1</sup>	Number of colonies	Number of workers per colony		Number of progeny queens per colony	
		Mean <sup>*2</sup>	Range	Mean <sup>*2</sup>	Range
<i>B. hypocrita</i>					
1-10	41	49 a	0~179	12 a	0~109
11-20	24	37 a	0~203	13 a	0~157
>21	10	3 b	0~10	1 b	0~10
<i>B. ignitus</i>					
1-10	22	103 a	15~222	33 a	0~183
11-20	31	58 b	0~198	7 b	0~65
>21	25	44 b	0~190	6 b	0~44

\*1 Period from first day of laboratory rearing to first day of oviposition

\*2 Means followed by different letters in the same column are significantly different ( $p<0.01$ ) by the Mann-Whitney U-test.

Table 13. Effect of latent period until oviposition on production of workers and progeny queens in field-collected queens

Latent period until oviposition (days) <sup>1</sup>	Number of colonies	Number of workers per colony		Number of progeny queens per colony	
		Mean	Range	Mean	Range
<i>B. hypocrita</i>					
1-10	40	38	0~134	6	0~35
11-20	3	13	0~19	13	0~34
>21	11	11	0~42	1	0~9
<i>B. ignitus</i>					
1-10	14	88	0~191	13	0~80
11-20	2	33	0~65	13	0~25
>21	4	11	0~20	4	0~1

<sup>1</sup> Period from first day of laboratory rearing to first day of oviposition

Table 14. Correlation between emergence of first workers and production of workers and progeny queens

Species	Number of colonies	Production of workers		Production of progeny queen	
		r <sup>1</sup>	r <sup>2</sup>	r <sup>1</sup>	r <sup>2</sup>
<i>B. hypocrita</i>					
Field-collected queen	53	-0.426		-0.428	
Laboratory-reared queen	61	-0.514		-0.380	
<i>B. ignitus</i>					
Field-collected queen	19	ns <sup>2</sup>		ns <sup>2</sup>	
Laboratory-reared queen	71	-0.445		-0.452	

<sup>1</sup> Spearman rank correlation test ( $p<0.01$ )

<sup>2</sup> Spearman rank correlation test ( $p>0.05$ )

Table 15. Relationship between successful emergence of first brood and production of workers and progeny queens in laboratory-reared queens

First brood emergence <sup>1</sup>	Number of colonies	Number of workers per colony		Number of progeny queens per colony	
		Mean <sup>2</sup>	Range	Mean <sup>2</sup>	Range
<i>B. hypocrita</i>					
Success	43	57 a	0~203	16 a	0~157
Failure	18	18 b	0~74	6 a	0~67
<i>B. ignitus</i>					
Success	57	78 a	0~222	18 a	0~183
Failure	14	27 b	0~143	3 b	0~17

<sup>1</sup> Classification of first brood emergence:

Success: Colonies with first worker emergence in 16 to 28 days

Failure: Colonies with first worker emergence in 29 or more days

<sup>2</sup> Means followed by different letters in the same column are significantly different ( $p<0.01$ ) by the Mann-Whitney U-test.

クロマルハナバチでは、営巣開始後1から10日間までのコロニーでの働き蜂と新女王蜂の生産数が、11日間以上のコロニーよりも、有意に多いことが示された ( $p<0.01$ ) (Table 12). また、これらの傾向は野外採集女王蜂の飼育結果でも同じ様であった (Table 13). オオマルハナバチと同様に、営巣準備日数が1から10日間のコロニーと11日間以上のコロニーにわけた場合の、それぞれの働き蜂、新女王蜂の生産数別のヒストグラムをFig.19に示し

た. 1から10日間のコロニーでは、小型から大型のコロニーまでほぼ同じような頻度で得られたのに対し、11日間以上のコロニーでは、働き蜂生産数が100頭以上のコロニーが少なくなる傾向が見られた. 新女王蜂生産数は、両グループとも0から20頭の範囲の頻度が高いものの、1から10日間のコロニーでは、80頭以上の新女王蜂を生産した大型のコロニーが3群見られた.

Table 16. Relationship between successful emergence of first brood and production of workers and progeny queens in field-collected queens

First brood emergence <sup>1</sup>	Number of colonies	Number of workers		Number of progeny queens	
		Mean	Range	Mean	Range
<i>B. hypocrita</i>					
Success	32	40	0~134	7	0~35
Failure	21	21	0~64	4	0~34
<i>B. ignitus</i>					
Success	12	89	16~191	17	0~80
Failure	7	37	0~147	1	0~6

<sup>1</sup> Classification of first brood emergence

Success: Colonies with first worker emergence in 16 to 28 days

Failure: Colonies with first worker emergence in 29 or more days

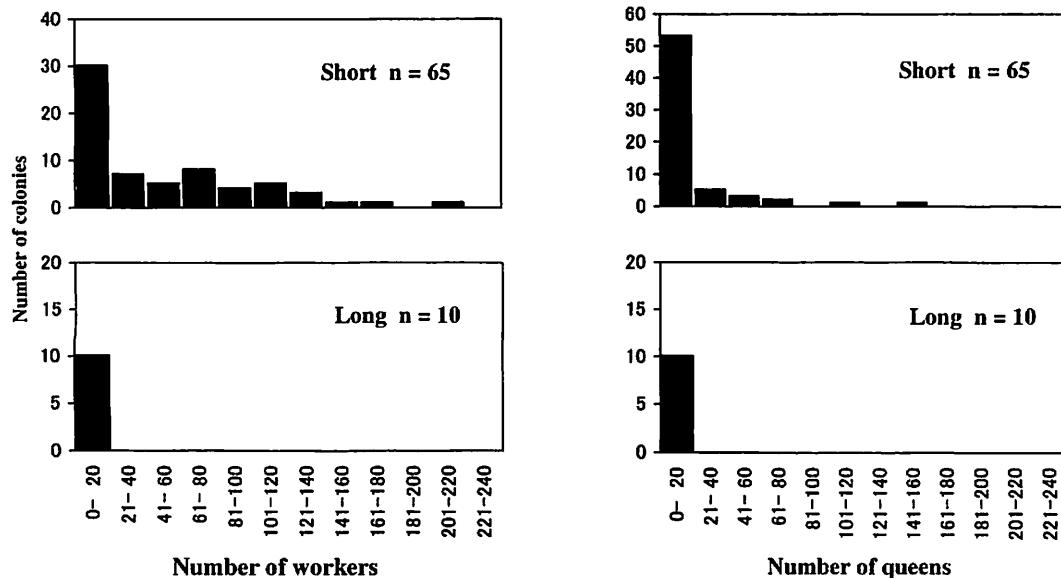


Fig. 18. Relationship between latent period until oviposition and queen/worker productivity in *B. hypocrita* colonies originating from laboratory-reared queens

Short: Colonies with latent period until oviposition in 1 to 20 days

Long: Colonies with latent period until oviposition in 21 or more days

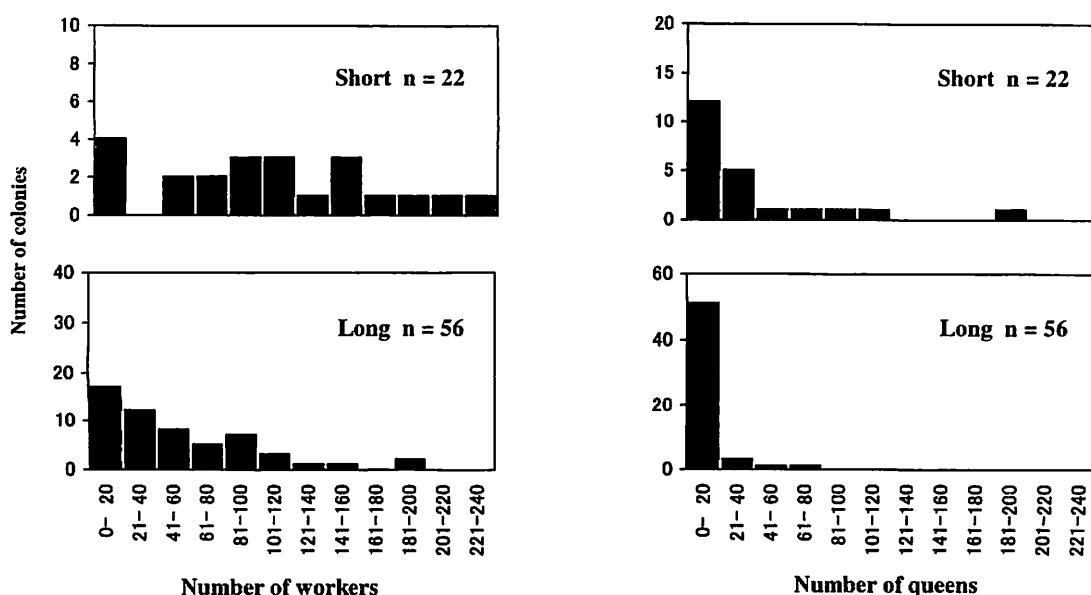


Fig. 19. Relationship between latent period until oviposition and queen/worker productivity in *B. ignitus* colonies originating from laboratory-reared queens

Short: Colonies with latent period until oviposition in 1 to 10 days

Long: Colonies with latent period until oviposition in 11 or more days



Fig. 20. Relationship between emergence of first worker and queen/worker productivity in *B. hypocrita* colonies originating from laboratory-reared queens

Success: Colonies with first worker emergence in 16 to 28 days  
Failure: Colonies with first worker emergence in 29 or more days

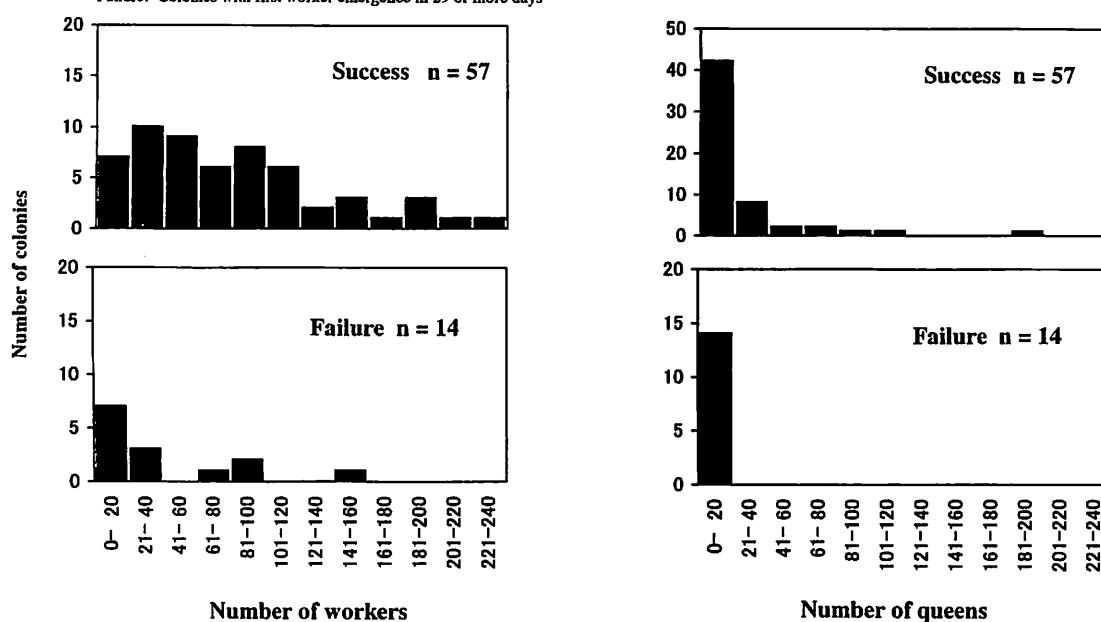


Fig. 21. Relationship between emergence of first worker and queen/worker productivity in *B. ignitus* colonies originating from laboratory-reared queens

Success: Colonies with first worker emergence in 16 to 28 days  
Failure: Colonies with first worker emergence in 29 or more days

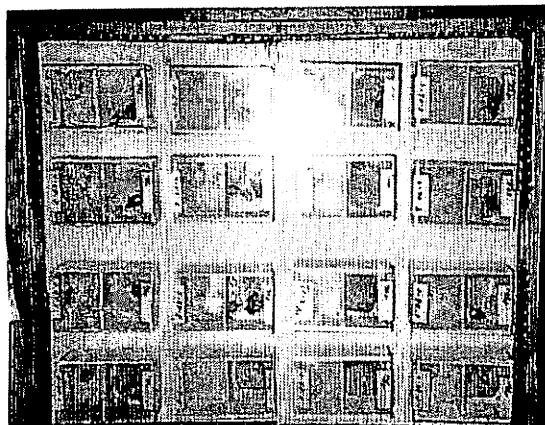
### (5) 第1蜂児の成長日数と働き蜂および新女王蜂の生産数の関係

室内飼育女王蜂の場合では、両種ともに第1働き蜂の成長日数(p.4 材料および方法)と働き蜂、新女王蜂の生産数とに、負の相関が認められ、野外採集女王蜂の場合では、オオマルハナバチのみに、負の相関が認められた(Table 14)。オオマルハナバチでは、第1働き蜂の成長日数が16から28日間のコロニーが、29日間以上のコロニーよりも、働き蜂の生産数が多く( $p<0.01$ ) (Table

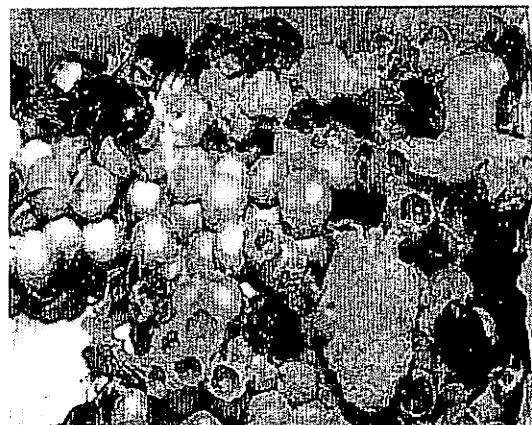
15), クロマルハナバチでは、働き蜂、新女王蜂の生産数の両方で多かつた( $p<0.01$ ) (Table 15)。また、これらの傾向は野外採集女王蜂の飼育結果でも見られた(Table 16)。室内飼育条件下での、第1蜂児の成長日数は、オオマルハナバチが $23 \pm 2.5$ 日(最短16日、最長28日)、クロマルハナバチが $24 \pm 2.3$ 日(最短16日、最長28日)であり(Table 4), 本実験での、16から28日間のコロニーは、この範囲に入り、第1蜂児の育児に成功しているものと考えられる。しかし、29日間以上のコロニーでは、第1蜂児の

育児に失敗したと判断され、その結果として、働き蜂生産数が少なくなることが示された。

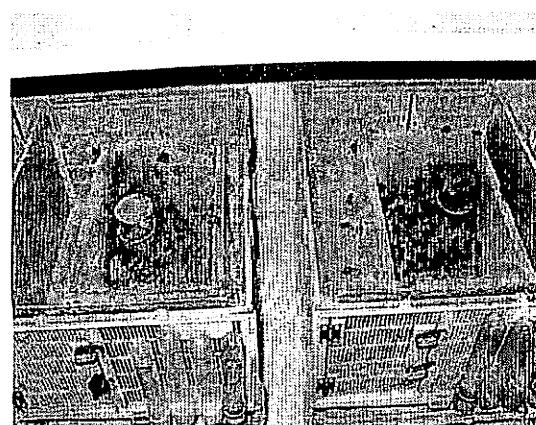
そこで、第1蜂児の育児に成功したと思われる成長日数16から28日間のコロニーと29日間以上のコロニーの、それぞれのグループについて、働き蜂、新女王蜂の生産数別のヒストグラムを示した(Fig.18~21)。オオマルハナバチでは、働き蜂の生産数が80頭以上の大型のコロニーは16から28日間のコロニーのみに見られた。新女王蜂の生産数は、両グループとも0から20頭の範囲の頻度が高いものの、100頭以上の新女王蜂を生産した大型のコロニーは、16から28日間のコロニーのみに見られた(Fig.20)。クロマルハナバチでは、働き蜂の生産数が100頭以上の大型のコロニーが16から28日間のコロニーに多い傾向があり、新女王蜂の生産数も、29日間以上のコロニーでは0から20頭の範囲だけなのに対して、16から28日間のグループでは、181から200頭の範囲で新女王蜂を生産した大型のコロニーも見られた(Fig.21)。



Nest initiation stage



Social stage



Mature stage, producing reproductives

Fig. 22. Three developmental stages of Japanese bumblebee colonies in laboratory rearing

ニーは16から28日間のコロニーのみに見られた。新女王蜂の生産数は、両グループとも0から20頭の範囲の頻度が高いものの、100頭以上の新女王蜂を生産した大型のコロニーは、16から28日間のコロニーのみに見られた(Fig.20)。クロマルハナバチでは、働き蜂の生産数が100頭以上の大型のコロニーが16から28日間のコロニーに多い傾向があり、新女王蜂の生産数も、29日間以上のコロニーでは0から20頭の範囲だけなのに対して、16から28日間のグループでは、181から200頭の範囲で新女王蜂を生産した大型のコロニーも見られた(Fig.21)。

## 考 察

### (1) オオマルハナバチとクロマルハナバチの室内周年飼育

野外で採集した越冬後のオオマルハナバチ、クロマルハナバチの女王蜂の営巣率は、センチュウに寄生された個体を除けば約90%であり、この両種が室内飼育に適していることがここでも示された。さらに、室内飼育下で生まれた女王蜂に営巣させることにも成功した。野外での女王蜂は、秋期から翌年の春期までの約7から9か月を越冬状態でいるが、今回、4か月の低温処理での継代飼育が可能であることが明らかとなった。また、室内飼育世代の女王蜂の営巣率が野外採集個体の飼育結果に比べて低い傾向にあったが、その原因が両種で示された。

オオマルハナバチの場合、低温処理から覚醒させる時の温度管理、および供試する新女王蜂の日齢管理の2点が重要であった。5℃の低温処理条件から25℃に移動する時には、女王蜂を保持しているケースを開けずに、10℃を6時間経過させた後に、25℃にまで温度を上げ、女王蜂を保持しているケース内も同じ温度になった時点で開放することが、その後の女王蜂の高い生存率を維持することに重要であることがわかった。一方、交尾後に、5℃の低温室に移すときには、直接20～25℃から5℃に移動させた方が、生存率が高い傾向が見られた。これら2種のマルハナバチが生息している場所では、新女王蜂が生産される晩夏から秋、および越冬後の春には日没後、急速に気温が低下する。この時点では、昼間の温度が高い時に飛翔筋で体温を上げている女王蜂は、夜間を単独で過ごす場所を外気温が低下する中でも探索することが可能であると考えられる。その後、最適な場所を見つけた女王蜂の体温は、活動を停止することで徐々に低下するが、この程度は自らの飛翔筋で調節することは可能と考えられる(Heinrich 1979<sup>11</sup>)。これらのことから、室内条件下でも飛翔可能なケージで飼育していた女

王蜂を室温から低温室に直接移しても、体温の調節が可能であることから、生存率に影響ないと考えられた。一方で、5°Cから直接25°Cに移す処理では、その手順により女王蜂の生存率に大きな影響が見られた。マルハナバチが生息する林縁や林床部では、日没後の温度低下は早いものの、日の出後の温度の上昇は緩やかである。特に林床では、日光が差し込んでも、気温が本実験のように20°Cも瞬時に温度が上昇するとは考えにくい。マルハナバチの女王蜂は、活動前には飛翔筋を動かし、徐々に筋肉の温度を30°C以上まで上げる(Heinrich 1979<sup>a</sup>)。本実験での温度管理は、マルハナバチを5°Cから10°Cに移することで、活動を促すとともに6時間保持することで、女王蜂自らの行動で体温を調節することが可能になったと考えられる。マルハナバチの女王蜂は、単独活動期の環境要因の影響を強く受け、その影響は営巣行動およびそのコロニーの成長に影響する(Duchateau 1991)。これらのことから、低温から覚醒させる時には、女王蜂自らが、常温下で行動できるように、その活動を促すような管理が必要であると考えられた。

オオマルハナバチでは、もう一点、交尾開始までに羽化後10日以上経過させないことが、増殖率の向上につながることが示唆された(Fig.10, 11)。Alford (1969<sup>b</sup>)は、新女王蜂の羽化後0から4日目までは、体内の脂質成分量が増加することを、4種のマルハナバチについて報告している。オオマルハナバチ、クロマルハナバチではこの知見はないが、先の報告内容および巣内での新女王蜂の行動が羽化後4から5日目以降に活発になることから考え、継代飼育処理に用いる新女王蜂には、羽化後4から5日以降の個体が適していると考えられた。Katayama (1974)では、新女王蜂が出巣した後に再び巣に戻ってくる行動が観察されている。女王蜂は数日間、昼間を巣外で活動し、その後巣に戻ってこなくなる。この時点で女王蜂は交尾を済ませ、単独生活に入ると想像される。室内飼育下では、女王蜂が羽化後3から5日程度を経過すると、巣の外に出ようとする行動を示す。ここで女王蜂を交尾室に移すと、7日の交尾期間を加えて、羽化後10から12日後に越冬に入ることになり、これはKatayama (1974)が観察した例とほぼ一致している。一方、10日以降を経過させた女王蜂は、羽化後17日以上経過したところで越冬に入っていることになる。また、この場合女王蜂が巣の外に出られずに、巣内に閉じ込められていた点で野外の条件とは大きく異なる。以上のことから、女王蜂の羽化後の加齢の影響については、1)女王蜂の低温処理に入る適期を示している、2)飼育容器内で日齢が経過

することによって、新女王蜂が弱ってしまい、その結果生存率が低くなった、といった2点が要因として考えられた。

クロマルハナバチの場合でも、交尾から低温処理、覚醒の間の温度管理は、オオマルハナバチの場合とほぼ同じ条件が適当と考えられた。しかし、低温処理中の代用土壤の水分率を50から70%にすることが生存率を高めるうえで重要であることが、乾燥した代用土壤でも高い生存率を示したオオマルハナバチの場合と大きく異なった。クロマルハナバチは、オオマルハナバチに比べて標高の低い場所に生息する平地性の種類である(伊藤 1993)。さらに、国内での分布も局所的であり、クロマルハナバチの生息に好適な条件はまだ明らかにされていない。本結果は、室内飼育といった条件であるが、野外でのクロマルハナバチ女王蜂の越冬生態を考えるうえでも参考になるとと考えられた。

## (2) 劣勢なコロニーの早期検出技術

自然状態でのマルハナバチの創設女王蜂は、越冬後、営巣行動に入るまで、営巣場所の探索のために野外を飛翔しながら、単独生活をする(Alford 1975)。この間に、女王蜂は生理的な変化を自ら調節することが可能となる。Röseler (1985)は、セイヨウオオマルハナバチの室内飼育で、低温条件で人工的に越冬させた女王蜂を覚醒させる方法として、二酸化炭素による麻酔処理および10分間程度の室内飛翔処理を交互に行う方法を提唱している。二酸化炭素施用は、越冬を回避させ、すぐに営巣行動を解発させる効果があり(Röseler 1985)，そのタイミングや濃度などの条件が女王蜂に及ぼす影響には一定の傾向が見られるが(Tasei 1994)，二酸化炭素施用が、集団で管理している女王蜂の生理状態を揃える効果を有するかについては、明らかにされていない。本実験では、女王蜂を低温処理終了後、自然日長下の飛翔が可能なケージ内で、一週間飼育した後に、全暗の飛翔空間のない飼育容器内で強制的に営巣させており、二酸化炭素施用は行っていない。供試女王蜂間での営巣準備日数の差は、低温処理から営巣行動に入るまでの、女王蜂の生理的変化の時間差に起因していることが予想され、一斉に飼育を始めても営巣の開始に個体差が生じがちである。この日数が長い女王蜂ほど、小型のコロニーを作る傾向があったことから、室内飼育の生産性を向上させるには、女王蜂を一斉に営巣させることが有効な技術となる。そのためには、今後、低温処理後の女王蜂の生理状態を揃える集団管理技術を確立する必要がある。

一方、室内飼育条件下でも、低温処理後の創設女王蜂を最適な時期に営巣させることで、コロニー間の働き蜂生産数の差を少なくできると考えられるが、現状では女王蜂の外部形態などから、その時期を識別することは困難であり、また、大量飼育下では個別に観察することも難しい。そこで、コロニー当たりの働き蜂生産数の変異を縮めること、および劣勢なコロニーを早期に飼育系から除くことを目的としたコロニーの選別は、大量飼育下での製品化率向上のために有効であると考えられる。また、これらの選別は機械的に行うことが可能である。

本節で対象とした第1働き蜂の成長日数は、第1蜂児の育児の成否がコロニーの発達程度に及ぼす影響を指標としたものである。Katayama(1973,1975)では、産卵から羽化までの働き蜂の成長日数をオオマルハナバチで24.3日、クロマルハナバチで28.9から29.1日としている。本試験での飼育条件下では、恒温条件の飼育室でコロニーを管理するために、両種ともその成長日数が早まる傾向にあった。そのため、この指標に用いた日数は、恒温条件で管理されたコロニーについて適用できるものと考えられる。

Müller and Schmid-Hempel(1992)は、*B. lucorum*のコロニーで、働き蜂を人為的に取り除くストレス処理が、コロニーの成長に及ぼす影響について報告している。営巣初期では、オス蜂生産に、営巣後期の処理では、新女王蜂生産に負の影響を及ぼしているが、この報告では、第2蜂児の除去を営巣初期の処理にしているのに対し、本実験では第1蜂児の育児失敗、すなわち、第1蜂児の除去とみなされる点で異なり、Table 14, 15, 16, Fig.20, 21の結果は営巣初期での第1蜂児除去のストレスがコロニーの成長に及ぼす影響を示していると考えられる。Asada and Ono(2000)は、オオマルハナバチとクロマルハナバチの創設女王蜂の産卵様式には4期に大別できるパターンがあり、働き蜂生産には第1期、2期、3期の前半が関与していると報告している。初産卵から23日後には、第1蜂児の羽化が見られ、その時期の創設女王蜂は、第2期から第3期の産卵期に入っている。この時期に羽化する第1蜂児は、第2期、3期の働き蜂幼虫の育児や営巣行動を行うことから、コロニー内の第1蜂児の欠如は、第2期、3期の蜂児の育児までを創設女王蜂に負わせる結果となり、その後のコロニーの働き蜂、新女王蜂の生産数に負の影響を及ぼすことが考えられる。本結果では、オオマルハナバチとクロマルハナバチで第1蜂児の成長日数が、29日間以上を経過したコロニーでは、16から28日間のコロニーよりも、働き蜂生産数が少なくなるこ

とが示され、これらのコロニーを飼育系から除くことが、製品化率を向上させることに有効であることが示唆された。

Fig.18からFig.21 の働き蜂生産数別のヒストグラムについて2種間の違いを比較すると、オオマルハナバチでは右下がりの傾向が強く見られるが、クロマルハナバチでは、それが弱い。また、Fig.20およびFig.21で示された第1蜂児の成長日数と新女王蜂の生産数との関係を見ると、クロマルハナバチでは、第1蜂児の育児に成功したコロニーの方が失敗したコロニーよりも新女王蜂生産数が有意に多いが、オオマルハナバチでは有意差が認められない。これらの結果は、オオマルハナバチが、営巣の初期段階から新女王蜂の生産が可能であるといった、クロマルハナバチでは見られない特性をもつこと(Asada and Ono 2000)と関係していると考えられる。

マルハナバチ類の単独営巣期からの閉鎖環境での室内飼育の成功例は、Plowright and Jay(1966)で報告されているが、ここでも同じ飼育条件下でのコロニーサイズの変異が示されている。セイヨウオオマルハナバチでも同様の傾向が認められているが、この場合 *Bombus terrestris terrestris*と*Bombus terrestris sassaricus*の亜種間で、働き蜂生産数の変異が示されており、コロニーサイズの変異には、遺伝的な形質が関与している可能性も考えられる(Duchateau and Velthuis 1988)。本実験でのオオマルハナバチ、クロマルハナバチのコロニーサイズにも同様に大きな種内変異があり、今後、コロニーサイズの大型化および齊一化には、遺伝的な要因がコロニーサイズの変異に及ぼす影響を明らかにする必要がある。Asada and Ono(2000)は、オオマルハナバチの方が、クロマルハナバチより、コロニーサイズにおける遺伝的な変異が大きいことを報告しており、同じような形質のコロニーを大量生産するためには、前者の方が選抜を行う必要性が高いと考えられる。今後、マルハナバチ類の飼育技術の向上には優良系統の選抜に加え、飼育期間の短縮、製品化率の向上が重要と考えられる。本研究に示された知見は、セイヨウオオマルハナバチと同様の大量増殖系を日本在来種で構築する際に、働き蜂および新女王蜂の生産性が低いコロニーを早期に検出し、飼育系から除き、飼育コストを削減させる上で大きな示唆を与えるものといえよう。今後はさらなる製品化率の向上のために、病原生物や不良形質を飼育系から除くことを含め、コロニーの成長を数値化し、正常に成長しているコロニーを機械的に選抜するシステムを作ることが重要であると考えられる。

## 第2節 室内飼育条件下でのコロニーの成長解析

### 緒 言

マルハナバチ室内周年増殖技術の開発のために、コロニーの成長解析を行った。Sladen(1912)は、マルハナバチのコロニーが成長する過程で、最初に働き蜂が生産され、後半にオス蜂、新女王蜂が生産されることを観察しており、その後、オス蜂生産は、新女王蜂生産から徐々に切り替わることが報告されている(Cumber 1949)。これ以降のコロニーの成長に関する研究では、コロニーの規模を大きくする働き蜂生産時期から、次世代を残すための繁殖虫であるオス蜂、新女王蜂生産にコロニーがどのようにして切り替わるのかが注目された。Duchateau and Velthuis(1988)では、セイヨウオオマルハナバチの飼育結果から、働き蜂から繁殖カスト生産に切り替わる点を、働き蜂からオス蜂への切り替え、すなわち受精卵から未受精卵の産卵への切り替え点としたスイッチングポイント(以下Switching point: SPと略す)であり、その時期は女王蜂のもつプログラムであることが指摘された。SPの時期にはコロニーごとに早いタイプ、遅いタイプがあり、新女王蜂生産はそれぞれで異なることから、セイヨウオオマルハナバチには次世代をより多く残す戦略としてコロニーの成長パターンに多様性があることを説明している。しかし、そのメカニズムについては言及されず、その後、SPの時期は、創設女王蜂が単独生活期間に受ける環境要因の影響によって大きな影響を受ける可能性が高いともされている(Duchateau 1991)。

Katayama(1973, 1975)は、SP前後に作られた卵室の成長を記録し、オオマルハナバチ、クロマルハナバチでは、SPは絶対的な切り替えではなく、2種の卵がSPを前後に同一の卵室に混在しながら切り替わっていくことを確認した。また、この切り替え時の受精卵の多くが新女王蜂に成長していることも記録している。しかし、野外から採集したコロニーでの記録のため、営巣初期からSPまでの継続した報告例はない。

セイヨウオオマルハナバチの営巣後期に見られる働き蜂と女王蜂および働き蜂間での競合行動には、老齢の働き蜂が関与しており(van Honk *et al.* 1981, van Doorn and Heringa 1986)、この行動の変化は女王蜂が出すフェロモンの変化に起因しているとされている(van Honk and Hogeweg 1981)。セイヨウオオマルハナバチの働き蜂は、創設女王蜂が正常に営巣行動を続けているコロニー内の働き蜂でも、羽化後15日頃には卵巣が発達している(Duchateau and Velthuis 1989)。この点では、セイヨウミ

ツバチのように女王蜂が正常に産卵している間は、女王蜂のフェロモンによって働き蜂の卵巣発達などの雌としての機能の発達がほぼ完全に抑制されている(Butler 1954)のと、大きく異なる。この競合行動は、一時的にコロニー内の卵、幼虫、蛹がほとんど無くなり、場合によってはこの時点では営巣が終わる場合もあり、室内飼育では重要な問題である。しかし、日本在来種の室内飼育下では、Katayama(1973, 1975)で卵室が無くなる現象を記載している程度で、詳細な観察記録はない。

そこで、本節では、より完全な形でこれらのコロニーの成長記録を解析するため、室内飼育世代の女王蜂を単独で飼育し、営巣を開始した時点からのデータを記録し、オオマルハナバチとクロマルハナバチの産卵パターンと働き蜂、オス蜂、新女王蜂の増え方など、コロニーの成長様式を明らかにするとともに、SP、および新女王蜂の生産、競合行動について、2種間を比較する見地から解析した。なお、本節の結果は、Asada and Ono(2000)に報告した。

### 材料および方法

#### (1) 供試虫およびコロニーの成長記録

成長記録をつけたコロニーは、第1章第1節の材料および方法(1)で述べたものを用いた。なお、本節では、オオマルハナバチ、クロマルハナバチの両種について、野外採集女王蜂および室内飼育女王蜂のいずれでも、創設女王蜂の単独飼育で営巣させたコロニーについて調査を行った。

各コロニーについて、初産卵日、第1働き蜂の羽化日、第1オス蜂の羽化日、新女王蜂の羽化日、競合行動の始まった日を記録した。競合行動は、Duchateau and Velthuis(1988)に従って、働き蜂による卵室の破壊、食卵、働き蜂産卵、創設女王蜂への攻撃のいずれかが確認された最初の日(Competition point, 以下CPと略す)とした。

さらに、詳細なデータを要するコロニーについては、Fig.23に示したように、飼育開始から巣の形を1~2日おきにスケッチで記録した。各卵室には作られた順番に番号を付けてその作られた日を記録するとともに、それぞれの卵室から成虫が羽化した日およびその成虫のカストを記録した。これにより、SPの記録をとった。同様に、新女王蜂が羽化した卵室が作られた日(Queen production point, 以下QPと略す)を記録した。さらに、第1節の劣勢群の早期選抜指標で除かれるコロニーは、本調査から除外した。

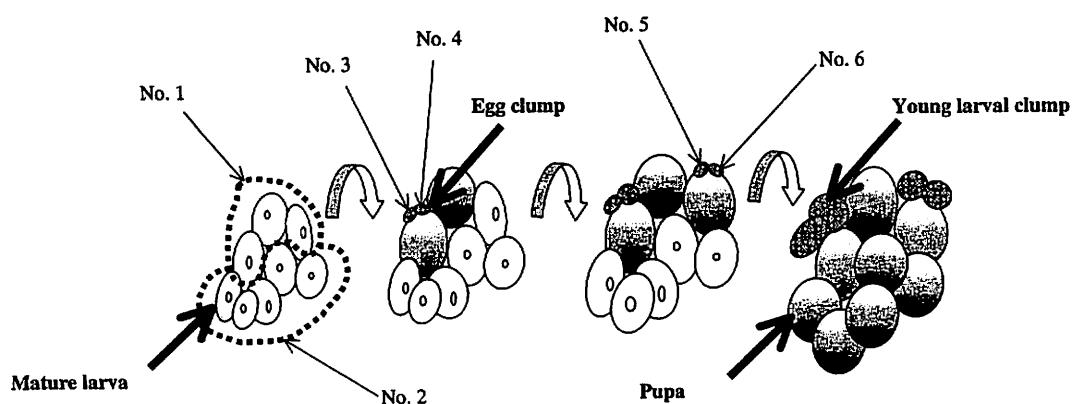


Fig. 23. Diagram of colony development in laboratory rearing

The shape of egg cells and brood clumps in colonies produced by laboratory-reared queens were recorded every 1–2 days after first oviposition. All egg cells were given a serial number, and the date of adult emergence, sex, caste, switching point, and onset of progeny-queen production were recorded. The beginning of competition between a queen and workers was recognized by worker behaviors such as egg robbing, egg laying and attacking the foundress queen.

創設女王蜂の産卵パターンを解析するため、各卵室が作られた日のスケッチ記録から、Duchateau (1991) が、セイヨウオオマルハナバチの観察記録で4つに定義した卵期をオオマルハナバチ、クロマルハナバチに適用した。

1期：第1蜂児の数個の卵室。

2期：第2蜂児の数個の卵室で、第1蜂児が蛹化した繭の上に作られる。

3期：2期の産卵が途切れ、次に始まる産卵期。1期2期と異なり、連続して卵室が形成され、競合行動の開始が終点となる。

4期：競合行動後の産卵。

## (2) 受精卵産卵期間の計算および推定方法

各コロニー間でのSPのタイミングを比較するために、前記の方法でスケッチ記録したコロニーについて、受精卵の産卵期間を求めた。受精卵産卵期間は、初産卵日からSPまでの日数とした。

次に、スケッチをしていなかったコロニーについても、SPを推定するために、オス蜂の産卵から羽化までの成長日数を求め(Table 17)，下記の式のよって、受精卵産卵期間を推定した。

$$\text{推定受精卵産卵期間} = \text{初産卵日} - (\text{初オス蜂羽化日} - \text{オス蜂成長日数})$$

なお、この推定式によって求めた受精卵産卵期間とスケッチによる実測値から得た受精卵産卵期間を、同一コロニーを用いて比較し、推定式の精度を検討した。

以上の方法で得たデータをオオマルハナバチとクロマルハナバチの種間で比較を行った。さらにオオマルハナバチについては、山梨県忍野村産、および静岡県小山町産の系統をFig.24の方法で継代飼育し、それぞれの世代について、2地域個体群間での比較を行った。忍野村では、標高950～1100mの範囲、小山町では、標高1150～1400mの範囲で採集した。両地とも冬期には積雪がある。忍野村では、市街地の平野部から峠までの範囲が採集地域であり、その峠から南西約1.5kmに標高1413mの石割山、北東には一旦標高700m付近まで下がった谷を越えた先に標高1682mの御正体山がある。一方、小山町は、標高3776mの富士山の稜線であり、2000m付近まではオオマルハナバチの分布が見られる。

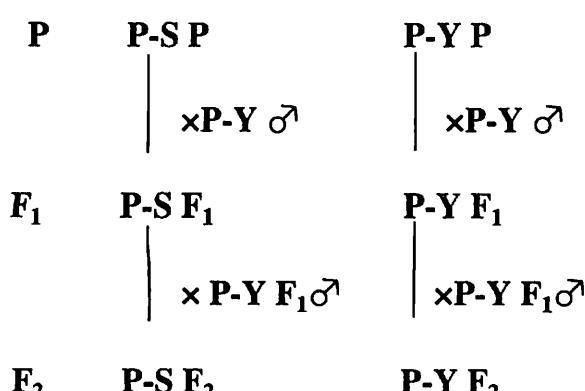
Fig. 24. Mating protocol for comparing of the colony development between two local populations of *B. hypocrita*

Table 17. Average developmental periods of males and queens in two laboratory-reared *Bombus* species

Species	Sex	n	Developmental period (days)			
			Mean	± SD	Min.	Max.
<i>B. hypocrita</i>	Male	84	25	±1.1	22	26
	Queen	45	28	±1.1	26	29
<i>B. ignitus</i>	Male	229	26	±1.4	23	28
	Queen	56	27	±1.3	25	29

## (3) 新女王蜂生産期の推定方法と早晚性の分類

スケッチしたコロニーから得たQPのデータについて、コロニーごとに初産卵日からQPまでの日数を計算した。なお、連続して新女王蜂が羽化した場合には、最初の新女王蜂が羽化した日をQPとしたが、一度新女王蜂生産が終わった後に、再び新女王蜂生産が始まった場合には、それぞれの生産期における最初の新女王蜂の羽化日をQPとしたため、コロニーによってはQPが2回記録される場合もあった。

次に、スケッチをしていなかったコロニーについても、QPを推定するために、新女王蜂の産卵から羽化までの成長日数を求め(Table 17)，下記の式のよって、QPを推定した。

$$\text{推定QP} = \text{新女王蜂の羽化日} - \text{新女王蜂の成長日数}$$

なお、この推定式によって求めたQPとスケッチによる

実測値から得たQPを、同一コロニーを用いて比較するため、Fig.25に示すMQP(QPから第1働き蜂羽化日:(真社会性の開始)までの日数)を算出し、QPの推定式の精度を検討した。

次に、QPの早晚性をFig.25に示すMQP, SQPを用いてタイプ1から3に分類した。

MQP=QPから第1働き蜂羽化日までの日数。働き蜂羽化前にQPがある場合には正の数値となる。

SQP=QPからSPまでの日数。QPがSPの前か後ろかを判定する指標で、SPより前の場合には、正の数値となる。

なお、SQPは、すでに働き蜂がコロニー内にいることから、SPよりQPが前の場合をSQP $\geq 0$ とし、SPよりQPが後の場合にはSQP $\leq -1$ とした。MQPの場合は、第1働き蜂羽

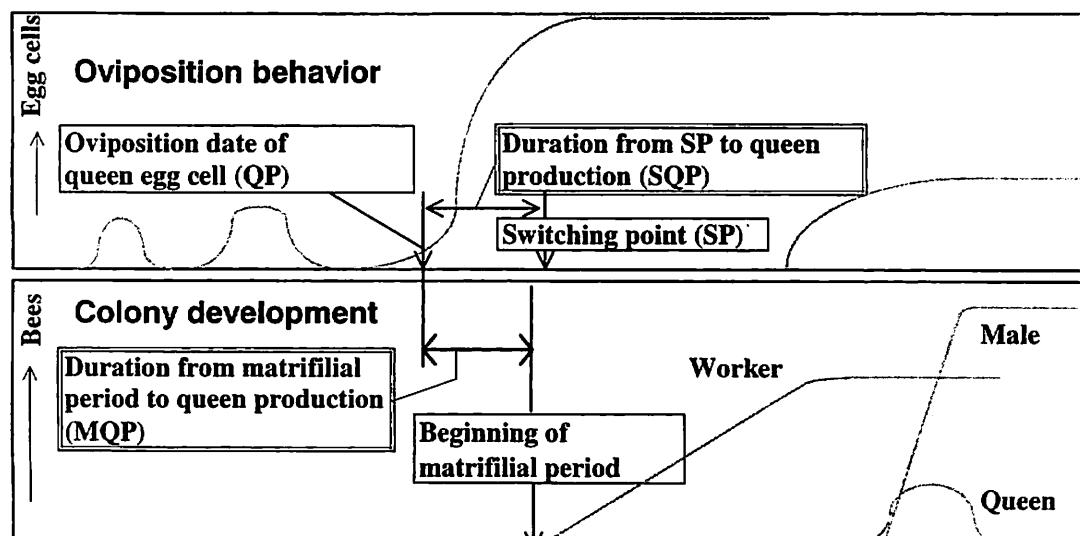


Fig. 25. Comparison of progeny-queen production parameters

化日とQPとの関係だが、QPが第1働き蜂羽化日よりも前であっても、まだ受精卵が働き蜂になるか新女王蜂になるかの未分化の段階にあることが予想される。そこで、セイヨウオオマルハナバチの場合は、孵化後3.5日までは未分化とされていることから(Röseler 1970)、第1働き蜂羽化日から4日目を基点として、新女王蜂生産時期を下記の3タイプに分類した。

タイプ1 ( $MQP \geq 5, SQP \geq 0$ )、

創設女王蜂の産卵2期に当たり、働き蜂が羽化する前の単独営巣期である。

タイプ2 ( $MQP \leq 4, SQP \geq 0$ )、

創設女王蜂の産卵3期にあたるが、SPよりも前もしくはSPの直前に作られた受精卵の卵室から新女王蜂が羽化した場合。

タイプ3 ( $MQP \leq 4, SQP \leq -1$ )、

創設女王蜂の産卵3期および競合以降の4期にある。ただし、3期でもSPの後である。

以上のことから、オオマルハナバチとクロマルハナバチの種間で比較を行った。さらにオオマルハナバチについては、SPの解析同様、山梨県忍野村産、および静岡県小山町産の系統をFig.24の方法で継代飼育し、それぞれの世代について、2地域個体群間での比較を行った。

#### (4) 競合行動の分類と観察記録の方法

オオマルハナバチ2コロニー、クロマルハナバチ1コロニーについて、直接競合に関する行動を観察した。観察した3コロニーの成長段階をFig.26に示した。初産卵からの日数を横軸にし、コロニーの成長段階を、単独営巣期

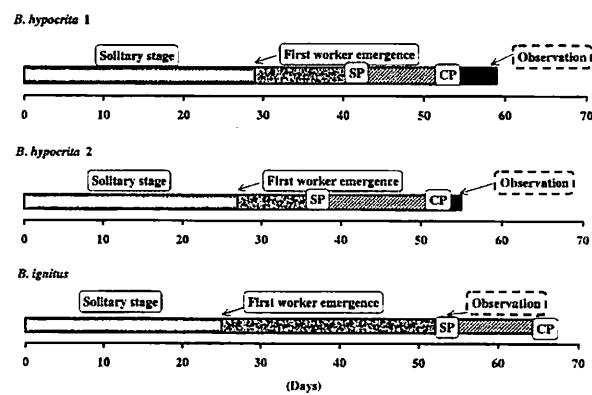


Fig. 26. Conditions of each colony for observation of competition behavior

→SP→CPで示した。観察したコロニーは、オオマルハナバチ2コロニーがCP後8日目、および4日目、クロマルハナバチは、同じコロニーをCP前12日およびCP直後に観察した。

観察は、コロニー内の働き蜂、女王蜂について、下記の6カテゴリーに分類し、1時間の連続観察を行い、働き蜂の行動の延べ回数をカテゴリー別に記録した。また、コロニー内の働き蜂には、羽化後の日齢に応じて胸部にマークをつけ、日齢別に行動を記録した。なお、同時に創設女王蜂の行動についても同時に記録した。

#### 競合に係わる働き蜂の行動

カテゴリー1：食卵、卵室破壊

カテゴリー2：女王蜂および他の働き蜂への攻撃

カテゴリー3：卵室形成

カテゴリー4：産卵

Table 18. Four age-groups of laboratory-reared workers of *B. hypocrita* and *B. ignitus*

Colony	Four Age-groups of workers				Days from first egg laying to competition	Duration of fertilized egg laying (days)
	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4		
<i>B. hypocrita</i>						
Control						
H-1	15	23	35	49	53	43
H-2	13	21	33	47	70	45
H-3	13	21	33	47	72	52
H-4	13	21	33	47	50	31
H-5	12	20	32	46	61	38
Removed group 1 workers						
H-6	13	21	33	47	52	37
H-7	13	21	33	47	56	44
<i>B. ignitus</i>						
Control						
I-1	12	20	32	46	49	45
I-2	13	21	33	47	57	45
I-3	12	20	32	46	46	54
Removed group 1 workers						
I-4	13	21	33	47	52	55
I-5	13	21	33	47	53	47
I-6	13	21	33	47	54	47

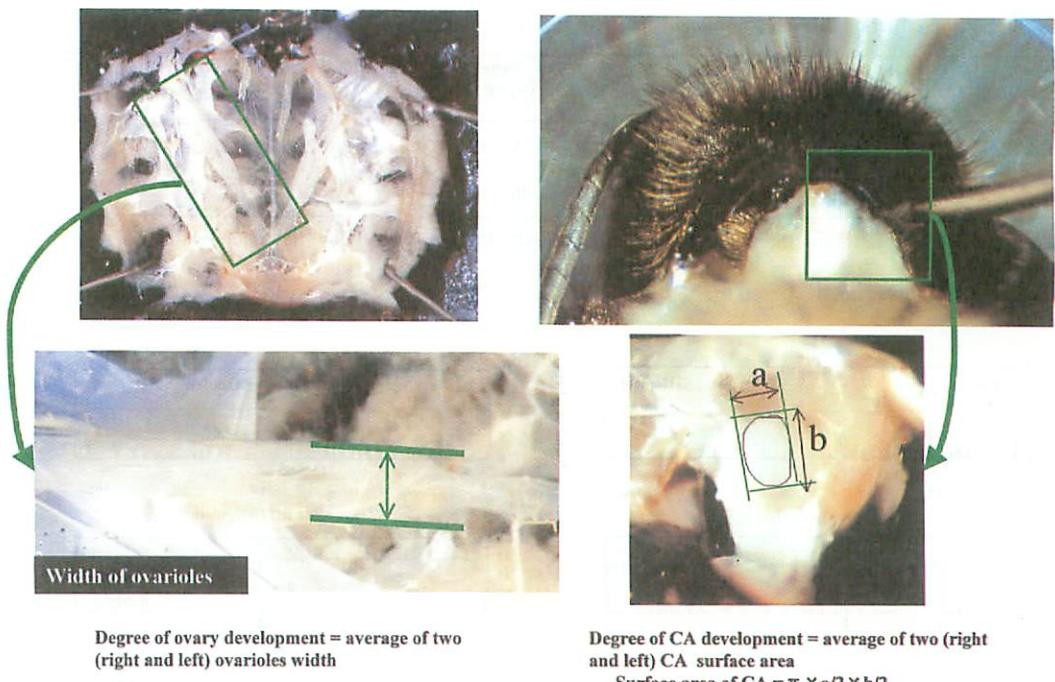


Fig. 27. Methods of evaluating of ovary and CA development in worker bumblebees

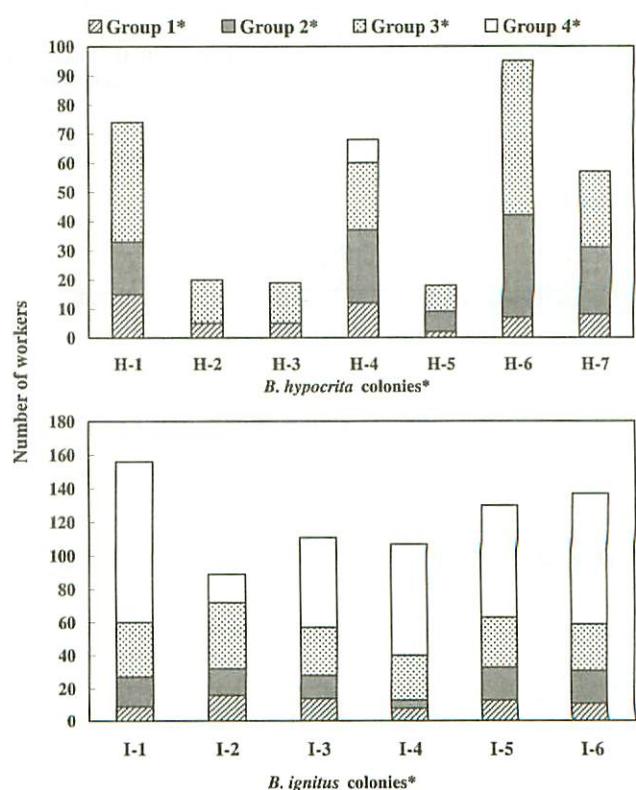
競合行動には関係が無いと考えられる行動

カテゴリー5: 壊れた卵室の修復(自ら産卵するための修復は除く)

カテゴリー6: 幼虫への給餌行動

これらの行動観察に合わせて、オオマルハナバチについて、競合後15日目および25日目に、コロニー内の全ての働き蜂について、卵巣とアラタ体の発達程度をFig.27に示す方法で記録した。アラタ体の発達程度は、笛川(1984)に従い、アラタ体の縦径、横径から表面積を計算し、この数値を発達程度とした。卵巣は、生理食塩水中で解剖した卵巣を腹部背面から観察し、卵巣小管の基部の幅を測定し、この値を発達程度とした。

次に競合期以降に見られる、働き蜂の死亡個体数の推移について観察を行った。第1節での飼育時に、競合期前は、コロニー内で死亡する働き蜂はほとんど見られないのに対して、競合期以降にはその数が急増する場合が見られたことから、オオマルハナバチ7コロニー、クロマルハナバチ6コロニーについてTable 18に示すように、働き蜂の羽化後の日齢別にマークをつけ、これらのコロニーの競合期以降に死亡する働き蜂の数を記録した。また、オオマルハナバチの2コロニー(Table 18 H-6, H-7), クロマルハナバチの3コロニー(Table 18 I-4, I-5, I-6)は、羽化後の日齢が最も経過しているGroup 1の働き蜂を、競合が始まった時期にコロニー内から除去した。なお、供試した各コロニーの働き蜂数を、4つに区分した日齢別にFig.28に示した。

Fig. 28. Number of workers produced in four age-groups\* of *B. hypocrita* and *B. ignitus* for observation of competition behavior

\*See Table 18

Table 19. Comparison of period of each phase and number of egg cells per day in two *Bombus* species from laboratory-reared queens<sup>\*1</sup>

Species	n	Phase 1		Phase 2		Phase 3 before SP <sup>2</sup>		Phase 3 after SP		Phase 4 <sup>3</sup>	
		Period (days)	No. cells/day	Period	No. cells/day	Period	No. cells/day	Period	No. cells/day	Period	No. cells/day
<i>B. hypocrita</i>	15	11.3 a	0.2 a	13.9 a	0.5 a	4.8 a	1.0 a	25.7 a	1.6 a	49.3 a	1.0 a
<i>B. ignitus</i>	8	11.0 a	0.2 a	13.3 a	0.4 a	16.3 b	1.1 a	20.9 a	1.8 a	49.3 a	1.2 a

\*1 Means followed by different letters in the same column are significantly different ( $p<0.01$ ) by the Mann-Whitney U-test.

\*2 SP: Switching point

\*3 *B. hypocrita* n = 6, *B. ignitus* n = 4

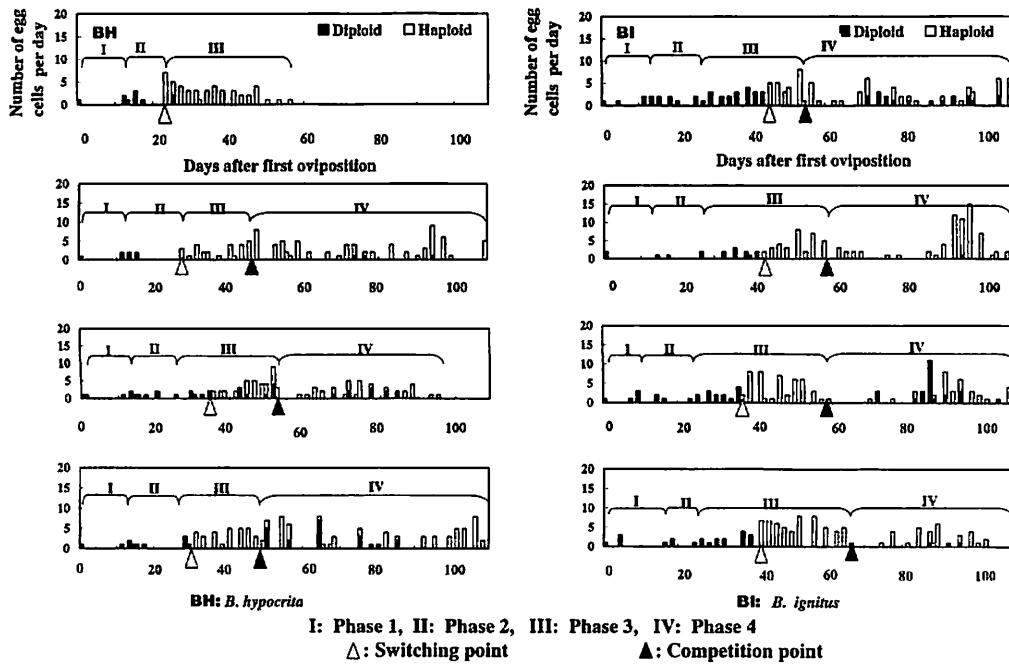


Fig. 29. Some representative ovipositional patterns of laboratory-reared *B. hypocrita* and *B. ignitus* queens in laboratory-reared colonies

## 結 果

### (1) 2種マルハナバチ間での産卵パターンの比較

セイヨウオオマルハナバチでは、創設女王蜂の産卵パターンが4期に分類され、SPは3期の途中に起きている(Duchateau 1991)。日本在来種であるオオマルハナバチ、クロマルハナバチもほぼ同じ傾向であり、創設女王蜂の卵室形成には、4つのステージが見られた(Fig.29)。この、1から4期までの産卵期の日数と各卵期

の日当たりの卵室形成数をTable 19に示した。

飼育開始から数日後に、最初の卵室が形成される。数個の卵室が作られてからしばらく産卵が停止する。初産卵とその後の停止期間を含めた1期の日数は、オオマルハナバチで11.3日、クロマルハナバチで11.0日、それぞれ1日当たりの卵室形成数は、0.19, 0.15であった。創設女王蜂はこれらの卵室の保温行動および、孵化後は給餌を行う。1期の幼虫が繭を形成すると、多くの場合そ

Table 20. Comparison of duration of production of fertilized eggs by two *Bombus* species obtained from field-collected queens<sup>\*1</sup>

Species	1997			1998		
	Number of colonies	days	±SD	Number of colonies	days	±SD
<i>B. hypocrita</i>	27	37.1	±4.1 a	10	35.2	±5.7 a
<i>B. ignitus</i>	11	47.5	±6.2 b	13	47.6	±4.4 b

\*1 Means followed by different letters in the same column are significantly different ( $p<0.01$ ) by the Mann-Whitney U-test.

Table 21. Comparison of worker productivity between colonies of two *Bombus* species initiated by field-collected queens at laboratory rearing

Species	Number of colonies	Number of workers per colony		
		Mean $\pm$ SD <sup>1</sup>	Min.	Max.
<i>B. hypocrita</i>	26	45.4 $\pm$ 29.4 a	7	134
<i>B. ignitus</i>	12	107.6 $\pm$ 51.3 b	18	191

<sup>1</sup> Means followed by different letters in the same column are significantly different ( $p<0.01$ ) by the Mann-Whitney U-test.

Table 22. Results of statistical analysis between DFO<sup>1</sup> and worker productivities for identification of local population of *B. hypocrita* by laboratory-reared queens ( $F_1$ )

DFO <sup>1</sup> (x <sub>1</sub> )	Number of workers(x <sub>2</sub> )	Group	Numerical estimation <sup>2</sup> (y)	Estimate
24	27	P-S	0.971	P-S
29	12	P-S	0.764	P-S
30	71	P-S	0.152	P-S
28	8	P-S	0.870	P-S
27	28	P-S	0.755	P-S
27	60	P-S	0.460	P-S
20	24	P-S	1.275	P-S
22	21	P-S	1.165	P-S
20	9	P-S	1.413	P-S
31	35	P-S	0.414	P-S
38	21	P-S	0.059	P-S
33	19	P-S	0.423	P-S
35	97	P-Y	-0.433	P-Y
34	85	P-Y	-0.253	P-Y
31	52	P-Y	0.258	P-S
38	123	P-Y	-0.879	P-Y
36	179	P-Y	-1.256	P-Y
43	65	P-Y	-0.691	P-Y
38	100	P-Y	-0.668	P-Y
36	203	P-Y	-1.477	P-Y
38	103	P-Y	-0.695	P-Y
41	137	P-Y	-1.216	P-Y
38	74	P-Y	-0.429	P-Y
38	154	P-Y	-1.165	P-Y
45	60	P-Y	-0.784	P-Y
40	106	P-Y	-0.861	P-Y
41	119	P-Y	-1.050	P-Y
47	89	P-Y	-1.189	P-Y

\*1 DFO: Duration of fertilized egg oviposition

\*2  $y=2.878-0.069x_1-0.009x_2$  ( $p<0.01$   $r=0.873$ )

Group: P-S: 1, P-Y: -1, Estimation:  $y>0$ : P-S,  $y<0$ : P-Y

Error: 3%

Table 23. Results of statistical analysis between DFO<sup>1</sup> and progeny queen productivities for identification of local population of *B. hypocrita* by laboratory-reared queens ( $F_1$ )

DFO <sup>1</sup> (x <sub>1</sub> )	Number of queens(x <sub>2</sub> )	Group	Numerical estimation <sup>2</sup> (y)	Estimate
24	22	P-S	0.875	P-S
29	7	P-S	0.494	P-S
30	16	P-S	0.319	P-S
28	12	P-S	0.554	P-S
27	0	P-S	0.754	P-S
27	6	P-S	0.705	P-S
20	6	P-S	1.412	P-S
22	1	P-S	1.251	P-S
20	0	P-S	1.461	P-S
31	0	P-S	0.350	P-S
38	0	P-S	-0.357	P-Y
33	0	P-S	0.148	P-S
35	75	P-Y	-0.676	P-Y
34	9	P-Y	-0.027	P-Y
31	67	P-Y	-0.206	P-Y
38	109	P-Y	-1.261	P-Y
36	71	P-Y	-0.744	P-Y
43	12	P-Y	-0.961	P-Y
38	55	P-Y	-0.813	P-Y
36	157	P-Y	-1.458	P-Y
38	0	P-Y	-0.357	P-Y
41	0	P-Y	-0.660	P-Y
38	1	P-Y	-0.365	P-Y
38	3	P-Y	-0.382	P-Y
45	0	P-Y	-1.064	P-Y
40	20	P-Y	-0.725	P-Y
41	30	P-Y	-0.909	P-Y
47	7	P-Y	-1.324	P-Y

\*1 DFO: Duration of fertilized egg oviposition

\*2  $y=3.481-0.101x_1-0.008x_2$  ( $p<0.01$   $r=0.840$ )

Group: P-S: 1, P-Y: -1, Estimation:  $y>0$ : P-S,  $y<0$ : P-Y

Error: 4%

の繭の上に新たな卵室が形成され、これが2期の始まりとなる。2期の後半もしくは終了後には、1期に作られた卵室由来の働き蜂の羽化が始まり、単独営巣期から真社会性の営巣期に入る。ここまで、全て受精卵が産卵されている。その後、再び産卵が始まり、これが3期となる。この時期の卵室から羽化する成虫の雌雄を見ると、いずれのコロニーも3期にSPが見られた。しかし、この切り替えは厳密なものではなく、しばしば受精卵が混ざっていることがある(Fig. 29)。3期の後半には競合が起こり4期に入る。すでに未受精卵への産卵に切り替わっているはずだが、4期にもしばしば受精卵が産卵されており、この時期の卵室から新女王蜂が多く作られる。なお、3から4期には働き蜂産卵も行われていると考えられるが、観察記録だけでは、羽化したオス蜂が創設女王蜂産卵あるいは働き蜂産卵のどちらに由来しているかは調べられなかった。オオマルハナバチおよびクロマルハナバチで各卵期

の日数および日当たり卵室形成数を比較したところ、日当たりの卵室形成数は、両種とも全期間をとおして有意差が認められなかった( $p>0.05$ )。各卵期の日数は、3期のSP前の受精卵を産卵している日数だけが、クロマルハナバチの方が長い傾向が認められた( $p<0.01$ )。

## (2) 受精卵産卵期間の推定方法の確立および種間と地域個体群間の比較

スケッチで記録したデータから得たSPに基づく受精卵産卵期間とオス蜂の成長日数および最初のオス蜂の羽化日の2つのデータから推定した方法の関係をFig.30に示した。両種とも実測値と推定値に正の相関が認められ(オオマルハナバチ: $r=0.933$   $p<0.01$ 、クロマルハナバチ: $r=0.881$   $p<0.01$  Spearmanの順位相関), この方法で受精卵産卵期間を推定できることが分かった。そこで、1997, 1998年の野外採集女王蜂の飼育結果からコロニーごとの受精卵産卵期間を計算し、種間比較をしたと

Table 24. Results of statistical analysis between DFO<sup>\*1</sup> and male productivities for identification of local population of *B. hypocrita* by laboratory-reared queens (F<sub>1</sub>)

DFO <sup>*1</sup> (x <sub>1</sub> )	Number of males(x <sub>4</sub> )	Group	Numerical estimation <sup>*2</sup> (y)	Estimate
24	29	P-S	-57.88	P-Y
29	63	P-S	-16.612	P-Y
28	11	P-S	-1.217	P-Y
27	176	P-S	-72.857	P-Y
27	748	P-S	-204.797	P-Y
20	148	P-S	-39.134	P-Y
22	68	P-S	-17.524	P-Y
20	49	P-S	-11.509	P-Y
31	132	P-S	-35.776	P-Y
38	110	P-S	-30.389	P-Y
33	38	P-S	-10.113	P-Y
38	539	P-Y	-148.364	P-Y
43	299	P-Y	-82.837	P-Y
38	1094	P-Y	-300.989	P-Y
36	1007	P-Y	-276.874	P-Y
38	495	P-Y	-136.264	P-Y
41	281	P-Y	-77.698	P-Y
38	188	P-Y	-51.839	P-Y
38	330	P-Y	-90.889	P-Y
45	178	P-Y	-49.752	P-Y
40	159	P-Y	-44.053	P-Y
41	471	P-Y	-129.948	P-Y
47	379	P-Y	-105.216	P-Y

\*1 DFO: Duration of fertilized egg oviposition

\*2 y=3.460-0.095x<sub>1</sub>-0.275x<sub>4</sub> (p<0.01 r=0.873)

Group: P-S: I, P-Y: -I, Estimation: y>0: P-S, y<0: P-Y

Error: 48%

Table 25. Results of statistical analysis between DFO<sup>\*1</sup> and worker productivities for identification of local population of *B. hypocrita* by field-collected queens

DFO <sup>*1</sup> (x <sub>1</sub> )	Number of workers(x <sub>3</sub> )	Group	Numerical estimation <sup>*2</sup> (y)	Estimate
45	44	P-S	-0.162	P-Y
42	82	P-S	-0.231	P-Y
36	31	P-S	-0.040	P-Y
39	46	P-S	-0.108	P-Y
44	73	P-S	-0.227	P-Y
31	51	P-S	-0.043	P-Y
46	28	P-S	-0.130	P-Y
37	24	P-S	-0.031	P-Y
35	26	P-S	-0.017	P-Y
20	53	P-S	0.060	P-S
48	5	P-S	-0.090	P-Y
37	11	P-S	0.003	P-S
38	25	P-S	-0.044	P-Y
52	12	P-S	-0.147	P-Y
37	54	P-Y	-0.109	P-Y
41	61	P-Y	-0.167	P-Y
42	88	P-Y	-0.247	P-Y
44	54	P-Y	-0.178	P-Y
25	24	P-Y	0.087	P-S
41	72	P-Y	-0.195	P-Y
34	26	P-Y	-0.007	P-Y
41	15	P-Y	-0.047	P-Y
47	134	P-Y	-0.415	P-Y
39	24	P-Y	-0.051	P-Y
40	12	P-Y	-0.029	P-Y
29	9	P-Y	0.086	P-S
43	51	P-Y	-0.160	P-Y
42	14	P-Y	-0.054	P-Y
42	17	P-Y	-0.062	P-Y
45	19	P-Y	-0.097	P-Y
54	24	P-Y	-0.198	P-Y

\*1 DFO: Duration of fertilized egg oviposition

\*2 y=0.394-0.010x<sub>1</sub>-0.002x<sub>2</sub> (p>0.05 ns r=0.105)

Group: P-S: I, P-Y: -I, Estimation: y>0: P-S, y<0: P-Y

Error: 45%

Table 26. Results of statistical analysis between DFO<sup>\*1</sup> and progeny queen productivities for identification of local population of *B. hypocrita* by field-collected queens

DFO <sup>*1</sup> (x <sub>1</sub> )	Number of queens(x <sub>2</sub> )	Group	Numerical estimation <sup>*2</sup> (y)	Estimate
45	35	P-S	0.042	P-S
42	10	P-S	-0.118	P-Y
36	9	P-S	-0.173	P-Y
39	2	P-S	-0.186	P-Y
44	1	P-S	-0.150	P-Y
31	0	P-S	-0.243	P-Y
46	10	P-S	-0.084	P-Y
37	3	P-S	-0.197	P-Y
48	4	P-S	-0.100	P-Y
37	1	P-S	-0.208	P-Y
38	10	P-S	-0.151	P-Y
52	5	P-S	-0.062	P-Y
41	1	P-Y	-0.175	P-Y
42	7	P-Y	-0.134	P-Y
44	11	P-Y	-0.096	P-Y
25	3	P-Y	-0.297	P-Y
41	1	P-Y	-0.175	P-Y
34	9	P-Y	-0.189	P-Y
41	8	P-Y	-0.137	P-Y
47	21	P-Y	-0.017	P-Y
39	17	P-Y	-0.105	P-Y
40	2	P-Y	-0.177	P-Y
29	16	P-Y	-0.193	P-Y
43	0	P-Y	-0.163	P-Y
42	7	P-Y	-0.134	P-Y
42	4	P-Y	-0.150	P-Y
45	0	P-Y	-0.147	P-Y
54	2	P-Y	-0.061	P-Y

\*1 DFO: Duration of fertilized egg oviposition

\*2 y=0.520+0.008x<sub>1</sub>+0.005x<sub>2</sub> (p>0.05 ns r=0.069)

Group: P-S: I, P-Y: -I, Estimation: y>0: P-S, y<0: P-Y

Error: 39%

Table 27. Results of statistical analysis between DFO<sup>\*1</sup> and male productivities for identification of local population of *B. hypocrita* by field-collected queens

DFO <sup>*1</sup> (x <sub>1</sub> )	Number of males(x <sub>4</sub> )	Group	Numerical estimation <sup>*2</sup> (y)	Estimate
35	91	P-S	0.619	P-S
20	113	P-S	1.212	P-S
48	48	P-S	-0.060	P-Y
37	60	P-S	0.346	P-S
38	13	P-S	-0.007	P-Y
52	63	P-S	-0.074	P-Y
42	61	P-Y	0.206	P-S
42	30	P-Y	-0.008	P-Y
45	44	P-Y	0.001	P-S
54	44	P-Y	-0.264	P-Y

\*1 DFO: Duration of fertilized egg oviposition

\*2 y=1.020-0.029x<sub>1</sub>+0.007x<sub>2</sub> (p>0.05 ns r=0.422)

Group: P-S: I, P-Y: -I, Estimation: y>0: P-S, y<0: P-Y

Error: 45%

ころ、両者には有意差があり(p<0.01)、クロマルハナバチの方が10から12日長い傾向が認められた(Table 20)。コロニー当たりの働き蜂生産数の平均値ではクロマルハナバチの方が60頭以上多い傾向が見られている(Table 21)。受精卵産卵期間の差は、3期でのSP前の日数の差とほぼ一致しており、全産卵期間の中でも、3期SP前の日数の差が、2種間のコロニーサイズの差に起因している

と考えられた。

次に、オオマルハナバチの2地域個体群についての比較を行った。採集地別に受精卵産卵期間の比較をしたところ、野外採集世代では違いが見られなかったものの、F<sub>1</sub>とF<sub>2</sub>では個体群間での差が認められた(Fig.32)。同様に、両個体群の各コロニーの受精卵産卵期間と働き蜂、新女王蜂、オス蜂別の成虫生産数との関係をみたと

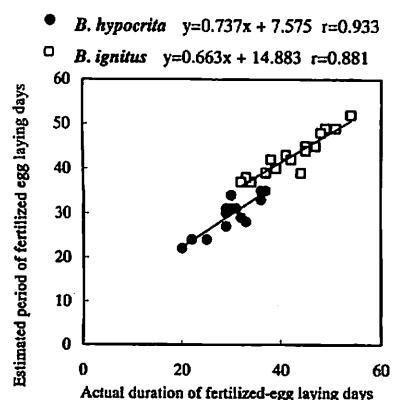


Fig. 30. Correlation between observed and estimated duration of fertilized egg laying of laboratory-reared *B. hypocrita* and *B. ignitus* queens  
 Spearman rank correlation test ( $p < 0.01$ )

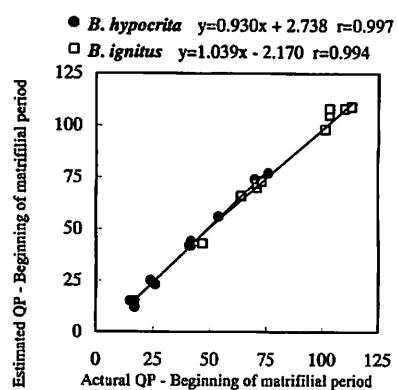


Fig. 31. Correlation between observed and estimated QP of laboratory-reared *B. hypocrita* and *B. ignitus* queens  
 Spearman rank correlation test ( $p < 0.01$ )

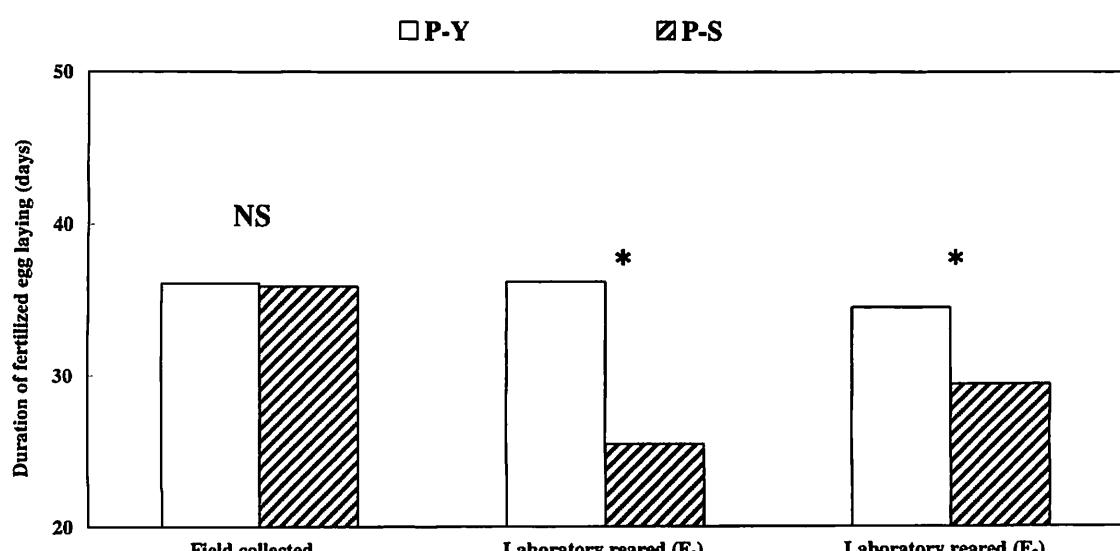


Fig. 32. Comparison of duration of fertilized egg laying between two local populations of *B. hypocrita*  
 \* Mann-Whitney U-test ( $p < 0.05$ )

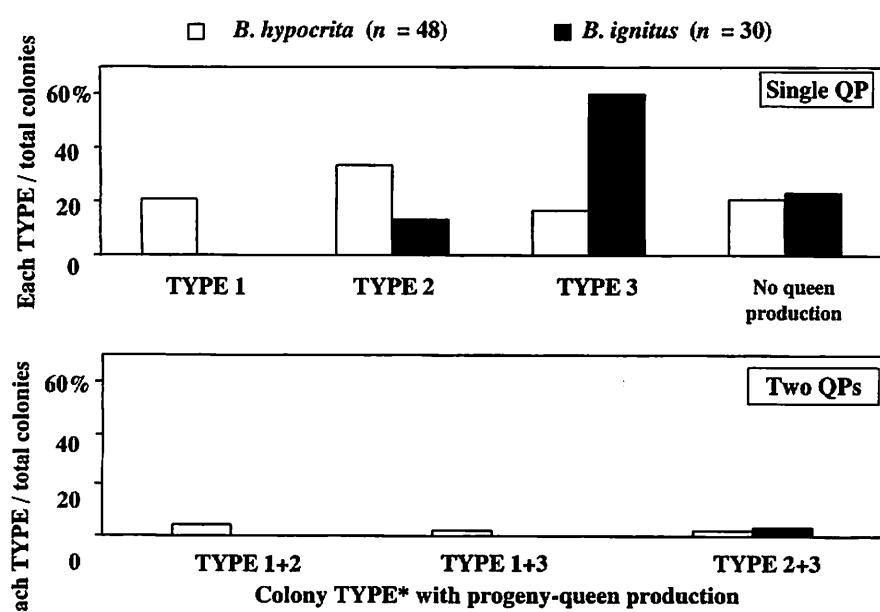


Fig. 34. Comparison of colony TYPE\* with progeny-queen production of field-collected *B. hypocrita* and *B. ignitus* queens  
 \* See Fig. 25.

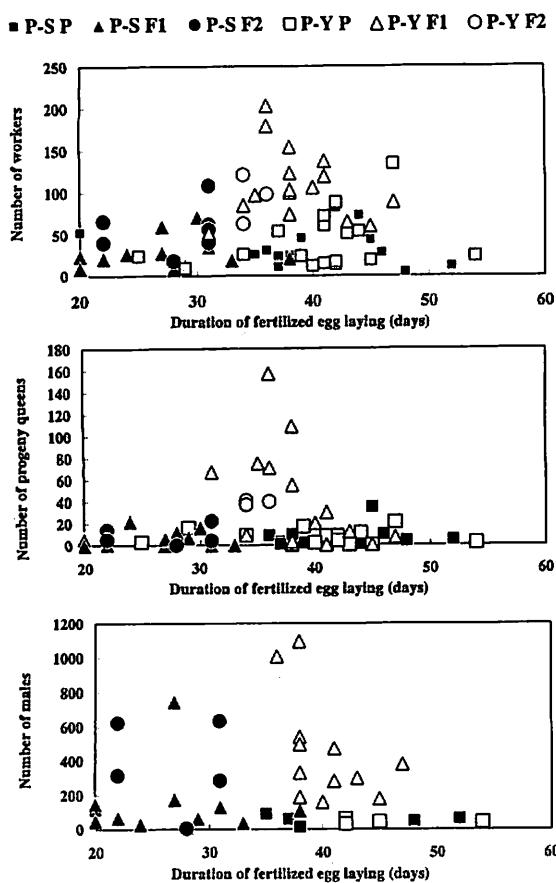


Fig. 33. Correlation between duration of fertilized egg laying and number of bees in each colony

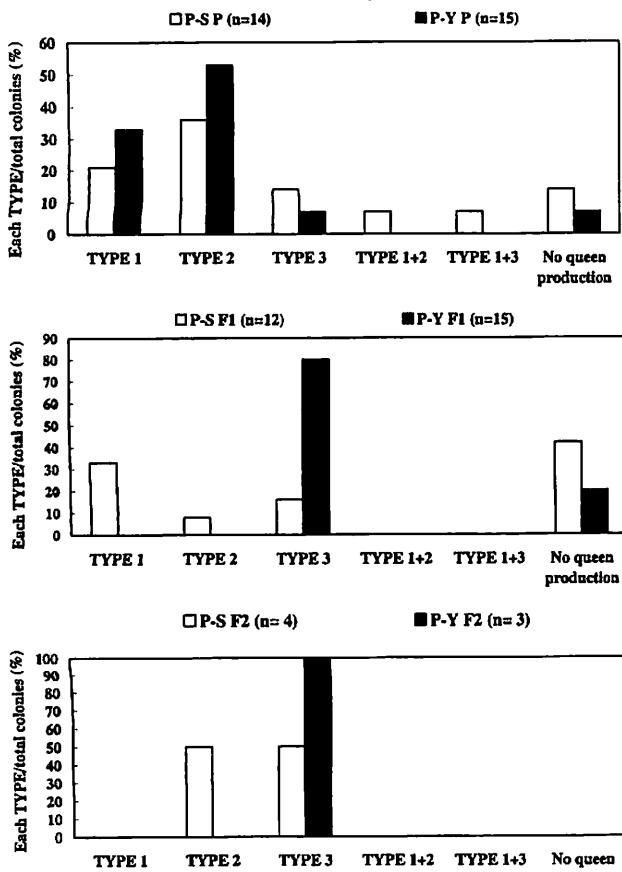


Fig. 35. Comparison of colony TYPE\* with progeny-queen production of *B. hypocrita*

\* See Fig. 25.

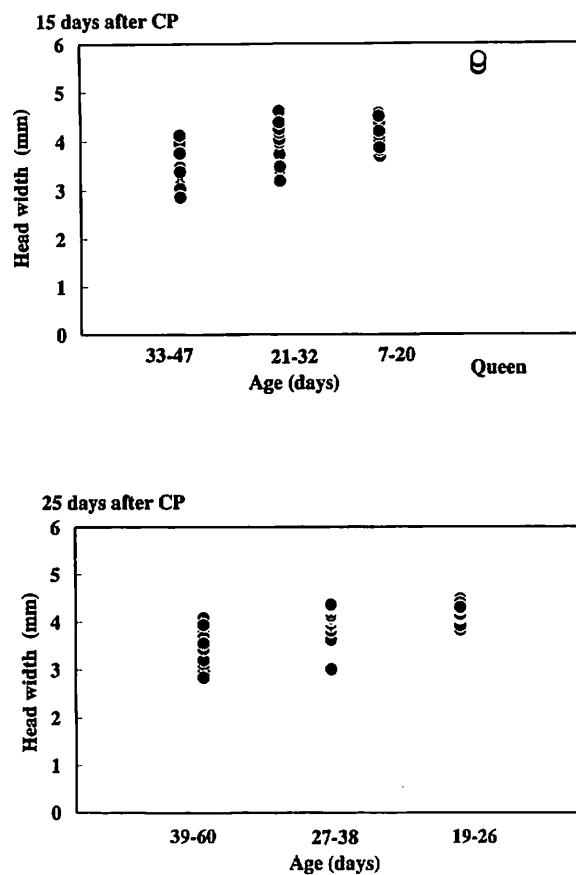


Fig. 36. Head width of *B. hypocrita* queen and workers and days after emergence

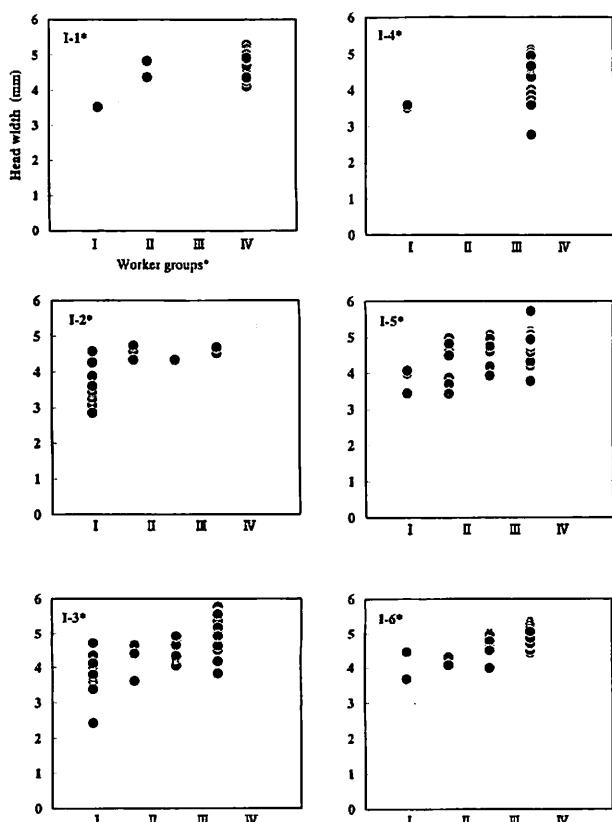


Fig. 37. Head width of four age-groups\* of *B. ignitus* workers  
\*See Table 18.

I : Group 1, II : Group 2, III : Group 3, IV : Group 4

Table 28. Representative developmental periods of worker and male egg clumps of *B. hypocrita* at laboratory rearing

Serial number of egg clumps	Sex or caste	Duration of growth (days)			Number of workers in colony
		Oviposition to spinning	Spinning to emergence	Total	
1	worker	11	9	20	0
2	worker	12	9	21	0
3	worker	9	10	19	0
4	worker	9	10	19	0
5	worker	13	11	24	0
6	worker	13	10	23	0
7	worker	13	10	23	0
8	worker	13	10	23	0
9	worker	15	10	25	0
10	worker	14	10	24	0
11	worker	13	10	23	0
12	worker	13	10	23	0
13	worker	14	11	25	0
14	worker	13	11	24	5
15	worker	13	11	24	5
16	worker	15	9	24	5
17	worker	14	10	24	5
18	worker	14	10	24	5
19	worker	15	9	24	5
20	worker	14	10	24	5
21	worker	12	12	24	5
22	worker	14	10	24	5
23	worker	14	10	24	5
24	worker	14	10	24	5
25	male	14	11	25	6
26	male	14	11	25	6
27	male	14	11	25	6
28	male	13	11	24	11
29	male	13	11	24	11
30	male	13	11	24	11
31	male	14	13	26	11
32	male	14	13	26	22
33	male	13	13	25	22
34	male	15	10	25	22
35	male	15	10	25	22
36	male	14	10	24	23
37	male	15	12	27	23
38	male	14	12	26	26
39	male	14	12	26	26
40	male	15	11	26	26
41	male	15	11	26	26

## Duration of growth:

Oviposition to spinning: From oviposited date to average date at beginning of spinning

Spinning to emergence: From average date at beginning of spinning to average date of emergence

Total: From oviposited date to average date of emergence

Table 29. Representative developmental periods of worker and male egg clumps of *B. ignitus* at laboratory rearing

Serial number of egg clumps	Sex or caste	Duration of growth (days)			Number of workers in colony
		Oviposition to spinning	Spinning to emergence	Total	
1	worker	11	8	19	0
2	worker	11	8	19	0
3	worker	.	.	24	0
4	worker	.	.	24	0
5	worker	.	.	22	0
6	worker	13	12	25	0
7	worker	13	12	25	0
8	worker	14	10	24	0
9	worker	14	10	24	0
10	worker	14	10	24	0
11	worker	12	10	22	1
12	worker	11	9	20	9
13	worker	11	9	20	9
14	worker	13	11	24	10
15	worker	11	11	22	10
16	worker	11	11	22	10
17	worker	11	12	23	10
18	worker	13	11	24	10
19	worker	13	11	23	12
20	worker	13	11	23	12
21	worker	13	10	23	17
22	worker	14	12	26	17
23	worker	11	12	23	23
24	worker	12	11	23	23
25	male	12	12	24	23
26	male	12	10	22	28
27	male	12	10	22	28
28	male	13	12	25	31
29	male	13	12	25	31
30	male	14	10	24	38
31	male	14	13	27	38
32	male	14	13	28	38
33	male	13	13	28	38
34	male	15	17	28	38
35	male	14	13	27	38
36	male	14	15	27	38
37	male	15	15	27	38
38	male	14	16	27	38
39	male	14	16	27	38
40	male	15	15	28	43
41	male	15	14	28	43

## Duration of growth:

Oviposition to spinning: From oviposited date to average date at beginning of spinning

Spinning to emergence: From average date at beginning of spinning to average date of emergence

Total: From oviposited date to average date of emergence

ころ、野外採集世代では、明らかな傾向は認められなかつたが(Fig.33, Table 25, 26, 27), F<sub>1</sub>世代で忍野村産の方が小山町産よりも働き蜂、新女王蜂の生産数が多い傾向にあることが分かつた(Fig.33, Table 22, 23, 24)。このことから、両地域の個体群には、受精卵産卵期間および、成虫生産数の形質に地域間差があることが示唆された。

## (3) 新女王蜂生産期の推定方法の確立および種間と地域個体群間の比較

新女王蜂の生産時期の比較を行つた。まず、新女王蜂が生産された卵室がいつ作られるかを、初オス蜂が生産された卵室を特定したときと同じ方法で調査した。まず、コロニーのスケッチからQPを実測した。次に新女王蜂の成長日数(Table 17)を新女王蜂が羽化した日から差し引くことで、QPを推定した。この場合も実測値と推定値とに相関関係が認められたことから(cf.オオマルハナバチ:  $r = 0.997$   $p < 0.01$ , クロマルハナバチ  $r = 0.994$ ,  $p < 0.01$  Spearmanの順位相関, Fig.31), 新女王蜂の羽化日から各コロニーのMQP, SQPを推定した。その結果、新女王蜂の生産期は3つのタイプに分けられることが分かつ

た。両種をこのタイプ別に分類したところ、オオマルハナバチでは、タイプ1, 2, 3にわかつたのに対して、クロマルハナバチではタイプ3の割合が高く、タイプ1は見られなかつた(Fig.34)。

次に、オオマルハナバチの2地域個体群についての比較を行つた。採集地別に新女王蜂の生産パターンを分類したところ、野外採集世代では、大きな差は無いものの、小山町産ではタイプ1とタイプ2および3の複合型が見られたのに対して、忍野村産では、それが見られなかつた。一方、F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>では、小山町産では、タイプ1から3までが見られるのに対して、忍野村産ではタイプ3しか見られなかつた(Fig.35)。このことから、両地域の個体群には、新女王蜂生産型でも地域間差があることが示唆された。

## (4) 競合行動の解析および種間の比較

オオマルハナバチ、クロマルハナバチとともに、初産卵から第1働き蜂が羽化するまでの各卵室の成長日数は徐々に長くなり、働き蜂羽化後はSPの前後ともに、ほぼ一定になる傾向が見られた(Table 28, 29)。オス蜂の成長日数は、働き蜂よりも長く、また新女王蜂の成長日数は、働き蜂、オス蜂よりも長くなつた(Table 28, 29, 30)。

Table 30. Representative developmental periods of progeny queen egg clumps of *B. hypocrita* and *B. ignitus* at laboratory rearing

Oviposition to spinning	Duration of growth (days)		Total
	Spinning to emergence		
<b><i>B. hypocrita</i></b>			
13	14		27
16	13		29
13	14		27
16	12		28
15	12		27
12	14		26
14	15		29
<b><i>B. ignitus</i></b>			
13	14		27
10	15		25
14	14		28
10	17		27
12	14		26
16	10		26
16	13		29
15	14		29
13	15		28
10	16		26

Duration of growth:

Oviposition to spinning: From oviposited date to average date at beginning of spinning

Spinning to emergence: From average date at beginning of spinning to average date of emergence

Total: From oviposited date to average date of emergence

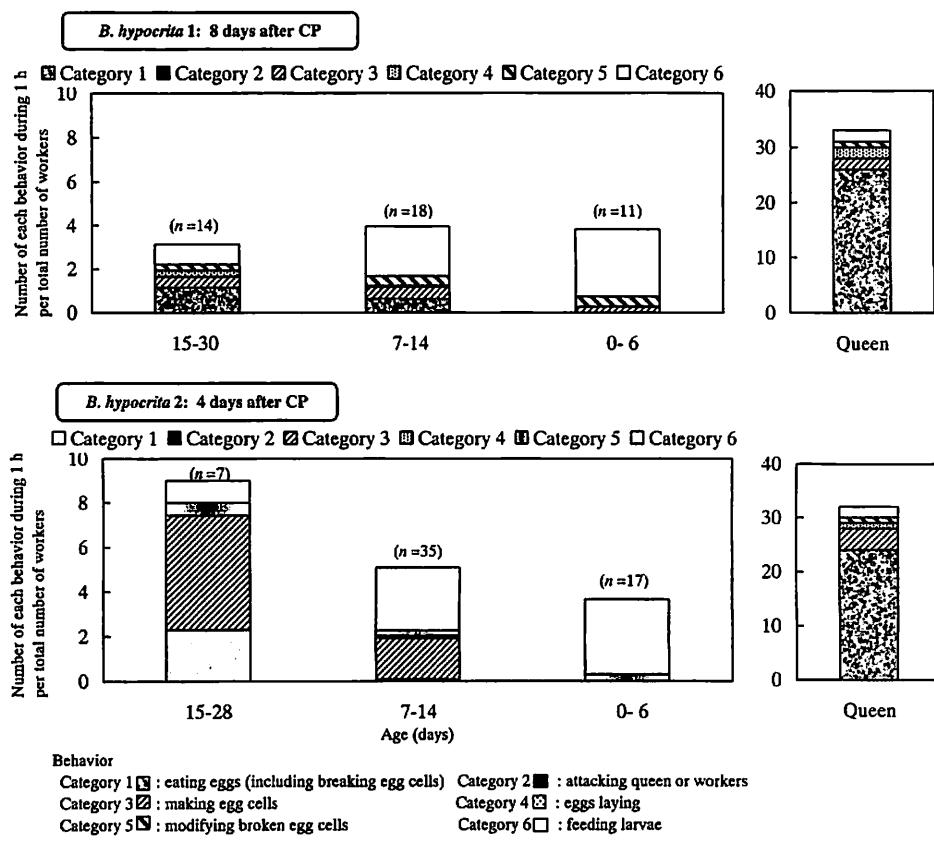


Fig. 38. Frequency of each behavior around CP in laboratory-reared *B. hypocrita* workers and queen

競合行動を観察したオオマルハナバチの2コロニーでは、羽化後の日齢が経過しているグループの働き蜂、すなわち営巣初期に羽化した働き蜂の頭幅が、営巣後期に羽化した働き蜂よりも小さい傾向が見られた(Fig.36)。クロマルハナバチでは、競合行動時に死亡した働き蜂の

みについて、羽化後の日齢別に頭幅を測定したところ、いずれのコロニーでも営巣初期に羽化した働き蜂のグループに頭幅の小さい働き蜂が多い傾向が見られた(Fig.37)。

オオマルハナバチを、1時間連続観察した結果を

Fig.38に示した。オオマルハナバチ2コロニーを観察した結果では、CP後8日目のコロニーでは、羽化後の日齢が経過している働き蜂の方が、競合行動を多く示していることがわかった。特に、羽化後15日以降のグループで顕著であり、食卵、卵室形成、産卵が見られた。創設女王蜂

は、働き蜂産卵による卵室の破壊および食卵行動が最も頻繁に見られた。CP後4日のコロニーでも、日齢の経過している働き蜂のグループで、競合に関する行動が多く見られた。CP8日目のコロニーに比べ、羽化後15日齢以上の働き蜂のグループで、卵室を作る行動がより頻繁に

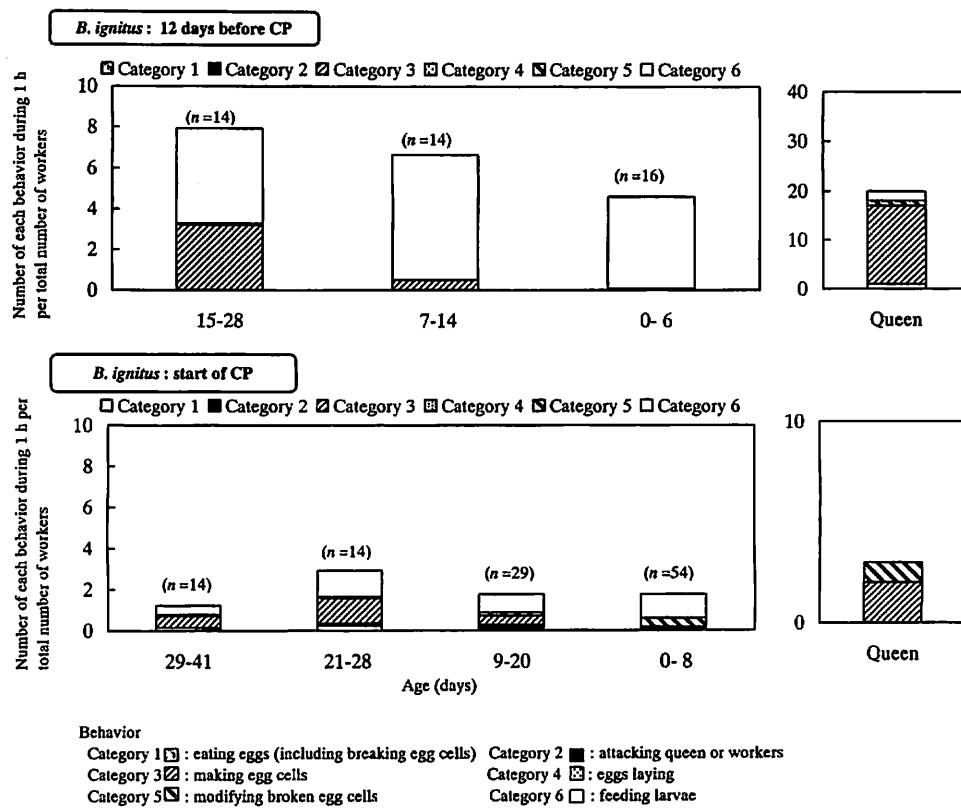


Fig. 39. Frequency of each behavior around CP in laboratory-reared *B. ignitus* workers and queen

#### *B. hypocrita*: 15 days after CP

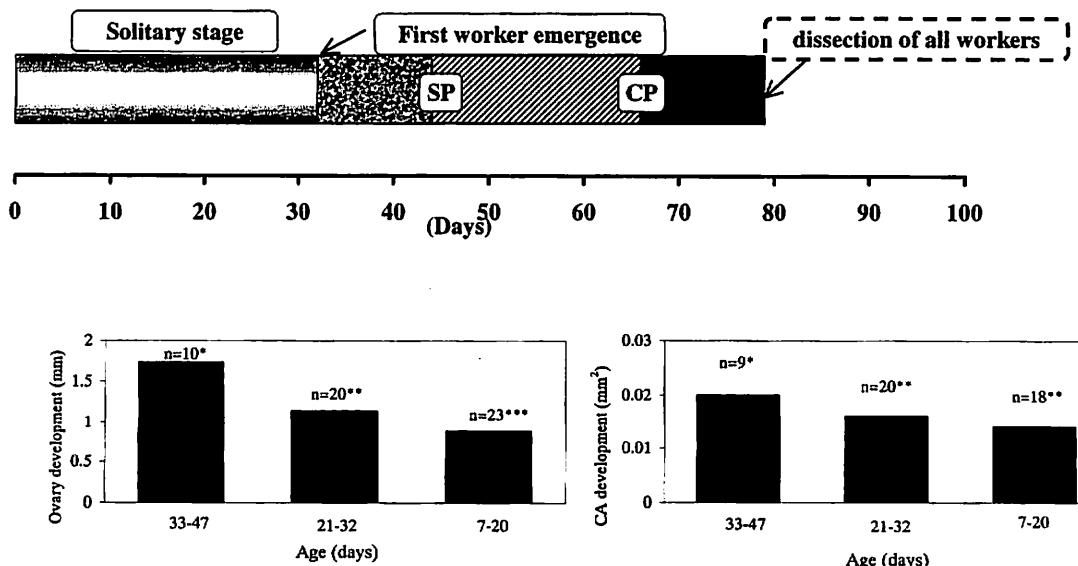


Fig. 40. Relationship between worker age and degrees of ovariole and CA development in *B. hypocrita* 15 days after CP  
Different asterisk (\*) symbols are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Mann-Whitney *U*-test

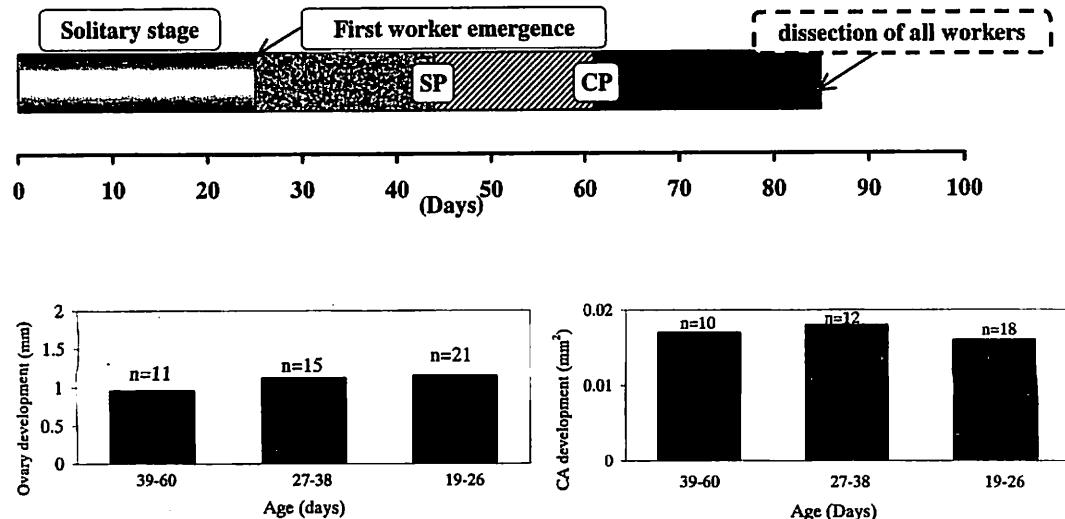
*B. hypocrita*: 25 days after CP

Fig. 41. Relationship between worker age and degrees of ovariole and CA development in *B. hypocrita* 25 days after CP  
No significant different ( $p > 0.05$ ) by Mann-Whitney U-test

見られた。創設女王蜂は、先のコロニーと同様に、働き蜂産卵による卵室の破壊および食卵行動が最も多く見られた。両コロニーとも、働き蜂による幼虫への給餌行動が観察されたが、その頻度は、羽化後0から6日までの若い働き蜂に多い傾向であった。また、創設女王蜂もわずかではあるが、幼虫への給餌行動をしていた。

クロマルハナバチについては、ひとつのコロニーをCP前12日前および、CPが確認された日に、それぞれ1時間の連続観察した(Fig.39)。CP前12日であっても、すでに羽化後の日齢が15日以上を経過しているグループでは、働き蜂による卵室形成が頻繁に見られた。この行動は、7から14日齢ではわずかであり6日齢以下では見られなかった。幼虫への給餌行動は、各日齢ともほぼ同じ割合で行われていた。創設女王蜂では、卵室形成行動が最も頻繁に観察されたが、幼虫への給餌も行っていることがわかった。CPが確認された当日の観察結果では、29日齢以降の働き蜂の行動が少なく、その中でも卵室形成行動が多い傾向にあった。競合行動は、9日齢以降で見られ、8日齢以下の働き蜂では、幼虫への給餌行動を中心であった。創設女王蜂は、CP12日前よりも行動数が少ないものの、卵室形成行動が多い傾向にあった。

次に、オオマルハナバチのCP後15日目に、コロニー内の全働き蜂の卵巣とアラタ体の発達程度を測定し、それを、働き蜂の羽化後の日齢別に整理した(Fig. 40)。羽化後の日齢の経過している働き蜂ほど卵巣とアラタ体が

発達している傾向があり、卵巣ではそれぞれの区で、アラタ体では、33から47日齢と7から32日齢に95%以上で有意差が認められた( $p < 0.05$ )。同様にオオマルハナバチのCP25日後で、創設女王蜂も死亡しているコロニーで同じ調査をしたところ、卵巣とアラタ体の発達程度には羽化後の日齢間では、有意差は認められなかった(Fig. 41)。両コロニーとも、羽化後の日齢が最も経過している働き蜂が、それ以降に羽化した働き蜂のグループに比べ頭幅の小さい個体が多かった。一方、卵巣について、CP後15日目のコロニーでは、羽化後33から47日以上の働き蜂で発達していた個体が多いのに対して、CP後25日目のコロニーでは羽化後の日齢が若く頭幅の大きな個体に発達した働き蜂が多く見られた。アラタ体の発達程度もほぼ同様の傾向であったが、卵巣の発達程度ほど、顕著な傾向は認められなかった(Fig.42)。CP後15日目のコロニーでは、創設女王蜂および新女王蜂について調査を行った。新女王蜂4個体はいずれも、卵巣は未発達であったが、アラタ体は、最も日齢の経過した羽化後33から47日以上の働き蜂と同程度の発達程度であった。創設女王蜂は、卵巣、アラタ体とともに、働き蜂、新女王蜂よりも発達していた。オオマルハナバチについてだけだが、CP後15日目の働き蜂では、羽化後の日齢が経過している働き蜂ほど卵巣およびアラタ体が発達しており、これらが競合行動に関与していることが示唆された。また、創設女王蜂が死亡した後のコロニーでは、20日齢以上の経過した働き

蜂のグループでFig.41で示した卵巣、アラタ体の発達程度よりも下がる傾向が見られ、結果として卵巣、アラタ体の発達程度における日齢間差は見られなかった。

最後に、CP後のコロニー内の働き蜂の死亡数を羽

化後の日齢別にまとめた。さらに、両種とも羽化後の日齢が最も経過したグループを抜いたコロニーを作り、同様の調査を行った。オオマルハナバチでは、死亡する働き蜂が少なく、また、死亡した働き蜂の頭数と日齢の関係

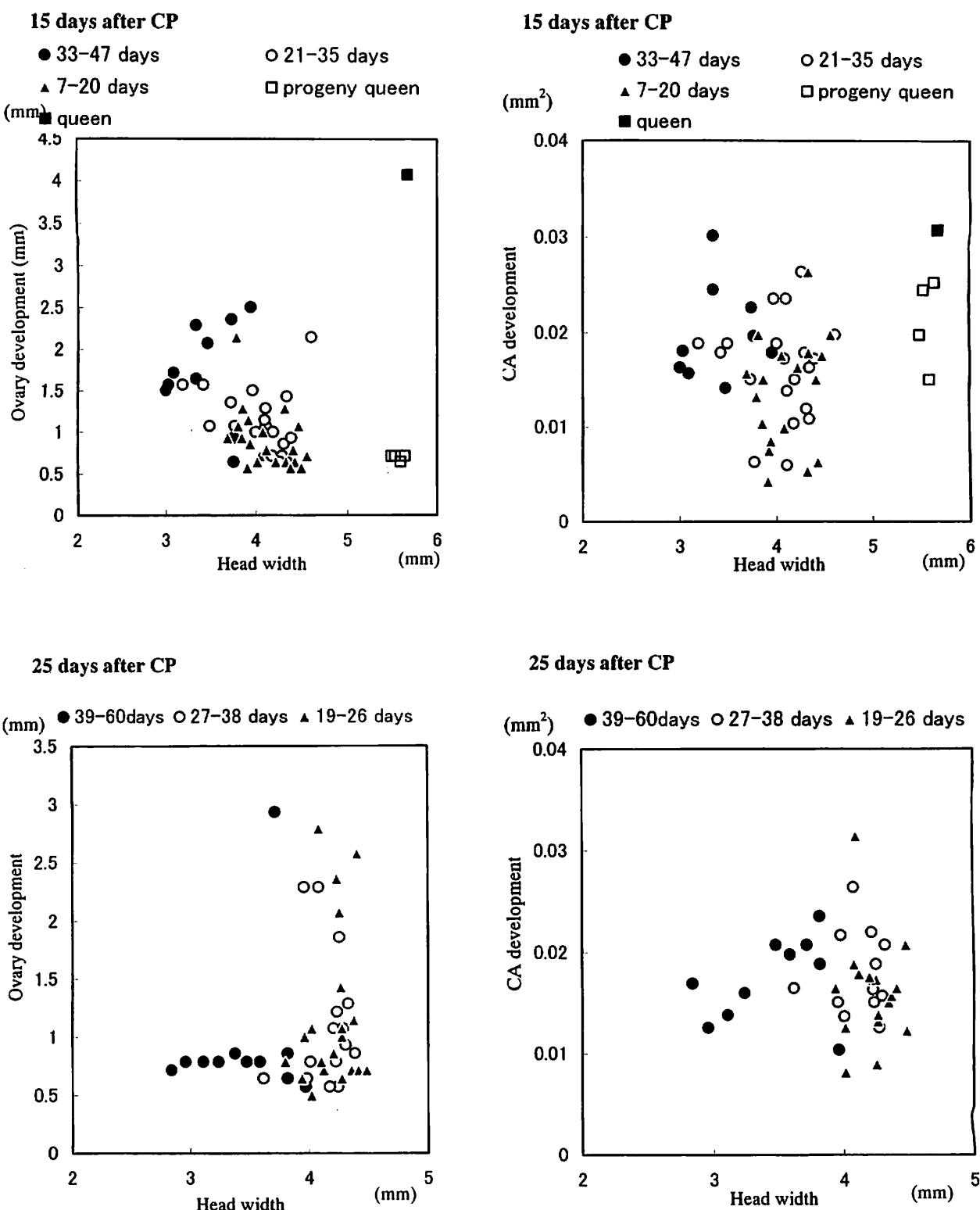


Fig. 42. Relation between head width and ovary/CA development of *B. hypocrita* workers

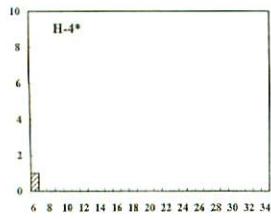
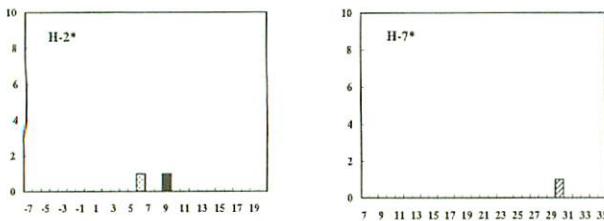
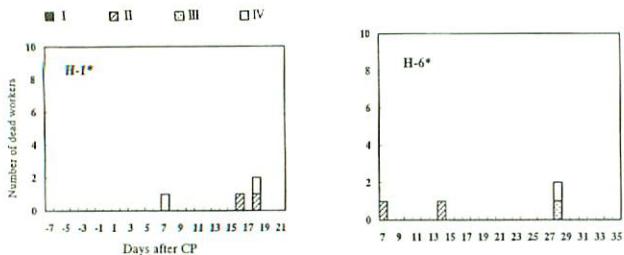


Fig. 43. Number of dead workers and ages after CP in five laboratory-reared *B. hypocrita* colonies  
No workers died in colonies H-3 and H-5 during the observation period.

\*: See Table 18.

I : Group 1, II : Group 2, III : Group 3, IV : Group 4  
Group 1 workers in colonies H-6 and H-7 were removed.

は明瞭ではなかった(Fig.43)。一方、クロマルハナバチでは、CP後10日から30日にかけて死亡する働き蜂が急増しており、特に羽化後の日齢が若いグループの働き蜂が多く死亡する傾向が見られた(Fig.44)。通常のコロニーでは、営巣末期でなければ、ほとんど死亡する働き蜂が見られないが、CP後に死亡頭数が急増する時期には2から3日の間に、多い場合で20頭以上死亡した例が見られた。この時期には、コロニー内で働き蜂が大顎で他の働き蜂を噛み、指針行動を示すことが観察されており、死亡する働き蜂の急増は、老齢の働き蜂が羽化後の日齢の経過していない若い働き蜂を攻撃することに起因していると予想された。しかし、最も日齢の経過した働き蜂(Table 18, Group 1)を除去した処理を行ったコロニーでも同様の傾向が見られており、この現象を防ぐためには、さらに除去する働き蜂の日齢の範囲を広げる必要があると考えられた。なお、働き蜂の死亡する傾向が不明瞭であったI-2(Fig.44)は、創設女王蜂の死亡、および営巣の終了が他のコロニーに比べて早く、他のコロニーとは成長の段階が観察時点で異なっていたと考えられた。

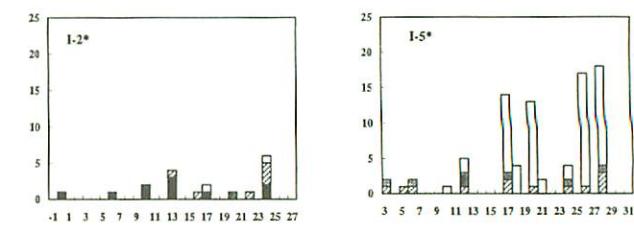
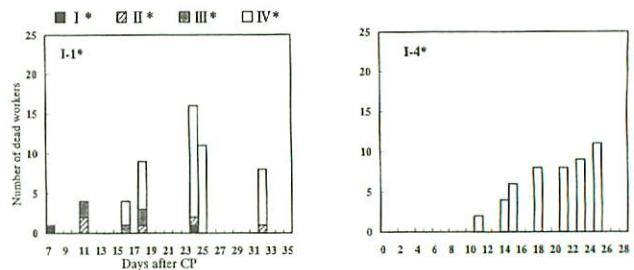


Fig. 44. Number of dead workers and ages after CP in six laboratory-reared *B. hypocrita* colonies

\*: See Table 18.

I : Group 1, II : Group 2, III : Group 3, IV : Group 4  
Group 1 workers in colonies I-4, I-5 and I-6 were removed.

## 考 察

### (1) オオマルハナバチとクロマルハナバチのコロニーの成長に関する比較

オオマルハナバチ、クロマルハナバチの日当たりの卵室形成数は、両種とも営巣初期が1卵室程度であり、営巣の後期まで徐々に増加し、1日2卵室を作るとされている(Katayama 1971, Katayama 1974)。本研究では、オオマルハナバチ、クロマルハナバチとともに、セイヨウオオマルハナバチと同じ4期に大別できる産卵パターンをもっていることを明らかにし、この卵期別に日当たりの卵室形成数を記録した。その結果Katayama(1971, 1974)で報告されている結果は、3期以降の傾向と同様であった。単独営巣期の1, 2期では、日当たり0.1卵室から0.5卵室程度の産卵頻度であり、2期以降の働き蜂羽化後に日当たりの卵室形成数が増加した。巣を観察していると、両種とも1, 2期にも1日に2~3卵室を作っていることが観察できるが、単独営巣期は、産卵をしない期間もあり、その日数を加えると、1, 2期の卵室形成数は少なくなる。

この2種間では、産卵3期のSP前までの受精卵を産卵

している日数がオオマルハナバチよりもクロマルハナバチの方が11.5日有意に長く、他の期間では種間差は認められなかった。日当たりの卵室形成数に種間差はなく、2種の働き蜂生産数の差は、この期間の差に起因していると考えられた。そこで、1, 2, SP前の3期の受精卵を産卵している期間を受精卵産卵期間として、この日数を指標にした種間の比較を行った。1997年および1998年の野外採集個体に営巣させたデータから推定した受精卵産卵期間は、オオマルハナバチが36.6日、クロマルハナバチが47.5日となり、クロマルハナバチの方が長いことがわかった(Table 20)。実際のコロニー当たりの働き蜂生産数もオオマルハナバチでは45.4頭、クロマルハナバチでは107.6頭であり、受精卵産卵期間の結果と同じ傾向であった(Table 21)。1卵室内の卵数は両種とも7から10卵であり(片山 1993)、約10日間の期間の違いは70から100頭の働き蜂生産数に値すると考えられる。実際の飼育データではクロマルハナバチがオオマルハナバチよりも平均値で62.2頭多くなっており(Table 21)、卵室の調査結果を反映していた。つまり、両種の創設女王蜂は同じペースで卵室を形成し産卵をしているが、3期に入つてから、未受精卵に切り替わるまでの日数がクロマルハナバチの方が約10日間長く、その結果働き蜂数生産数が多くなると考えられた。さらに、オオマルハナバチの2地域個体群間では、室内飼育のF<sub>1</sub>世代で、標高の高い場所で採集された個体群の方が、受精卵産卵期間が短く、働き蜂生産数および新女王蜂生産数が少ない傾向にあることが示された。

新女王蜂の生産時期では、クロマルハナバチが営巣後期のタイプ3を中心であるのに対して、オオマルハナバチでは営巣初期から中期、後期のタイプ1, 2, 3のタイプをいずれも確認できた。オオマルハナバチの地域個体群間では、室内飼育のF<sub>1</sub>世代で、標高の高い場所で採集された個体群で、タイプ1が確認され、標高の低い場所で採集されたF<sub>1</sub>世代では、タイプ3に集中する傾向が見られた。以上のような違いが両種に見られたが、このことは今後日本在来種をポリネーターとして商品化する場合に重要な意味をもつと考えられる。施設トマトのポリネーションの場合、トマトを受粉させる機能をもつのは主に働き蜂であり、オス蜂ではない。Katayama(1994)は、コマルハナバチの採餌働き蜂と巣内にとどまる働き蜂別に、羽化後の生存率を観察しており、採餌働き蜂は巣内にとどまる働き蜂よりも寿命が短く、羽化後4から16日での生存率が大きく減少することを示している。施設内に導入したマルハナバチの働き蜂も、それぞれに寿命を迎

え、コロニー内の働き蜂数は徐々に減少していくことから、その使用可能期間は限定される。そのため、コロニー内の働き蜂数は実用上の使用可能期間を推定するポイントになる。今回調べた2種間については、オオマルハナバチよりもクロマルハナバチで働き蜂生産数が多く、受精卵の産卵期間も長いことが明らかとなった。

新女王蜂の生産時期を見ると、オオマルハナバチは、クロマルハナバチに比べ、新女王蜂生産時期において幅広い形質をもつことが示された。特にタイプ1のような、創設女王蜂自らが新女王蜂を生産する事例もあった。このようなコロニーは*Bombus terricola*にも見られており、働き蜂生産数は少ない傾向にある(Plowright and Plowright 1990)。B. perplexusでは、働き蜂数の多いコロニーほど、新女王蜂の生産数も多い傾向が見られており(Pomeroy and Plowright 1982)、オオマルハナバチで見られたタイプ1の形質は、一世代に要する期間は短いものの、増殖効率は低いことが予想される。これらのことから、ポリネーターとして増殖する場合、オオマルハナバチではクロマルハナバチよりもコロニーサイズを均一にするための選抜をする必要性が高いと考えられる。

次に、これらのデータを国内での2種の分布にあてはめてみた。オオマルハナバチは、クロマルハナバチに比べ、標高の高い場所にも分布する傾向がある(伊藤 1993)。5月に女王蜂が越冬から覚め、営巣を開始したとすると、オオマルハナバチで見られたタイプ1は7月、クロマルハナバチで多く見られたタイプ3は9月以降に繁殖虫を生産する可能性があることを示唆している。オオマルハナバチのタイプ1は、餌資源のある時期が平野部よりも限定される高山帯で有利な形質であると考えられよう。タイプ3のような形質は、より多くの女王蜂を残すことができる一方、夏から秋にかけても大量の餌資源が必要となる。そのためには、温暖な平野部に生息域が限られてしまう可能性がある。オオマルハナバチとクロマルハナバチは平野部に近い場所では同所的に生息しているものの、標高の高い場所ではクロマルハナバチは見られなくなる。このことは、クロマルハナバチが営巣後半に繁殖虫を生産する傾向があることと関連していると考えられる。また、オオマルハナバチの地域個体群間で受精卵産卵期間、および新女王蜂の生産時期で差が見られたのも、オオマルハナバチとクロマルハナバチの種間差と同様、分布域との関係が考察できる。両地域の標高差は、200から300mであるが、周辺の環境は大きく異なる。忍野村では、村の中心部に接している林縁から峠までの範囲で採集した。周辺部には1000mから1500mの山が連なり、起

伏に富んだ場所である。なお、忍野村の中心部でもオオマルハナバチは確認できる。一方、小山町は富士山の稜線沿いであることから、生息地より標高の高い場所は森林限界になる。忍野村では、4月下旬から越冬から覚めたオオマルハナバチを確認できるが、小山町の採集地では、5月に入ってから女王蜂を確認できる。両地域の気象データはないものの、標高の高い小山町の個体群の方が、忍野村の個体群より受精卵産卵期間が短く、新女王蜂の生産型にタイプ1が多いのは、早期に次世代を残すことができる形質がより必要であることを示唆していると考えられた。しかし、本結果は、F<sub>1</sub>世代であり、野外採集個体では、この傾向は明確ではなかった。野外採集個体は、採集前の状態がわからないことから、室内飼育条件で得られたデータにも誤差が生じることが考えられる。一方、F<sub>1</sub>世代の女王蜂では、その女王蜂の営巣行動を全て記録することができる。また、その形質も野外採集女王蜂自身の遺伝情報および採集前年にこの女王蜂と交尾したオス蜂の遺伝情報が反映するものであり、それぞれの地域個体群の性質を示していると考えられる。ただし、野外採集世代から次世代の女王蜂をサンプリングする際に、これらの形質について偏った形で行われた可能性があることから、さらに供試虫数を増やすことで、コロニーサイズの遺伝性を明らかにする必要がある。また、受精卵産卵期間は、創設女王蜂自身がもつプログラムであると考えられており(Duchateau 1991)、オオマルハナバチでもこの期間に地域間差があるということは、コロニーサイズを決める要因に遺伝性があり、それによって地域個体群の変異が生じていると考えられた。ただし、なぜタイプ3をもつオオマルハナバチが、その分布域を平野部にまで拡大していないのかについては疑問が残る。もちろん、分布の違いは、コロニーの成長パターンだけでは説明できないが、オオマルハナバチの様々な形質の遺伝性をさらに明らかにする必要性があろう。

次に、新女王蜂の生産時期とコロニー内の状況から、新女王蜂の生産ポイントを決める要因について考えた。セイヨウオオマルハナバチのコロニーを二分割すると、創設女王蜂のいない方のコロニーで、新女王蜂生産が始まるとある傾向がある(井上 1996, Cnaani *et al.* 1997)。また、創設女王蜂を取り除き、働き蜂産卵を始めさせたコロニーの働き蜂を正常なコロニーに入れることで、効率的に新女王蜂を生産することができるとされている(ドウルエイテル アリー・ファン デン エインデ 1999)。この2点に共通するのは、女王蜂の存在が急になくなったことを経験した働き蜂がいる点であると考えられる。セイヨウオ

オマルハナバチの働き蜂は、正常なコロニーでも羽化後15日以降から卵巣の発達が見られることから(Duchateau and Velthuis 1989)、創設女王蜂が急にいなくなったコロニーでは働き蜂産卵が始まると考えられる。したがって、コロニーを二分割した場合では、今まで創設女王蜂が産卵していた受精卵の卵室と働き蜂が産卵した未受精卵の卵室が混在することになる。産卵を始めている働き蜂を正常なコロニーに入れる場合にも、同様の現象がおきることが考えられる。本結果でも、女王蜂生産が行われた卵室がある時期は、タイプ2, 3の場合にはいずれも、受精卵と未受精卵がコロニー内に混在する時期である。オオマルハナバチで見られたタイプ1のコロニーでは、SPも早い傾向にあることから、数日間の時間的な幅があるものの、最後の受精卵が成長する途中に未受精卵が産卵されている。新女王蜂生産の要因として、受精卵、未受精卵が同時にコロニー内に存在することが、新女王蜂生産を引き起こす要因である可能性であることが考えられた。Rössler(1970)は、健全な創設女王蜂の存在が受精卵を働き蜂に成長させる要因と考え、さらに女王蜂のフェロモンによって、受精卵から生まれた幼虫が、女王蜂に成長することを抑制していると考えた(Rössler and Rössler 1978)。確かに、セイヨウオオマルハナバチの女王蜂幼虫は、すでに1歳から、働き蜂幼虫よりも血中の幼若ホルモン濃度が高いが(Cnaani *et al.* 1997)、本種の女王蜂と働き蜂の分化が孵化後何日目以降に不可逆になるのかについての知見はない。また、産卵をしている働き蜂を正常なコロニーに入れる処理が創設女王蜂のフェロモン放出にどのような影響を及ぼすのかについても明確ではなく、新女王蜂生産に関わる要因を明らかにするためにも、今後追求すべき問題である。

新女王蜂に分化させる要因としては、これらの幼虫への給餌行動も重要であると考えられている。セイヨウオオマルハナバチでの各カストの幼虫への給餌頻度は、働き蜂 < オス蜂 < 新女王蜂であり、特に雌性カストは、幼虫の成長にともなって、給餌頻度が上昇するのに対して、オス蜂では、若齢時には働き蜂よりも高頻度で給餌されるが、終齢時にはその頻度が働き蜂に対する頻度よりも低下する(Ribeiro *et al.* 1999)。さらに、1回当たりの給餌時間は給餌量とは無関係であり、給餌する働き蜂が花粉や花蜜に自らの分泌物を混入させる時間、およびその物理性に関係があると考えられており、特に女王蜂の終齢幼虫への給餌時間が長い傾向にある。このことは、給餌する蜂が任意に女王蜂、働き蜂のそれぞれの幼虫に異なる餌を給餌していることを示していると報告されてい

る(Ribeiro 1999)。しかし、給餌する働き蜂もしくは創設女王蜂がどのような情報をもとに給餌方法を変えているかについてはわかつていない。ここでは、この点を未受精卵がある中に受精卵が存在することで、未受精卵のオス蜂用の給餌を受精卵にすることが、女王蜂分化への切り替えになりうると考えた。今後、このような観点からも女王蜂生産の要因の一つとして明らかにする必要性があると考えられた。

## (2) オオマルハナバチとクロマルハナバチの競合行動に関する比較

競合(Competition)行動は、Duchateau and Velthuis (1988)で、働き蜂による卵室の破壊、食卵、働き蜂産卵、創設女王蜂への攻撃として定義されている。Katayama (1973, 1975)も、卵室が破壊される行動をオオマルハナバチ、クロマルハナバチで観察している。本結果では、両種についての競合行動を観察し、セイヨウオオマルハナバチ同様の行動が見られる事を示した。働き蜂によるこれらの行動が起こっている時には、創設女王蜂は主に働き蜂によって産卵された卵室を食卵する行動を中心にしており、働き蜂と女王蜂が産卵行動で競合していることが明らかとなった。セイヨウオオマルハナバチでは、女王蜂の大顎腺で作られるフェロモンによって、働き蜂の産卵行動が抑制されていることが明らかにされているが(Van Honk *et al.* 1980)、正常なコロニーでも働き蜂は羽化後15日以降から卵巣の発達が見られることから(Duchateau and Velthuis 1989)、その抑制力は不完全であると考えられる。本結果でも、創設女王蜂のいるオオマルハナバチのコロニーの働き蜂を解剖し、卵巣およびアラタ体の発達程度を調査したところ、羽化後の日数が経

過している働き蜂のグループで若い働き蜂よりも発達している傾向が見られ、またこのグループの働き蜂が競合行動をとっている割合が高いことがわかった。さらにクロマルハナバチでは、老齢の働き蜂が生き残る中で、羽化後の日数が経過していない若い働き蜂の死亡数が急増していることがわかった。この現象の要因は明らかではないが、競合時には働き蜂が創設女王蜂や他の働き蜂を攻撃する行動が見られる。さらに、室内飼育下では、コロニーの成長段階でほとんど死亡する働き蜂がいない中で、競合から15から20日後に若い働き蜂の死亡数が急増することから、この現象も競合行動に起因し、老齢の働き蜂によって若い働き蜂が攻撃された結果であることが想像できる。大量増殖をする上で、新女王蜂の生産数を増やすためには営巣後期に大量の女王蜂を生産させる方法が効率的である。実際、競合行動は徐々に少くなり、再び創設女王蜂の産卵も行われ、この時期の卵から新女王蜂が大量に生産される傾向がある。しかし、競合時に創設女王蜂が攻撃される、若い働き蜂が急激に減少する、といった現象は、新女王蜂生産に負の影響を及ぼす。そこで、この行動を回避する方法として、最も老齢の働き蜂を除去する方法を試みたが、その効果は期待したほどではなかった。競合行動は、オオマルハナバチの場合、創設女王蜂の死後は、働き蜂の日齢間の卵巣やアラタ体の発達程度の差、およびそれらの行動自体が不明瞭になる傾向がある。しかし、創設女王蜂がまだ産卵できる状態で、なぜ競合行動に変化が生じ、女王蜂の産卵が再開されるかについては、更なる観察をする必要があると考えられる。

## 第2章 在来種マルハナバチの施設トマトのポリネーターとしての機能

セイヨウオオマルハナバチは、振動採粉行動によって効率的にトマトの受粉を行い(Banda and Paxton 1991), 閉鎖された空間にも適応できることから(Free 1993), 施設トマトの有効なポリネーターとして評価されている。この行動は、今回供試した4種の日本在来種が野外で訪花している時にも見られ、セイヨウオオマルハナバチにだけ見られる行動ではない。しかし、日本在来種のマルハナバチが、トマトに訪花した時の行動についての知見はなかった。そこで、本章では日本在来種のポリネーターとしての効果およびその行動をセイヨウオオマルハナバチと比較評価した。併せて、トマトの花粉の性状と栽培条件の関係解明および、花粉採取を目的とした訪花行動の解析を行い、現在、主に利用されているセイヨウオオマルハナバチに日本在来種の利用も含めた施設トマトでのポリネーション技術について論じる。

### 第1節 トマトでのポリネーション効果

#### 緒 言

セイヨウオオマルハナバチによる施設トマトのポリネーションは、従来のホルモン剤処理による着果方法に置き換わるほどの優れた技術である。さらに、この技術は、トマトを受粉させることによって結実させることから、ホルモン剤処理果では見られない種子が形成され、果実内のゼリ一部が充実し、空洞果の発生を抑えることが出来る。振動採粉行動が有効に活用されている例としては施設トマト以外でも、キウフルーツ(*Actinidia deliciosa*) (Corbet et al. 1988), ツツジ科(Cane et al. 1985)で報告されている。またこれらの報告では、セイヨウオオマルハナバチ以外の種についても言及している。マルハナバチは、花の形態に応じてそれぞれの花から花粉、花蜜を採取する行動を変化させるが(Heinrich 1976)，特に振動採粉行動をもつマルハナバチでは、花を振動させることによって花粉がこぼれだすような形態をもつ作物のポリネーションに有効と考えられる。そこで、本節では、日本在来種マルハナバチでのトマトへの訪花行動、ポリネーション効果を明らかにし、セイヨウオオマルハナバチと比較した。なお、本節の結果は、Asada and Ono(1996), Asada and Ono(1997), 浅田(1998), 浅田(1999<sup>a</sup>, 1999<sup>b</sup>)に報告した。

#### 材料および方法

##### (1) 供試虫

日本在来種のマルハナバチの中から、トマトへの訪花性および訪花効果が認められる種を検索し、セイヨウオオマルハナバチと比較をするため、セイヨウオオマルハナバチと同亜属であり、室内飼育が可能となったオオマルハナバチ、クロマルハナバチの2種および、別亜属ではあるが、国内で広い分布域をもつトラマルハナバチ、コマルハナバチの2種を加え、合計4種を候補種として各種の試験に供試した。オオマルハナバチ、クロマルハナバチは室内飼育で得たコロニーを用いた。コマルハナバチ、トラマルハナバチは、それぞれ1995年5月25日東京都町田市、1995年9月18日神奈川県津久井町で採集したコロニーを用いた。また、セイヨウオオマルハナバチは、市販品(Koppert社製)を使用した。

供試マルハナバチは、250mm×175mm×120mmの木製容器内で飼育したコロニーを用いた。また、セイヨウオオマルハナバチも購入後、この容器に移して供試した。これらのコロニーを試験時に網室内に設置し、3から8時間の観察終了後は、巣外の働き蜂を回収して、飼育室内に戻した。

##### (2) トマトでの訪花行動の観察

訪花行動の観察は、野外に設置した網室1箇所、温室内に設置した網室2箇所で行った。野外の網室(縦×横×高:2m×2m×2m)には、18リットル容器で栽培したトマトを設置し、訪花の有無を確認した。ここでのトマトには品種‘桃太郎’‘桃太郎T93’‘ミニキャロル’を用いた。‘桃太郎’‘桃太郎T93’は、玉川大学農学部農場内で育苗したもの用いた。ミニキャロルは市販の苗を用いた。

温室内に2m×3m×2m(縦×横×高), 1.8m×3.6m×1.8m(縦×横×高)の枠を設置し、寒冷紗(#300)を用いて網室を作成した。温室内に設置した網室では、品種‘桃太郎’および‘桃太郎T93’を定植した。‘桃太郎’は1996年4月3日に播種し、5月18日に温室内に設置した網室に定植した。元肥は、N:P:K=20kg:25kg:20kg/10aとし、N:P:K=5kg:0kg:5kg/10aの追肥を2回施用した。‘桃太郎T93’は、7月11日に播種し、8月18日に網室内に定植した。元肥は、N:P:K=20kg:25kg:20kg/10aとし、N:P:K=5kg:0kg:5kg/10aの追肥を4回施用した。この中にマルハナバチのコロニーを設置して訪花行動を観察した(Table 31)。なお、網室内で開花している花の数を調節するために、18リットル容器で栽培した品種‘ミニキャロル’を試験のたびに入れ替えて使用した。なお、これらの鉢植えのトマトは移動時の振動で受粉するため、試

験を行う数日前に網室内に入れ、開花してからの移動はしないこととした。

網室内でマルハナバチのコロニーの出入り口を開放し、訪花行動が始まるのを待った。訪花行動が始まった

時点で、その行動を「訪花時の振動採粉(以下Buzzingと略す)」「花にとまり、体毛に付着した花粉を収集(以下Groomingと略す)」「花から花への飛行(以下Flightと略す)」の3つに分類し、それぞれの時間を測定した。

Table 31. Periods and tomato cultivars used in bumblebee foraging experiments

Species	Period	No. workers	Tomato cultivar
<i>B. ardens</i>	1-8 Jun	10-15	momotaro
<i>B. diversus</i>	26-28 Sep	30-40	momotaro T93
<i>B. hypocrita</i>	12 Sep-3 Oct	30-45	momotaro T93
<i>B. ignitus</i>	13 Sep-9 Oct	45-80	momotaro T93
<i>B. terrestris</i>	26-31 Oct	105	momotaro T93

### (3) ポリネーション能力の検定

トマトでのポリネーション能力の種間差を検討するため、前記した網室内での訪花試験時のトマトについて着果率および果実品質の調査を行った。

マルハナバチが訪花した花について、訪花後10日目に着果の判定を行い、マルハナバチの種別に着果率をもとめた。対照として、網室内で開花し、マルハナバチの訪花をさせなかつた花の着果率を調査した。トマトの花には、花房の段位と花房内で開花した順序で番号を付けて記録した。

各種マルハナバチの訪花によって着果した果実を水平方向に切断し、その断面で子室組織の発達程度を判定し、空洞果率を求めた。空洞の程度を6段階に分類し、発達程度が3以上のものを空洞果とした。さらに、1果当たりの種子数を記録した。また、ホルモン剤処理によって結実した果実との比較のため、4-CPA(トマトーン Co.Takeda Engei)を、ハンドスプレーを用いて、開花初期時に花に局所施用した。オオマルハナバチ、クロマルハナバチ、セイヨウオオマルハナバチの3種の訪花行動と同じ条件で観察した。また、それらの受粉によって得た果実の品質を比較するために、12m×4mのビニールハウスをネットで3区に仕切り、1区当たり24株で訪花試験を行った。トマトは、品種‘ハウス桃太郎’を用い、1997年8月2日に、株間80cm×畝間120cmで定植した。供試マルハナバチには、室内飼育で得たオオマルハナバチとクロマルハナバチのコロニーおよび、購入後、前記2種で使用している飼育巣箱に移したセイヨウオオマルハナバチのコロニーを用いた。これらのコロニーをトマトの3段目が開花した1997年8月27日にそれぞれの区内に設置し、4から6段目の花房への訪花行動を同年9月30日まで観察した。訪飼期間中には、数日おきに訪花率を調査し、4段目お

よび5段目の果実の上物、可販果について、果重、1果当たりの種子数、空洞果率、薬の痕(花痕)の大きさについて調査した。なお、薬の痕については、チャック果、乱形果は除外した。また、訪飼期間中に2回、1日を通じたマルハナバチの訪花行動の連続観察を行い、30分ごとに各区で訪花している働き蜂数、訪花はしていないが巣外にいる働き蜂数、巣内で旋風行動をしている働き蜂数を記録した。

## 結 果

### (1) トマトでの訪花行動

供試した4種の日本在来種マルハナバチとも、花蜜のないトマトの花に訪花し、振動採粉行動を示すことを確認した(Fig.45)。放飼直後は、網室から出ようとして、外に向かって飛ぶが、1日の間で、網室内の空間内で飛翔するようになることが観察された。トマトの花へ訪花するまでの時間は、種類に関係なく2から4日を要した(Table 32)。コマルハナバチの観察では、放飼後、4日目にトマトの花で最初の訪花行動が観察された。その後、トマトから一度隔離し、2日後に再び訪花試験を行うと、平均23±3分で訪花を始めた。トマトへの訪花を経験したハチでは、一時的にトマトから隔離しても、次の訪花試験時には訪花が始まるまでの時間が著しく短縮する傾向が見られた。また、はじめてトマトの花に訪花したマルハナバチは、観察した5種類のいずれも、花にとまって口吻で花蜜を探るような行動を示し、この訪花行動を数回とるうちに、薬にぶら下がって、胸部を振動させる振動採粉行動を示すようになった。セイヨウオオマルハナバチは、トマトの花で振動再粉行動を示すことから、トマトの有効なポリネーターとして評価されているが(松浦 1993)、今回、日本産4種についても、トマトの花に振動採粉行動を示すことが

Table 32. Days to start of foraging by bumblebees on tomato flowers

Species	Days after start of foraging test							
	0	1	2	3	4	5	6	7
<i>B. ardens</i>	×	×	×	○				
<i>B. diversus</i> *1	○	○						
<i>B. hypocrita</i> *2	×	—	—	×	—	—	—	○
<i>B. hypocrita</i> *2	×	—	×	○				
<i>B. hypocrita</i> *2	×	×	○					
<i>B. ignitus</i>	×	×	○					
<i>B. terrestris</i>	×	—	×	×	○			

○: Bees observed foraging

×: Bees not observed foraging

—: No observation

\*1 *B. diversus* colonies in this observation had experienced buzz-foraging on tomato flowers.\*2 Three different colonies of *B. hypocrita**B. hypocrita**B. ignitus**B. diversus**B. ardens*

Fig. 45. Japanese bumblebees buzz foraging on tomato flowers

観察された。振動採粉時に、葯を大顎で噛む行動も全種で確認され、セイヨウオオマルハナバチと同様に、訪花後には噛まれた葯が褐色へ変色した。

同じハウス内でオオマルハナバチ、クロマルハナバチ、セイヨウオオマルハナバチを同時期に訪飼した条件下、1か月間の訪花率を見たところ、調査期間中のばらつきはあるものの、種間差は認められなかった(Fig.46)。

しかし、これらの行動を細分し、その時間を見ると種間差が認められた。[Buzzing] (秒/1回)は、コマルハナバチがオオマルハナバチ、クロマルハナバチ、セイヨウオオマルハナバチよりも長い傾向が見られた( $p<0.05$ )。

マルハナバチよりも有意に短かく、[Grooming] (秒/1回)は、クロマルハナバチが、セイヨウオオマルハナバチよりも有意に長かった。[Flight] (秒/1回)は、コマルハナバチとトラマルハナバチがオオマルハナバチとクロマルハナバチよりも有意に短く、オオマルハナバチ、セイヨウオオマルハナバチよりも長い傾向が見られた( $p<0.05$ )。クロマルハナバチは、いずれの行動についても長い傾向にあり、1分間当たりの訪花数が、1.9花と他種に比べ少なくなった(Table 33)。

Table 33. Duration of behavioral categories and number of flowers visited per minute by five bumblebee species

Species	Duration of behavioral category(sec.) <sup>*1</sup>			No. flowers visited per minute
	Buzzing	Grooming	Flight	
<i>B. ardens</i>	5.4 a (n=77)	-	5.9 ab (n=46)	4.6
<i>B. diversus</i>	7.5 ab (n=46)	5.5 ab (n=9)	4.5 a (n=36)	4.2
<i>B. hypocrita</i>	12.0 bc (n=39)	4.0 ab (n=23)	9.4 c (n=69)	3.6
<i>B. ignitus</i>	11.5 c (n=40)	7.5 a (n=15)	15.0 c (n=34)	1.9
<i>B. terrestris</i>	8.5 bc (n=52)	2.9 b (n=24)	8.9 bc (n=34)	3.5

\*1 Means followed by a different letter in the same column are significantly different ( $p<0.01$ ) by the Mann-Whitney U-test.

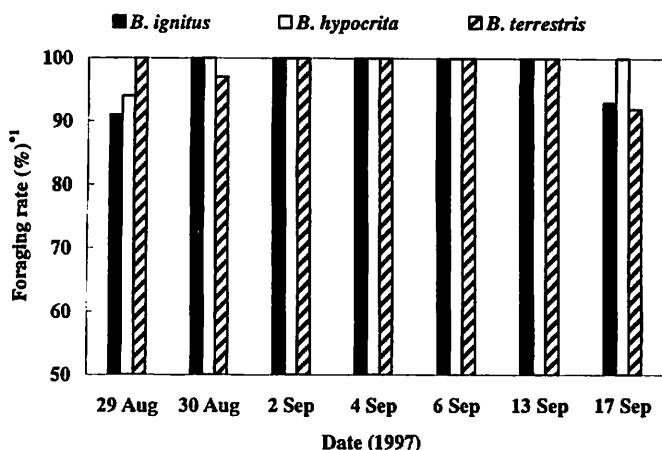


Fig. 46. Foraging rate of three species of bumblebees on tomato flowers

\*1 Foraging rate (%) = Number of flowers with bumblebees' bite marks / total number of flowers × 100

## (2) トマトに対するポリネーション効果

まず、網室内での訪花試験では、4種の日本在来種のマルハナバチとセイヨウオオマルハナバチの、訪花後10日目で調査した着果率は、いずれも84から100%を示し、種間差は認められなかった(Table 34)。また、これらの訪花によって受粉させたトマトは、いずれも種子形成が認められ、果実内の空洞果の発生率も0~7%の範囲で、種間差は認められなかった(Table 34)。一方、植物ホルモン剤(4-CPA)によって着果させたトマトでは、28%の空洞果が認められた。

次に同一のビニルハウス内を3区に区切りオオマルハナバチ、クロマルハナバチ、セイヨウオオマルハナバチを同時期に着果段位を決めて着果させた試験では、各区

Table 34. Fruiting rate and incidence of puffy fruit

Treatment	Fruiting (%)	Number of fruits examined	Incidence of puffy fruit (%)						Number of seeds per fruit	
			0	1	2	3	4	5		
<b>Pollinated by</b>										
<i>B. ardens</i>	100 (n=28)	24	88	12	0	0	0	0	-	
<i>B. diversus</i>	84 (n=57)	24	83	17	0	0	0	0	132 ± 56	
<i>B. hypocrita</i>	94 (n=62)	43	81	9	2	5	2	0	123 ± 47	
<i>B. ignitus</i>	86 (n=91)	66	74	15	6	3	2	0	127 ± 57	
<i>B. terrestris</i>	88 (n=75)	59	86	14	0	0	0	0	149 ± 69	
Spraying with 4-CPA	82 (n=33)	42	38	19	17	17	2	7	6 ± 15	
No treatment	17 (n=76)	13	92	8	0	0	0	0	109 ± 60	

\*1: Grade of puffiness  
0 1 2 3 4 5  
mature ⇔ puffy

Table 35. Comparison of foraging by different bumblebee species on tomato fruit quality

Species	Position of inflorescence	Weight of fruits(g)	Number of seed per fruit	Diameter of style mark(mm)	Incidence of puffy fruit(%)
<i>B. ignitus</i>	4	175(n=35)	99(n=35)	2.3(n=35)	0(n=32)
<i>B. hypocrita</i>	4	193(n=65)	129(n=65)	2.7(n=65)	2(n=63)
<i>B. terrstris</i>	4	190(n=63)	109(n=63)	2.9(n=63)	3(n=63)
<i>B. ignitus</i>	5	203(n=50)	105(n=50)	2.6(n=50)	6(n=53)
<i>B. hypocrita</i>	5	182(n=23)	121(n=23)	2.6(n=23)	4(n=24)
<i>B. terrstris</i>	5	189(n=50)	108(n=45)	2.6(n=45)	4(n=51)

No significant difference (variance analysis) between bumblebees species

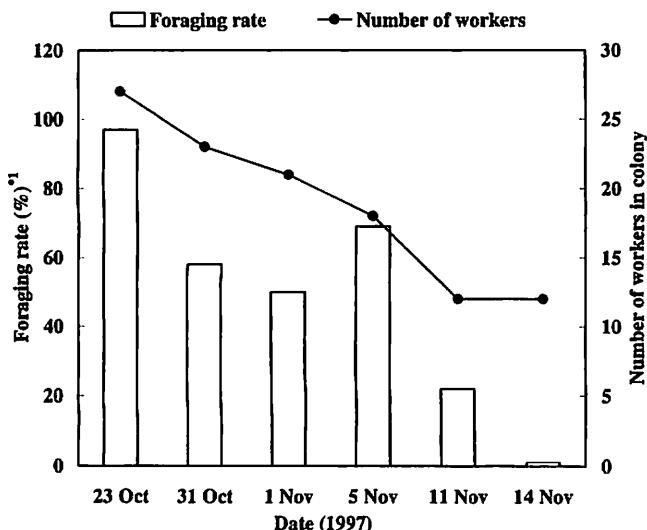


Fig. 47. Relationship between foraging rate and number of workers of *B. ignitus* colony inside tomato greenhouse

\*1 Foraging rate (%) = Number of flowers with bumblebees' bite marks / total number of flowers × 100

内の値にはばらつきがあるものの、マルハナバチの種類による果重、空洞果の発生率、花痕の大きさの差は、認められなかった(Table 35)。さらに、営巣末期のクロマルハナバチについて、コロニー内の働き蜂数と開花している花への訪花率の関係を見ると、訪花率は働き蜂の減少とともに、2週間程度は徐々に低下し、その後1週間で大きく減少し訪花が見られなくなった(Fig.47)。

訪飼期間中の8月21日および9月2日に行った2回の連続観察の結果をFig. 48に示した。朝から快晴であった8月21日は、午前6時から3種ともハウス内を飛翔している働き蜂を確認できた。3種ともハウス内の温度が35°Cになつた午前9時から巣内での旋風行動を示した。クロマルハナバチ、セイヨウオオマルハナバチでは、旋風行動を示しながらも、巣の外に働き蜂がいたのに対し、オオマル

ハナバチでは、旋風行動が始まるとともに、ほとんどの働き蜂が帰巣した。9月2日は午前中は晴れ間があったものの、午後には雨となり、気温も低下した。気温が30°C以上になった午前8時から10時の間に旋風行動が見られた。気温の低下とともに旋風行動をとる働き蜂が減少したものの、曇天から雨となった12時以降では、8月21日には訪花活動の見られた25から30°Cでも巣外で活動する働き蜂はほとんど見られなくなった。一時雨のあがった午後3時には3種とも巣外での活動を示したが、その後の降雨でいずれも帰巣した。

### 考 察

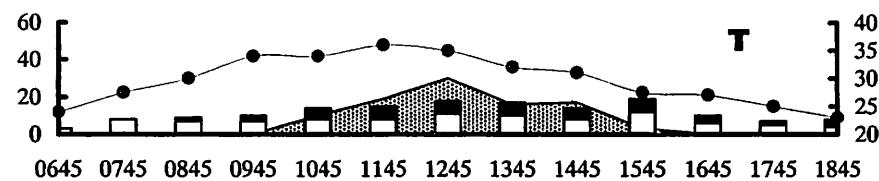
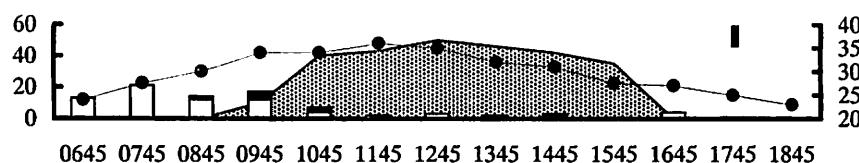
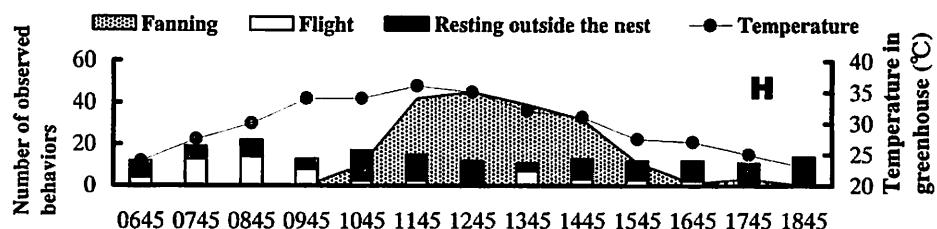
本試験で供試した日本在来種のマルハナバチは、いずれもトマトに訪花し、振動採粉行動によって花粉を採集し、大顎で薬を噛むことで、セイヨウオオマルハナバチと同様の訪花の痕跡(バイトマーク)を残した。4種のうち、*Bombus*亜属2種、*Pyrobombus*亜属1種は短舌型であり、残りの1種は長舌型の*Diversibombus*亜属である。長舌型のマルハナバチは、野外では距の長いツリフネソウや花の正面から基部の貯蜜部までが長いギンリヨソウなどの花からも長い口吻を使って花蜜を採集することができる(田中・森田 1999)。一方、短舌型のマルハナバチは花弁に口吻を突き刺し、直接花蜜を採集する盗蜜行動をとる場合がある。ただし、いずれの種も最初にトマトに訪花した時には花にとまり、口吻を伸ばしながら探るような行動を見せた。その後、振動採粉行動を示していたことから、これらのマルハナバチはいずれも、花粉の採集を主目的にトマトに訪花していたと考えられる。そのため、短舌型、長舌型の異なる性質もトマトのポリネーションには影響がないと考えられた。また、最初の訪花からすぐに振動採粉行動を示し、その後はこの行動を継続させていた点については、採餌働き蜂が花の形態に応じて、それ

ぞの個体ごとに訪花行動のパターンを変化させる特徴 (Heinrich 1976)と一致しており、トマトの花から得られるものが花粉であり、振動によってそれが得られることを数回の訪花で学習していたと考えられた。

訪花行動を4つのパターンに区分し、それぞれの時間について種間で比較したところ、Buzzingの時間は、コマ

ルハナバチが他種に比べ短い傾向にあったが、着果率では差がないことから、受粉効果には問題がないと考えられる。1分間当たりの訪花数では、クロマルハナバチが少ない傾向が見られた。花から花への飛行時間およびそれ以外の飛行時間が長いことから、連続して訪花する他種に比べ少なくなったと考えられる。野外では、コマルハ

### 21 Aug 1997



### 2 Sep 1997

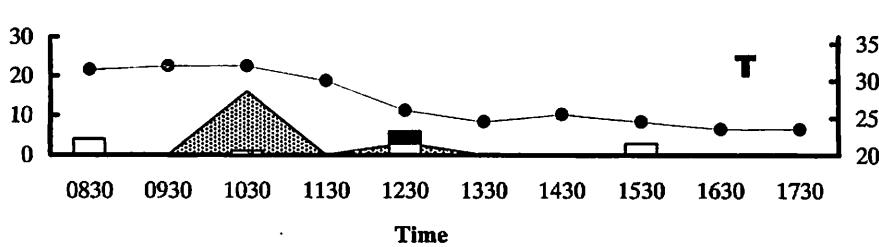
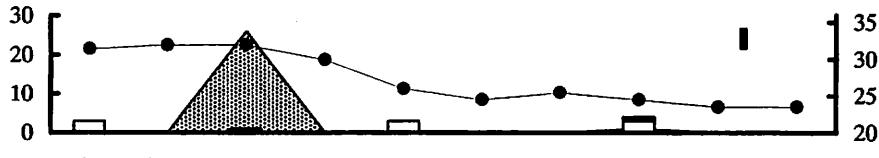
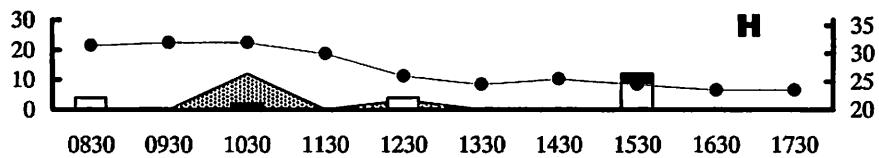


Fig. 48. Effect of greenhouse temperature on behavior of three bumblebee species

H: *B. hypocrita* I: *B. ignitus* T: *B. terrestris*

ナバチ、オオマルハナバチが樹林内の灌木の上を飛び、トラマルハナバチは樹林の下や草地の中を縫うように飛行するのに対して、クロマルハナバチは、巣から樹林の上の開放空間に向かって飛ぶ傾向があることが観察されている(片山・落合 1980)。クロマルハナバチは、比較的障害物のない空間を好むとされていることから、本試験のような極端に狭い空間では、他種に比べ網室から出ようとする行動が多く観察されたと考えられた。しかし、セイヨウオオマルハナバチ、オオマルハナバチ、クロマルハナバチの3種を同一の施設を3つに区切った中での訪飼試験でも着果率には差が無く、受粉効率の面では問題がないと考えられた。本試験でのセイヨウオオマルハナバチのBuzzingの時間は8.5秒であったが、Van Ravestijn and Sande(1991)では、3.7秒としている。この数値をもとにセイヨウオオマルハナバチを導入する最適な施設面積が計算され、10から15コロニーを1haの施設に導入するのが最適とされた(Van Ravestijn and Sande 1991)。小出・林(1993)もほぼ同様の計算から、10a当たりに1コロニーとしている。本試験では狭い空間で限られた花数での条件で計測したことから、数回訪花した花から、さらに花粉を得ようとして、Buzzingの時間が長くなつたことも考えられる。それぞれの施設面積での訪花行動をさら調査することで、国外に比べ、施設規模の小さい国内の施設トマトでの最適な利用条件が明らかになるとと考えられる。

施設トマトでは通常10a当たり750本を植栽した場合、大玉系トマトでは、1日に1株で2から3花が開花することから、1日1500から2250花/10aが開花すると推定される。訪花する働き蜂が10頭とすると、1頭当たり150から225花への訪花が必要となる。クロマルハナバチでは1.9花/分の訪花頻度であることから、1日に必要な150から225花への訪花には、75分から114分しか必要としない。訪花頻度が低い数値を示したクロマルハナバチでも、実用上は問題がないと考えられる。ただし、小玉、中玉系のトマトでは、花房中の花数が多く、特に小玉系では50から100花が1花房につく。この場合には、花と花の距離が大玉系トマトに比べ近いことから、訪花行動パターンも大玉系の場合とは異なると考えられることから、本試験と同様の調査に基づき評価する必要がある。

受粉の効果には種間差が認められず、1果当たりの種子数や空洞果の発生程度でのセイヨウオオマルハナバチと日本の在来種との差はないと考えられた。同一の施設内で、セイヨウオオマルハナバチ、オオマルハナバチ、クロマルハナバチを比較した結果、トマトの外観、空

洞果の発生程度や各種の形質にも差はない。また、高温時の働き蜂の行動も、30℃以上では旋風行動が続き、訪花行動が停止しており、訪花行動についても供試した3種間での差は見られていない。コロニーの施設内での連続使用可能時間については、本試験では1か月までしか記録できなかった。岡本ら(2002)では、セイヨウオオマルハナバチ、クロマルハナバチを施設トマトのポリネーターに利用しているが、健全なコロニーを導入すれば、利用可能期間に大きな種間差はないとしている。この点については、導入するコロニーサイズとの関係が強く、飼育方法やそれぞれの種の本来のコロニーサイズと合わせて考える必要があると考えられる。

## 第2節 施設内温度管理がトマトの受粉に及ぼす影響

### 緒 言

施設トマト栽培の中で、ホルモン剤処理とマルハナバチ利用の大きな違いは、温度管理と防除に出てくる。特に温度管理では、4-CPA使用時では、空洞果の発生を抑制する効果も期待できることから、夜温を8℃で管理し、トマトの成長を抑えながら栽培する方法がとられる。トマトの開花には、最高温度15℃以上、最低温度5℃以上が必要とされている。夜温を5℃で経過させても、昼温を30から35℃で管理すれば開花、受粉は正常に行われる。しかし、厳冬期には花粉の発芽率が低下しており、正常に発芽するためには12℃が必要とされている(忠内1996)。主に11月から6月にかけて施設栽培が行われる神奈川県でも、マルハナバチを利用する場合には、加温期には施設内の夜温を10から12℃にする方法がとられている。しかし、冬期にはマルハナバチが訪花しても着果しない、もしくは健全な蜂群を設置し、しかも花も咲いているのに訪花しないといった事例が散見された。そこで、異なる栽培温度条件下でのトマトの花粉の活性および生成量を調査し、施設内の温度管理がトマトの花に及ぼす影響について試験を行った。なお、本節の結果は、浅田・北(2001)、岡本ら(2002)に報告した。

### 材料および方法

#### (1) トマト花粉の活性および生成量の評価方法

トマトの花粉活性の判定は、Peterson and Taber(1987)に従った。マルハナバチを施設から出して2日後以降に開花した花を選び、この花の薬の下方にエッペンドルフ管を保持して、市販の電動歯ブラシを用いて花柄部を振動させて、落ちた花粉を回収した。エッペンドルフ管に収集した花粉に0.1%のTriton-Xを含む0.5Mショ糖

液を1ml加えて懸濁させ、ここに1ppmになるFDA(フルオレセインディアセテート)を添加した後、蛍光顕微鏡で検鏡し、蛍光色を発している花粉粒を活性有りとした。FDAには、生細胞中のエステラーゼによって加水分解され、これに紫外線が照射されると蛍光色を発する特性があり(Ishikawa and Wagatsuma 1998)、細胞の生死判定に用いられている。

花粉生成量を評価する方法として、前記の花粉懸濁液の濁度をOD<sub>600</sub>で測定し、花粉量を推定する方法を試みた。同じ試料について血球板を用いて、花粉粒数を計測したところ、OD<sub>600</sub>で花粉粒数を推定することが可能であることが確認されたことから、以下の調査では、本方法で花粉生成量を推定した(Fig.49)。

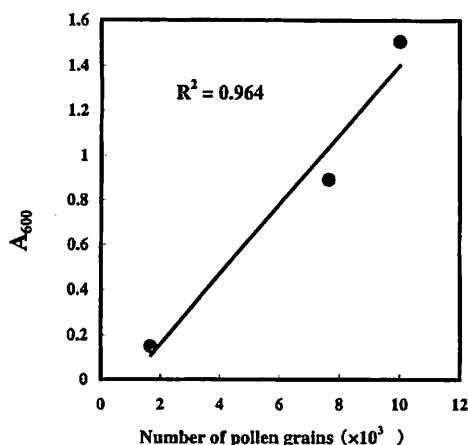


Fig. 49. Relationship between number of pollen grains and absorbance of OD<sub>600</sub> of tomato-pollen suspension

## (2) 人工気象下での温度管理条件および花粉の採集方法

1段目開花時に品種‘ポンテローザ’をワグネルポットに定植し、下記のとおりに温度設定をした人工気象棟内に、5株ずつ設置した。播種は1998年10月1日および11月1日の2回行い、時期別に2回ポット栽培を行った。

1区：昼温 15°C, 夜温 10°C

2区：昼温 20°C, 夜温 15°C

3区：昼温 25°C, 夜温 20°C

4区：最低温度が5°C以下に下がらないように設定

2段目以降の段位に着花した花から、各区、段位別に、花粉を収集した。あらかじめ、エッペンドルフ管を花の下側から薬が入るように保持し、市販の電動歯ブラシで花柄部を振動させることによって、エッペンドルフ管内

に花粉を集めた。花粉を採取した花の、花弁、薬を取り除き、柱頭だけを残した状態で、花粉採取後、10日目に着果率を調査した。

## (3) 施設栽培での温度管理条件および花粉の採集方法

通常の施設栽培環境での調査を行った。ホルモン処理によって着果させる対照温室とマルハナバチ利用温室の2つを用意し、花の活性の違いを、時期別に調査した。対照温室は、夜温を20:30–24:00を10°C, 0:00–7:00を8°Cに、マルハナバチ利用温室は20:30–24:00を12°C, 0:00–7:00を10°Cに設定した。品種は、「ハウス桃太郎」、「ろくさんまる」の2品種とした。また、両品種とも自根苗、接木苗を定植し、それぞれの花粉を採取した。

対照温室、マルハナバチ利用温室それぞれから、品種および、自根・接木の処理別にランダムに10花を選び、前記の方法でエッペンドルフ管に花粉を回収した。花粉の採取は1月18日、2月16日、3月16日に行った。花粉活性および花粉生成量は前記の方法で記録した。

## 結 果

### (1) 人工気象下における温度管理の違いが花粉に及ぼす影響

花粉生成量は、高温設定区で多い傾向が認められた(Fig.50)。1から4区の実測温度から各区の平均温度を算出し、平均温度と着果率の関係を見た(Fig.51)。トマトは35°C以上で高温障害が発生するが、28°Cの生育適温

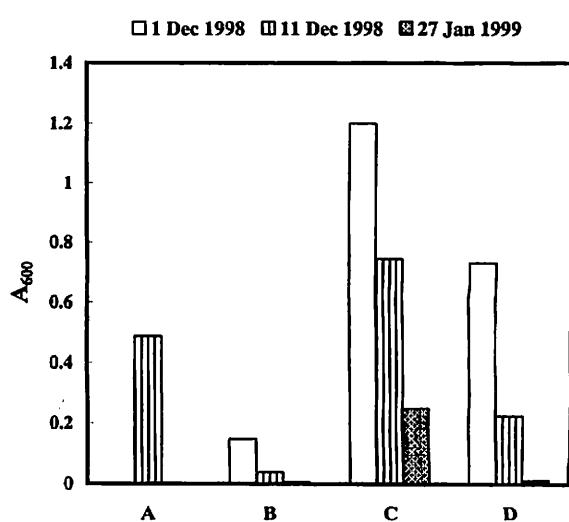


Fig. 50. Pollen productivity of tomato plants under different temperature conditions

Room	Temperature (°C)	
	Day	Night
A	15	10
B	20	15
C	25	20
D	Minimum temperature 5°C	

までの範囲内では、栽培温度が高いほど着果率も高まる傾向が認められた。花粉活性については、いずれの区も約90%の花粉でFDA染色による蛍光が認められ、振動によって薬からこぼれ落ちる花粉については、栽培温度の設定の違いが花粉の活性に影響していないことがわかった(Fig.52)。以上のことから、栽培温度の低下は、トマトの花粉生成量に影響を及ぼすことが明らかになった。

## (2) 施設栽培における温度管理の違いが花粉に及ぼす影響

いずれの処理区においても回収した花粉の90から95%にFDA染色による蛍光が認められ、設定温度の違い

が‘ハウス桃太郎’‘ろくさんまる’の花粉の生死には、影響していないことがわかった(Fig.53)。花粉生成量は、両品種ともマルハナバチ利用温室で多い傾向が認められたが、自根・接木の処理間での差は明確ではなかった。‘ハウス桃太郎’では、各処理区とも1から3月にかけて花粉生成量が増加する傾向が認められたが、‘ろくさんまる’では、採取時期と花粉生成量の関係は明確ではなかった(Fig.54)。以上のことから、夜温設定を高めにしたマルハナバチ利用温室で、花粉生成量が多い傾向が認められた。また、‘ハウス桃太郎’では、同じ温度設定であっても、1から3月にかけて花粉生成量が増加する傾向が認められた。このことから、促成、半促成栽培では、定植

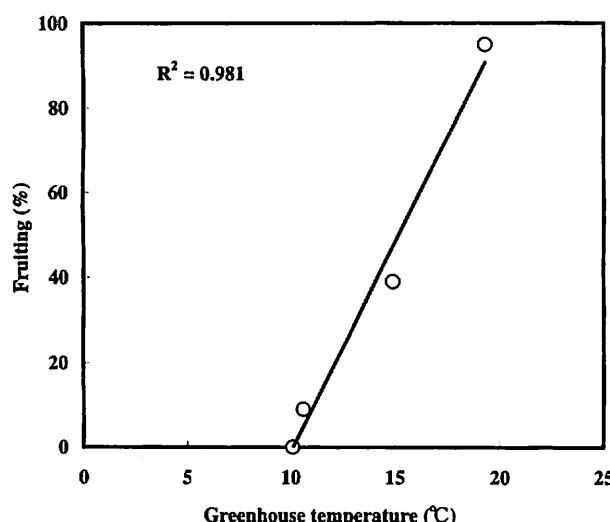


Fig. 51. Relationship between average temperature in greenhouse and tomato fruiting rate

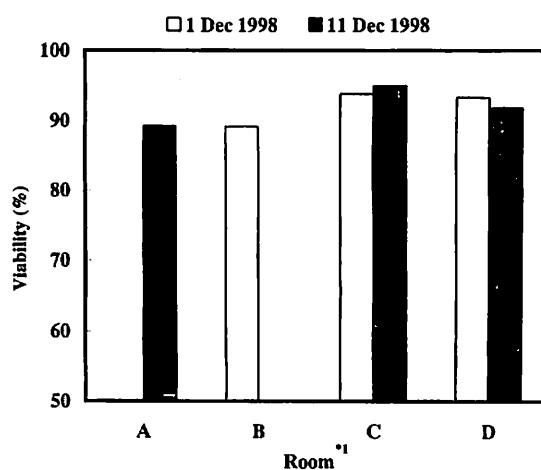


Fig. 52. Viability of tomato pollen under different temperature conditions

\*1 See Fig. 50

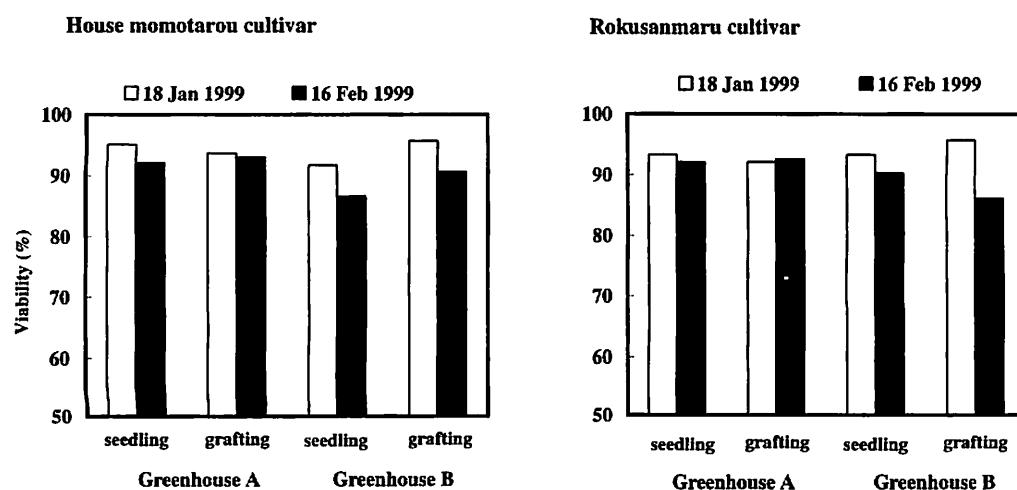


Fig. 53. Effect of greenhouse night temperature on viability of tomato pollen

Greenhouse	Temperature (°C)		
	2030-2400	0000-0700	Day
A	12	10	variable
B	10	8	variable

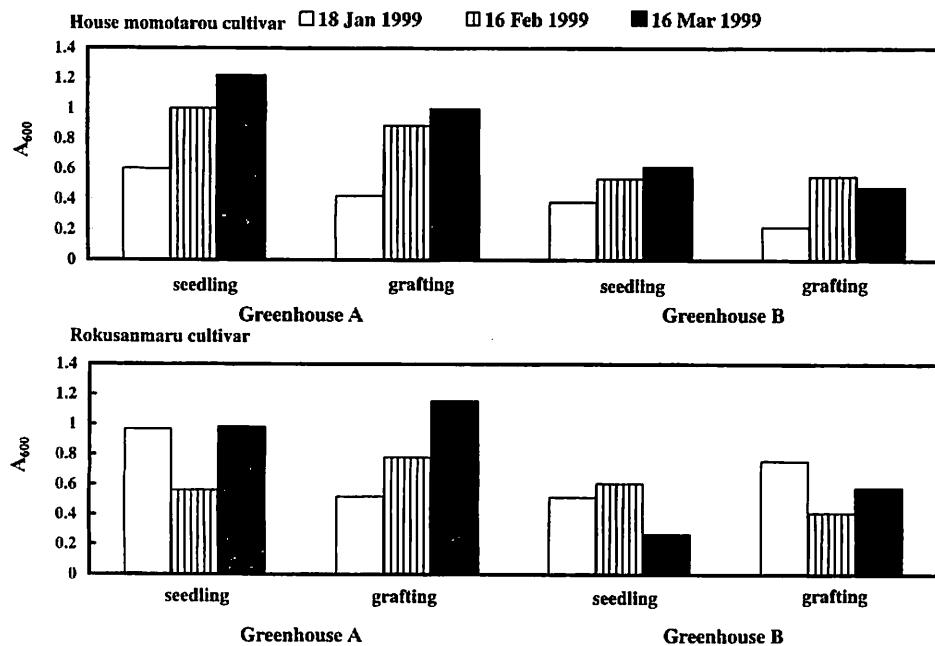


Fig. 54. Effect of greenhouse night temperature on pollen productivity of tomato flowers

Green-house	Temperature (°C)		
	2030-2400	0000-0700	Day
A	12	10	variable
B	10	8	variable

後1か月にあたる1月頃にマルハナバチを利用するためには、昼間のハチの活動性を維持することだけでなく、特にトマトの花粉の生成量に注意する必要があることが明らかになった。

### 考 察

夜温設定を20:30–24:00, 12°C, 0:00–7:00, 10°Cに設定したマルハナバチ利用温室で、花粉生成量が多い傾向が認められた。また、ハウス桃太郎では、同じ温度設定であっても、1から3月にかけて花粉生成量が増加する傾向が認められた。岡本ら(2002)は、本試験の再試験を行っており、そのデータからでも、マルハナバチ利用温室での設定で花粉の生成量が多く、また、1月から3月にかけて花粉生成量が増加する傾向が示された。トマトの結実には、温度条件の他に光も重要な要因であると考えられており、10月から2月にかけての寡日照期には、炭水化物合成の不足になり、これは、栄養成長よりも開花もしくは花の成長により悪影響を及ぼすとされている(Picken 1984)。マルハナバチによって着果させるトマトは、受精することから果実が結実し肥大が始まる。この場合の果実は種子数が多いほど大きい傾向にあることから(Dempsey and Boynton 1965)、着果率および果実の大きさを安定させるためには、花粉生成量を一定にする栽培技術が重要になると考えられる。特に1月頃にマルハ

ナバチを利用するには、昼間の働き蜂の活動性を維持することだけでなく、花粉の生成量に注意する必要がある。花粉生成量が低下した花の薬を開いて採集した花粉を検鏡したところ、本来球形であるトマト花粉が変形しており(Fig. 55)、また、寒天培地上での発芽も見られなかつた。低温によって花粉の発芽率は低下するが、このような花では、開裂した薬にほとんど花粉が付着していなかつた。本試験では、低温によって障害を受けた花では花粉の活性には変化がないものの、その生成量の低下が顕著であった。これは、本試験のように、花を振動させて花

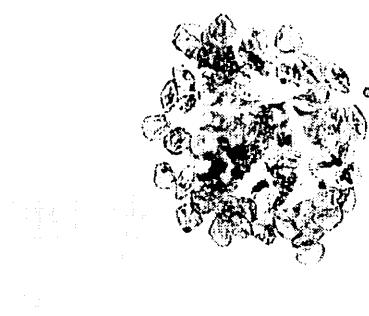


Fig. 55. Immature tomato pollen collected by dissection of anthers

This pollen cannot be collected by vibrator.

粉を採集した場合では、これらのような未発達の花粉がこぼれ落ちなかつたことに起因すると考えられる。

このような障害を受けた花では、マルハナバチが訪花して、花を振動させても、花粉は花からこぼれ出ないことが予想される。トマトの花は、開花した時点で花粉生成が終了しているため、既に開花している花の花粉生成を増やすことはできない。このような障害を受けた花については、ホルモン剤処理で着果させ、その間、温室内にツバキやアブラナなどの補助的な花を入れて、マルハナバチに対しての花粉を補いながら、トマトの花粉生成が回復するのを待つ必要があると考えられた。

### 第3節 オオマルハナバチとクロマルハナバチの花粉採餌行動のシミュレーション

#### 緒 言

効率よく花粉、花蜜を集めるために、*B. vagans*の働き蜂は、巣の周辺にパッチ状に開花している植物を訪花対象としながら、その群落が咲き終わった後に開花する植物にも訪花する(Heinrich 1979<sup>b</sup>)。セイヨウミツバチでは、花蜜の濃度のより濃い採餌場所を巣内で伝達する時に、1分間当たりのダンスの回転数を増やし、結果的にコロニーの採餌蜂をより効率の良い採餌場所に向かわせるような調節が行われている。同様に花粉でも、実験的にセルロースを混入させると、花粉だけの採餌場所を示すダンスよりも回転数が低下し、採餌場所選択に花蜜の濃度や花粉の質が重要な要因になっていると考えられている(Waddington 1997)。マルハナバチでは、採餌場所の情報をコロニー内で伝達する行動はしないとされており、個々の採餌蜂の判断がコロニーの採集量を決めることがある。前節で述べたとおり、施設トマトの花粉生成量は栽培温度が低いほど低下する傾向にあり、低温期のトマトの着果不良は、マルハナバチがトマトの花を採餌場所として適さないと判断し、訪花頻度が低下することも原因の一つとして考えられた。トマトの花は花蜜を分泌しないことから(Free 1993)、マルハナバチがトマトの花から得るものは花粉のみであると考えられる。また、トマトの花は開花直前に開花し、開花後には新たに花粉を生成しないことから、マルハナバチが花粉を取ってしまうとその花の花粉はなくなる。マルハナバチがセイヨウミツバチのような花粉量の情報を判断基準としているかについては不明であることから、オオマルハナバチ、クロマルハナバチについての、花粉採餌行動を室内条件下でシミュレートし、採餌場所の花粉量が上記2種のマルハナバチの採餌行動に及ぼす影響について調査を行った。

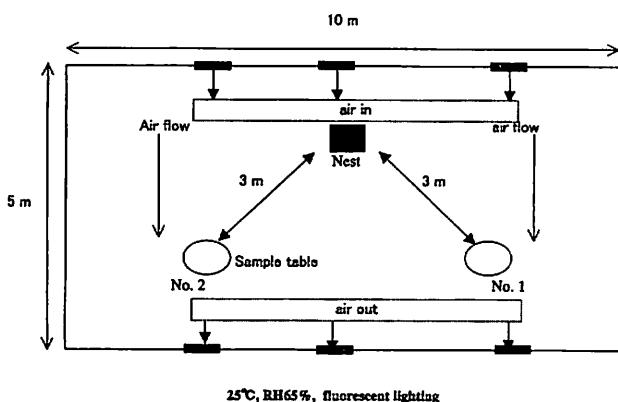


Fig. 56. Experimental room for observing bumblebee foraging

#### 材料および方法

##### (1) 室内でのマルハナバチコロニーの訪餌試験

冬期にトマトの花粉生成量が低下することおよび花粉生成量が低下した温室ではマルハナバチの訪花活動が停止してしまった事例をあわせて考え、花粉の生成量の低下をシミュレートした室内での訪餌試験を行った。温度 $25 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ , RH65%に保った5m×10mの窓のない空調室内にマルハナバチの巣を置き、その室内を自由に飛び回れるようにした(Fig.56)。室内は白色蛍光灯を光源とした。訪餌試験を行った室内にはあらかじめシャーレに花粉を置いて採餌場所を作り、働き蜂がこの採餌場所で花粉を集めることを確認した後に実験を行った。採餌場所は、高さ約60cmの台の上に青色の紙を置き、その上に9cm径ガラスシャーレを置き目的の試料を入れた。なお、試料の入れ替えはシャーレごと行った。供試虫は、飼育室内での継代飼育が可能であるオオマルハナバチ、クロマルハナバチの2種とした。なお、セイヨウオオマルハナバチについては、購入したコロニーからの病原や天敵類の飼育室への移入の恐れがあったことから、観察を行わなかった。観察は、連続して2時間ビデオで記録し、2か所の採餌場所で採餌行動を示した働き蜂の延べ数を10分間ごとに集計した。記録した働き蜂数は帰巣までは確認せず、いったん採餌場所から離れた働き蜂も全てカウントした。なお、実験に用いた花粉はセイヨウミツバチの花粉ダンゴを用いたが、ハチミツ等が混入していると思われることから、花粉ダンゴを50%, 20%のショ糖溶液で段階的に洗浄した後、水で洗浄したものを使用した。

## (2) 採餌場所での花粉の有無に関するシミュレーション試験

採餌場所の花粉の有無が採餌行動に及ぼす影響について観察した。2か所の採餌場所の片方に花粉を置き、もう片方は、シャーレのみを置いた。1時間の観察の後に、この2か所の場所を入れ替えて、さらに1時間の観察を行った。同様の目的で2時間の観察時間の内1時間は1か所には花粉を、他方には、花粉の代わりにほぼ同色に着色したオガクズを置き、次の1時間は、この両者を入れ替えた。

## (3) 採餌場所の匂いの有無に関するシミュレーション試験

マルハナバチが視覚以外の情報で採餌場所を選択していることも考えられることから、ミツバチの花粉ダンゴの匂いがマルハナバチの採餌行動に及ぼす影響を調べた。花粉ダンゴをFig.57に示すように抽出し、匂い物質として重要と考えられる揮発性のヘキサン抽出物(HE)を得た。同様に、この分画を除いたヘキサン抽出済み花粉(RP)を得た。これらの分画を2か所の採餌場所において選択試験を行った。選択試験は、1)水洗浄済み花粉とRP、2)水洗浄済み花粉とHE+RP、3)HEとn-ヘキサンの3回を、オオマルハナバチを供試虫として行った。各試験とも1時間の観察の後に、試料を入れ替えて、さらに1時間の観察を行った。また、花粉からの揮発性物質の影響を調べるためにY字型ガラス管で作成したオルファクトメーターを用いた選択試験を行った(Fig.58)。Y字管の

片方に試料、もう片方は対照として何も試料を入れない状態とした。Y字管の根元側から吸引ポンプで吸気し、Y字の先端側にはそれぞれ、活性炭を入れたフィルターを通して外気が入るようにした。Y字管内は1分間当たり1リットルの速度で空気が流れるようにした。Y字の根元側からオオマルハナバチの働き蜂を入れ、自然に管内を歩かせ、Y字に分かれている部分で試料、対照のどちらを選択するかを観察記録した。試料には、水洗浄済み花

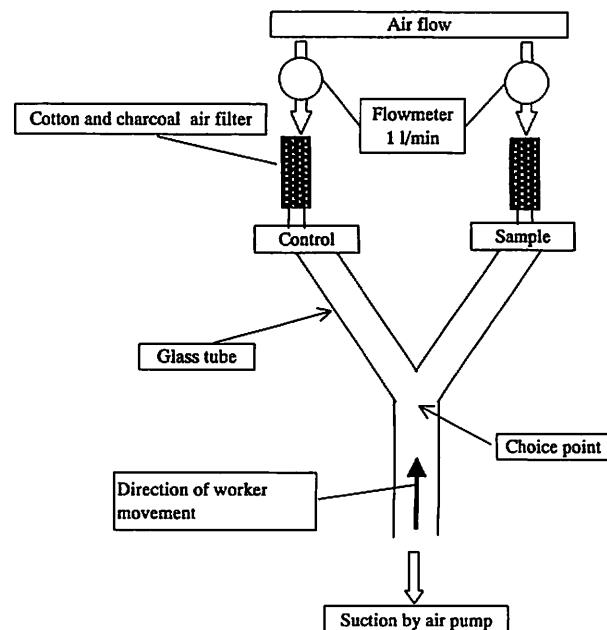


Fig. 58. Olfactometer used for choice experiments

The position of the sample and control were changed each time.

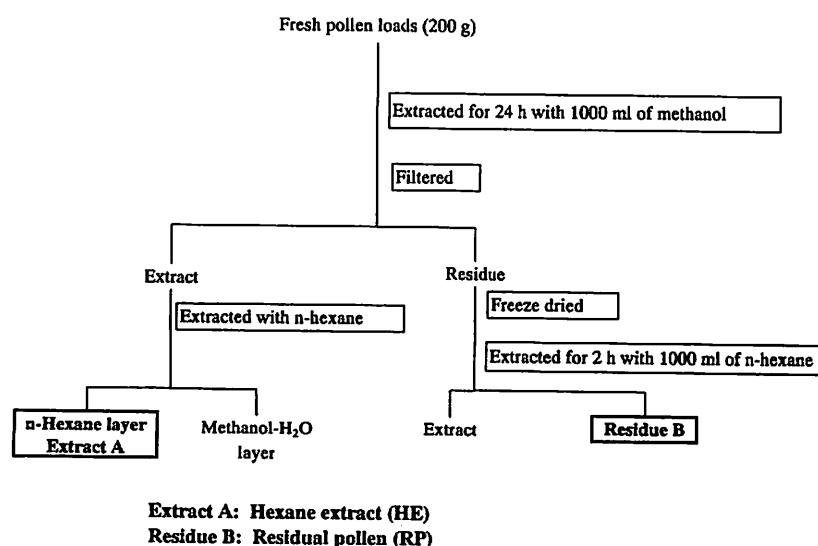


Fig. 57. Fractionation to obtain HE and RP

粉とRPの2種類を用いることで、HEの有無が働き蜂の選択行動に及ぼす影響を検定した。

## 結 果

### (1) 採餌場所での花粉の有無が採餌行動に及ぼす影響

室内条件であったが、働き蜂は光源に集まることなく、室内空間を飛翔した。出巣時には巣に向かって定位飛行を行い、室内を飛翔した後に帰巣することが確認されたので、この条件でシミュレーション試験を行った。

2か所に設置した花粉を1時間後に除く試験には、オオマルハナバチを供試した。試験開始から1時間は2か所の採餌場所ともに花粉を採集する働き蜂が集まり、花粉を入れたシャーレに着地し、花粉の採集を行っていた。着地した働き蜂は、各脚で花粉をかき集めるように、胸、腹部腹面の体毛に付着させ、ホバリングしながら、後脚ふ節に花粉ダンゴを形成した。1時間経過後に、2か所の採餌場所で花粉の入ったシャーレを空のシャーレに置き換えたところ、切り替えから10分間は働き蜂が集まつたものの、10分間以降は集まる働き蜂数が急激に減少した(Fig.59)。しかし、空になった後も、10分間に1から2頭の働き蜂が採餌にきた。

次に、2か所の採餌場所のうち1か所に花粉を、他方には黄色に着色したオガクズを入れた場合では、両種とも試験開始から、花粉の採餌場所に集中する傾向が見られた。1時間経過した時点で、2か所の採餌場所を入れ替えたところ、10分間で、大半の働き蜂が新たに設置された花粉の採餌場所に集まつた。ただし、その後は花粉を除いた場合よりも、オガクズの設置場所に働き蜂が

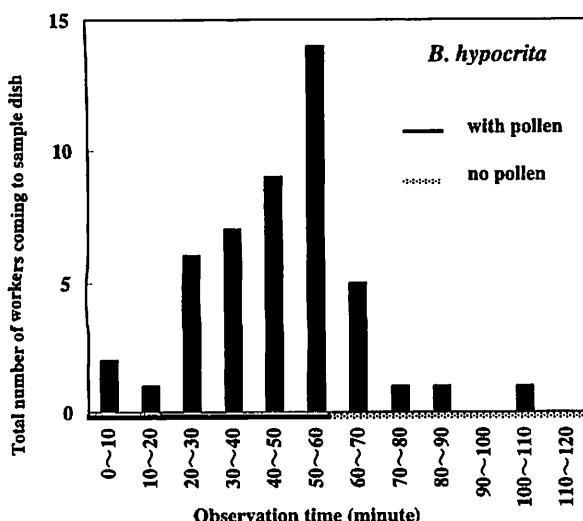


Fig. 59. Effect of presence of pollen on foraging activity at sample sites

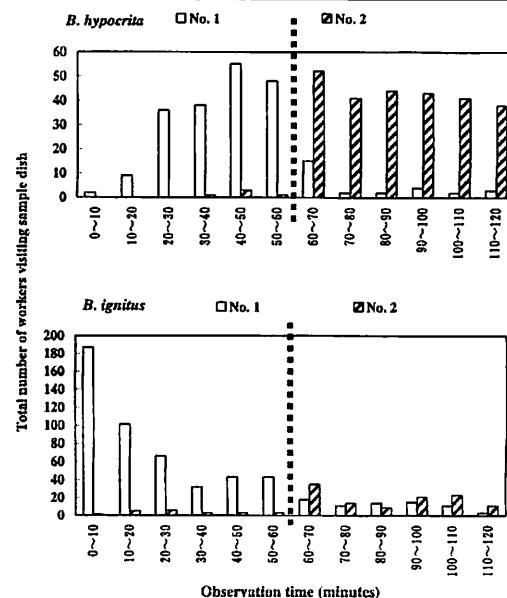


Fig. 60. Preferences for real pollen and yellow-stained sawdust during choice experiments on pollen foraging in two species of bumblebees

Sample dish	Observation time (minutes)	
	0~60	60~120
No. 1 Water-washed pollen	~180	~20
No. 2 Sawdust	~10	~20

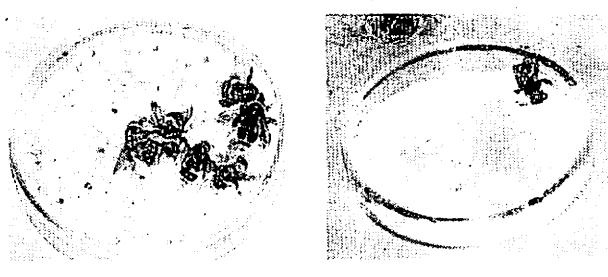


Fig. 61. Foraging workers on sample dishes

集まる傾向が見られた(Fig.60)。なお、他の実験ではオオマルハナバチを供試したが、本実験では、オオマルハナバチのほかにクロマルハナバチも供試し、同様の傾向を認めた。オガクズの設置場所では、空のシャーレの採餌場所と異なり、働き蜂が着地し、花粉ダンゴを形成する際と同様の行動で、オガクズのダンゴを形成しようとする行動が見られた(Fig.61)。

(2) 花粉に含まれる揮発性物質が採餌行動に及ぼす影響

水抽出後の花粉ダンゴ粉末を、さらにヘキサン抽出した残さ(RP)と水抽出だけの試料との選択試験では、オオマルハナバチで水抽出花粉に働き蜂が集まる傾向が見られた。ただし、1時間後の入れ替え以降は、他の試験と異なりRPでも採餌行動が見られた(Fig.62)。

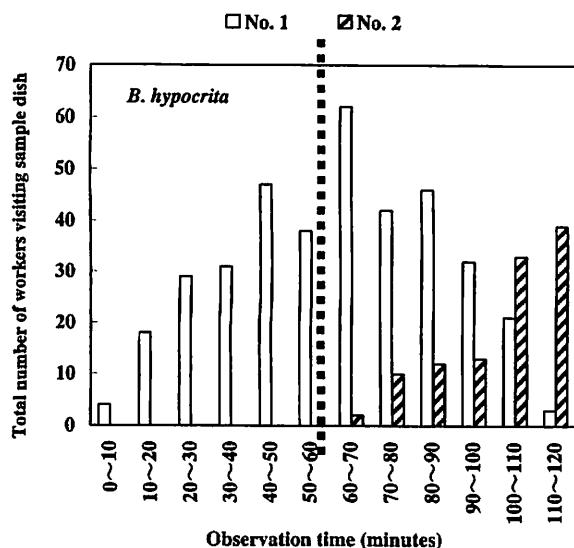


Fig. 62. Effect of hexane extract of pollen (RP) on foraging activity of bumblebee workers in two choice experiment

Sample dish	Observation time (minutes)	
	0~60	60~120
No. 1	Water-washed pollen	RP
No. 2	RP <sup>1</sup>	Water-washed pollen

\*1: See Fig. 57.

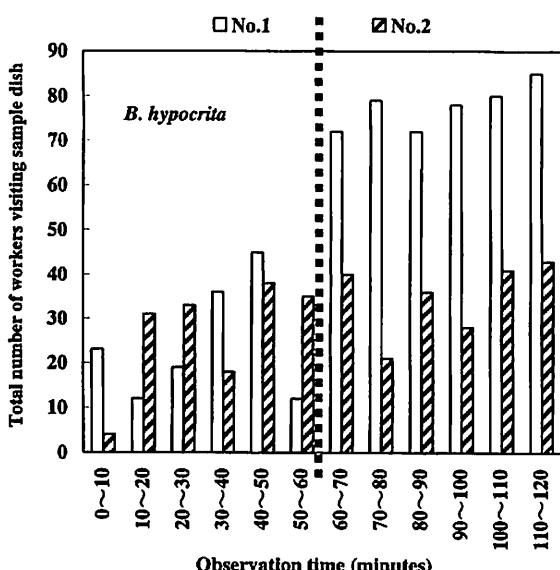


Fig. 63. Effect of RP and HE fractions of pollen on foraging activity of bumblebee workers

Sample dish	Observation time (minutes)	
	0~60	60~120
No. 1	RP <sup>1</sup> +HE <sup>1</sup>	Water-washed pollen
No. 2	Water-washed pollen	RP+HE

\*1 See Fig. 57; RP 3 g + HE 0.6 ml

ヘキサン抽出済み花粉(RP)にヘキサン抽出物(HE)を再添加し、水抽出花粉と選択させた試験では、2か所の採餌場所に集まる働き蜂数に大きな差は見られなかつた(Fig.63)。さらに、HEをろ紙に付けて、ヘキサンを揮発させた試料とヘキサンのみをろ紙に付け、HEとほぼ同色になるように着色したろ紙試料との選択試験では、採餌働き蜂数は少ないものの、HEを選択する傾向が見られた(Fig.64)。このとき、採餌働き蜂は、シャーレ内のろ紙上に着地し、花粉をかき集める行動を示すものの、すぐに飛び立ち、繰り返しシャーレに来る行動は、他の試料に比べほとんど見られなかつた。

Y字管を用いた選択試験では、水洗浄済み花粉と対照の選択では、オオマルハナバチの働き蜂が有意に花粉側を選択した。一方、RPと対照との選択では、両者の選択回数に有意差は認められなかつた(Table 36, 37)。

### 考 察

採餌場所(花)から花粉がなくなったことを想定したシミュレーション試験では、花粉を除去してから最初の10分間だけ、働き蜂がその場所で探索する傾向が見られた。試験を行った室内は、空調機によってフィルターを通した外気を取り入れながら、一方では吸気しているため、採餌場所は巣からみると風下になることから、採餌場所に花粉の匂いは滞留しにくいと考えられる。したがって、花粉のない採餌場所に働き蜂が探索に来る現象は、そ

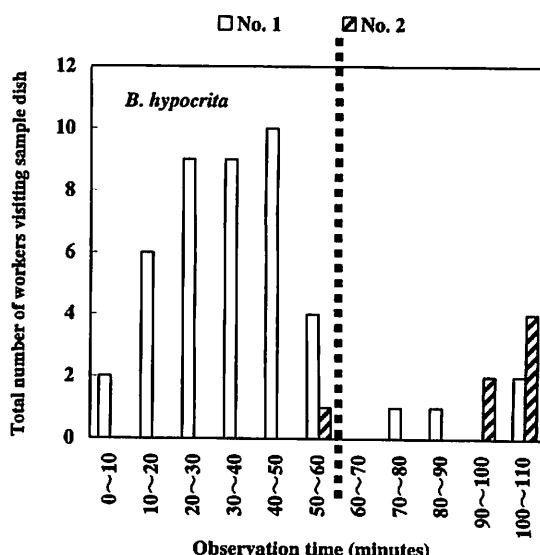


Fig. 64. Effect of HE fraction of pollen on attraction of bumblebee workers

Sample dish	Observation time (minutes)	
	0~60	60~120
No. 1	HE <sup>1</sup>	Control
No. 2	Control	HE

\*1 See Fig. 57.

HE: 3 ml of HE fraction on filter paper  
Control: 3 ml of n-hexane on filter paper

Table 36. Effect of pollen scent on attraction of *B. hypocrita* workers

	<i>n</i>	Number of correct choices $\pm$ SD	
Water-washed pollen control <sup>1</sup>	23	9.1 a <sup>2</sup>	$\pm$ 8.0
	23	4.9 b	$\pm$ 4.5

<sup>1</sup>No sample<sup>2</sup>Means followed by a different letter in the same column are significantly different ( $p<0.01$ ) by students t-test.Table 37. Effect of pollen scent on attraction of *B. hypocrita* workers

	<i>n</i>	Number of correct choices $\pm$ SD	
RP <sup>1</sup>	7	0.4 a <sup>2</sup>	$\pm$ 0.7
Control <sup>3</sup>	7	1.2 a	$\pm$ 1.3

<sup>1</sup>See Fig. 57.<sup>2</sup>Means followed by a different letter in the same column are significantly different ( $p<0.01$ ) by students t-test.<sup>3</sup>No sample

こで採餌行動を行った働き蜂が、場所を学習し、花粉がなくてもその場所に行って、花粉が得られないことを確認した後に、次の採餌場所探索に切り替えたと考えられる。*B. ternarius*, *B. terricola*を人工花に通わせるシミュレーション実験では、青い花に通わせながら、より多くの花蜜を入れた白い花を設置し、白い花を青い花が咲き終わつたあとの候補として設置しても、青に花蜜がある限り、白に切り替わることはなかった。これらから、*B. ternarius*, *B. terricola*では、花から得られる花蜜がある限り、その条件にそって恒常的な訪花行動をとることが示された(Heinrich *et al.* 1977)。これらは花蜜を訪花対象にした実験であるが、本結果とあわせて考えると、採餌場所の花粉の残量ではなく、花粉の有無のみを判別し学習することが可能と考えられた。

さらに、訪餌試験では花粉の揮発性物質(HE)だけでも働き蜂を誘引する効果があることが示されたが、集まつた働き蜂数は花粉を置いた場合よりも少なかつた。なお、本試験は可視光下でほぼ同色と判断された試料での選択試験であり、紫外光の影響は調査していない。しかしながら、Y字管を用いた選択試験でも、花粉の揮発性物質が働き蜂を誘引する効果をもつことが示唆されていることから、HEにはオオマルハナバチの働き蜂を誘引する効果があると考えられた。RPと水抽出の花粉では、水抽出の花粉に働き蜂が集まつた。ただし、この2つの試料の場所を入れかえると、他の選択試験とは異なり、両方の採餌場所に働き蜂が集まつた。試験開始当初は、揮発性物質を指標に働き蜂が集まり、その後その場所にから揮発性物質が無くても、花粉の採集を継続していたことになる。また、新たに揮発性物質を発する花粉が置かれた場所には、その時点で働き蜂が誘引されたことを示していると考えられる。花粉をオガクズに置き換えた試験でも、同様の傾向が示されている。これらの実験の条件を

前提に考えると、働き蜂は花粉からの揮発性物質を指標にして、花粉に到達し、一度その場所を学習する。その後、その場所から揮発性物質が出ていなくても、花粉があれば採餌行動は繰り返されることを示していると考えられる。また、揮発性物質だけでは、誘引できるものの、働き蜂の訪花頻度を上げるために採集すべき花粉が必要であることも示された。

*B. vagans* の働き蜂は、花から得られる花蜜の量を認識して訪花対象を選択しており、さらに、主たる訪花植物に行きながら、次の対象を探索する機能をもつと考えられている(Heinrich 1979<sup>b</sup>)。本試験では、採餌場所に豊富に花粉を入れていた点、1時間という短い時間で急に花粉をなくした点、およびビデオ観察のため、採餌場所以外の空間での働き蜂の行動は記録できなかつたことの3点から、主訪花対象に訪花しながら、次の候補を探す行動は確認できなかつた。ただし、採餌対象が花粉であつても、学習した採餌場所から得られなくなつたことを、働き蜂が認識した時点で、すみやかに次の採餌場所を探索する行動は確認できた。ただし、本研究では、それぞれの働き蜂の体の大きさについては、知見が得られなかつた。セイヨウオオマルハナバチでは、大型の採餌働き蜂が小型の採餌働き蜂よりも訪花頻度が高く、蜜源からより多くの花蜜を集めてこられるのは、大型の採餌働き蜂であることが示されている(Spaethe and Weidenmüller 2002)。オオマルハナバチとクロマルハナバチでも働き蜂の体の大きさのバラツキは大きく、今後これらの体サイズと花粉採餌行動との関係を追求すべきである。特に Heinrich(1979<sup>b</sup>)が提唱している「最適な訪花対象を探索しながら、主目的の訪花対象からの採餌行動を繰り返し行う」マルハナバチ特有の採餌行動に関連した個々の働き蜂の学習能力と体のサイズの関係について、明らかにする必要がある。

花粉とセルロースを混入させた花粉をセイヨウミツバチに選択させると、働き蜂は、セルロースが混入された花粉にも行くが、総採餌蜂数をみると、混入していない花粉の方に働き蜂が多く集まっている(Waddington 1997)。本研究でも、オガクズを用いた試験では同様の傾向が見られたことから、花粉についても、採餌場所の餌の状態を認識しながら、訪花行動を行っていることが示唆された。施設トマトで、マルハナバチをポリネーションに用いる時は、花蜜は巣箱内で供給され、花蜜を分泌しないトマトから、マルハナバチは花粉を得ている。施設内で開花し

ているトマトから花粉が得られなくたった時点で、マルハナバチは次の訪花対象を探索すると考えられる。大玉系のトマトは、6から8節ごとに花房を形成し、5から8程度の花を順次開花させることから、施設面積と、導入したコロニーサイズの関係が適当であれば、訪花行動は、繰り返される。しかし、トマトでは低温の他、35℃以上の高温や寡日照により開花しても花粉生成数が低下する現象がみられ(Picken 1984)、このような場合には、開花しながら、マルハナバチはトマトに訪花しなくなる可能性があることが示された。

## 総合考察

### (1) オオマルハナバチとクロマルハナバチのコロニー発達における生態的特性と大量増殖システムへの展開

国内での施設トマトでは、冬期に受粉を必要とする作物も多く、マルハナバチの需要は野外との生活史からずれてくる。また野外のマルハナバチのコロニーを採集して施設に導入するのでは、年間58,000コロニーの需要 (Mitsuhata *et al.* 2002) に応じることはできない。そのためにも、日本在来種マルハナバチの周年供給を実現させる必要があるが、このような昆虫の室内大量増殖システムの確立された産業に、養蚕があげられる。そこでは徹底した病害虫管理のもとで、行政や養蚕農家が一体となって稚蚕管理から繭生産までを行っている。特に、病害虫についての知見は豊富であり、生産現場でもその管理、防除方法に応用されている(矢澤 1998)。一方、マルハナバチに寄生する生物は、ウイルス、バクテリア、カビ、微胞子虫、センチュウ、ダニ、寄生ハエ、ハチなど多岐にわたるが、それらの生態には、まだ不明な点が多い (Macfarlane *et al.* 1995, de Ruijter 1997, Schmid-Hempel 1998)。国内では、岩手県、山形県、宮城県で採集したオオマルハナバチ、トラマルハナバチ、ヒメマルハナバチ、クロマルハナバチの働き蜂、雄蜂から、9から33%の割合での寄生性のハエ (Conopidae) が確認されている (Maeta and Macfarlane 1993)。また、Goka *et al.* (2002) は、輸入されているセイヨウオオマルハナバチのコロニーに、日本に生息しているマルハナバチポリプダニと同じ遺伝子をもつダニを検出し、日本および欧州に生息するマルハナバチポリプダニ間に遺伝配列の違いがあること、およびマルハナバチの人為的な移動によってマルハナバチポリプダニも移動していることを確認している。本研究でも、オオマルハナバチ、クロマルハナバチの他に、コマルハナバチ、トラマルハナバチでPoinar and Van der Laan (1972) が報告している *Sphaerularia bombi* と見られるセンチュウを確認している。しかし、国内でのマルハナバチに関する天敵類の知見は少なく、今後飼育システムを構築する中で多きな障害になることが予想される。

特に、飼育中に野外から持ち込まれて感染する、もしくは女王蜂に寄生し、それがコロニー内に広がりコロニーの成長に悪影響を及ぼす可能性がある天敵として、前者では寄生ハエ、ハチ、後者では微胞子虫類があげられる。

寄生蜂では、*Melittobia acastaga* がコロニーの成長に

及ぼす影響が大きいと考えられている。野外では、春に寄生が始まるものの、77%は晩夏から寄生されている (Macfarlane and Griffin 1994)。しかし、増殖室内では常時、寄生することが可能であり、特に初期営巣期の寄生は、コロニーの形成に大きな悪影響を及ぼすと考えられる。

増殖時にマルハナバチに寄生する微胞子虫には、*Nosema bombi* (McIvor and Malone 1995), *Apicystis bombi* (Lipa and Triggiani 1996), *Mattesia bombi* (Liu *et al.* 1974), *Critchidia bombi* (Lipa and Triggiani 1980) が報告されており、特に *Nosema bombi* は、マルピーギ管で増殖し幼虫の成長を阻害することで、コロニーの成長を著しく阻害する場合がある (McIvor and Malone 1995)。本研究の中で、丹羽ら (1998) が報告した *Nosema bombi* と思われる微胞子虫に感染したセイヨウオオマルハナバチと、同じ場所で飼育していたクロマルハナバチからも同様の微胞子虫を検出した。この時、働き蜂の頭部、胸部筋肉、腹部のいずれの器官からも胞子が検出され、働き蜂は羽化前に、または羽化後数日間の間で死亡し、コロニーの成長は著しく阻害された。このように、創設女王蜂からコロニー内の働き蜂に垂直感染するだけでなく、飼育室内の他のコロニーにも伝播する可能性のある天敵類は、大量増殖の大きな妨げとなり、その防除方法が求められる。*Nosema apis* では、fumagillinで防除効果が認められている (Webster 1994)。セイヨウオオマルハナバチでも女王蜂の単独期にfumagillinを投与することで、防除することができるとされており (McIvor and Malone 1995)、この方法も飼育システムに入れる必要がある。

本研究でも、低温処理時および処理後の覚醒、飼育時に死亡した女王蜂の腸内には、多数の細菌類が見られ、しばしば中腸の黒化、菌糸による体内組織の硬化といった症状が見られ、低温処理時までの影響で弱ってきた女王蜂は、これらの病害の影響を受けていることが考えられる。セイヨウオオマルハナバチでは、コロニーの形成過程で女王蜂の状態がSPのタイミングに影響することが知られている (Duchateau 1991)。飼育における病虫害対策を怠れば、これから有用な形質をもつ日本在来種のマルハナバチを選択、増殖していく過程において、病虫害の影響によって、本来の形質を正しく評価できなくなることも考えられる。養蚕業では、これらの病害対策に施設・器具類の消毒や蚕体消毒、プライマーを利用したウイルス検出などの防除技術が確立しており (矢澤 1998)、マルハナバチの増殖系でもそのような対策は急務であろう。

本研究では、オオマルハナバチおよびクロマルハナバチの継代飼育方法を確立したが、今後商品として流通させるまでには、増殖率の向上と飼育方法の簡素化によるシステム構築を行う必要がある。最適な飼育環境条件および、劣勢群の選抜方法については、ほぼ手法が確立したと考えられるが、実験室レベルの飼育方法から企業生産への転換時に各作業の簡素化が必要になろう。増殖率の向上には、新女王蜂の生産数を増加させること、およびそれらの女王蜂の生存率を上げることが重要である。新女王蜂の生産方法では、女王蜂から隔離した複数の働き蜂を、受精卵の産卵されているコロニーに入れることで、より生産効率があがることが報告されている(ドウ ルエイテル・ファン デン エインデ 1999)。ただし、そのようにして生産された女王蜂の生存率については言及されていない。コマルハナバチでは、女王蜂の形態をしていても行動が働き蜂の疑女王蜂(workerlike queen)がいることが報告されている。この疑女王蜂は、体の大きさは新女王蜂と差が見られないものの、働き蜂と同様の行動を示し、脂肪体は新女王蜂のように発達しない(Katayama 1988)。したがって、これらの疑女王蜂は、外見上は新女王蜂と差が無いものの、越冬はできず、女王蜂のような行動を示すことができないと考えられる。女王蜂と働き蜂のカスト分化は、雌の二型現象としてとらえられており(Smith 1959)，セイヨウミツバチの場合、女王蜂と働き蜂は、孵化後3.5日以内にどちらの形質に成長するかが決定される(Zander and Becker 1925)。また、女王蜂は働き蜂よりも体重が重く、その増加も早い(Wang 1965)。さらに、蛹の期間も働き蜂よりも短くなる(Jay 1963)。また、卵巣小管や受精囊の形態など、形態的に大きな相違点が多く(坂上1970)，マルハナバチと大きく異なる。また、マルハナバチの場合、働き蜂と女王蜂間の形態的な差は、多くの種の場合、体の大きさ程度であり、セイヨウミツバチのように明確ではない。つまり、セイヨウミツバチでは、個体性喪失といったそれぞれのカスト別のラインにそって分化、成長しているのに対して、マルハナバチでは働き蜂、女王蜂が同じラインで成長し、その同一のライン上で女王蜂、働き蜂に分化していることが考えられる。ただし、この場合、働き蜂には体のサイズについて、個体間差が大きいものの、女王蜂カストの体のサイズでの個体間差は少ない。しかし、生理的な状態では、女王蜂カスト内での個体間差があると考えられる。本研究でも、オオマルハナバチとクロマルハナバチの交尾処理中にケージ内で蜜ツボを作るなどの営巣行動を示す個体も存在した。疑女王蜂は、外見から判断できない

ため、新女王蜂生産数として計測されるが、これらは生理的には女王蜂としての形質をもっていないことから、増殖率を向上させるためには、新女王蜂の生産数を増加させることとあわせて、コロニーでの疑女王蜂の存在程度および飼育条件が疑女王蜂生産割合に及ぼす影響などを明らかにする必要がある。

オオマルハナバチとクロマルハナバチのコロニー形成過程の観察から、両種の違いや、それぞれの生態的な特性が明らかになってきた。SPは、これらの種類の場合、単独営巣期から産卵2期の働き蜂が羽化し始める頃に起こっている。コロニー内の女王蜂と働き蜂の関係がSPに影響するよりも、創設女王蜂自身がSPのタイミングを決めている、もしくはあらかじめ個々の女王蜂にプログラムされているというDuchateau and Velthuis(1988)およびDuchateau(1991)の説が、オオマルハナバチ、クロマルハナバチにも当てはまると考えられる。マルハナバチのコロニーの成長は、創設女王蜂のもつ受精卵産卵期間のプログラムが基本になり、それにQPおよび競合期がどの時点で起こるかによって、コロニーの成長形態は大きく変わる。もちろん野外では、餌資源の有無や、天候などの影響および働き蜂の巣外での死亡などの要因もかさなる。基本的な創設女王蜂のプログラムにそってコロニーの成長が進んでいくが、餌資源の枯渢、天候不順による単独営巣期の創設女王蜂への負荷の増大などによって、そのプログラムは変化する(Duchateau 1991)。しかし、セイヨウオオマルハナバチの働き蜂は、創設女王蜂のいる中でも卵巣が発達する。この特徴は室内飼育下では競合行動の原因とも見られ、創設女王蜂が営巣期途中で死亡する要因のひとつにもなっているが、野外では、いつ創設女王蜂が死亡しても、その後は働き蜂産卵による雄蜂生産といった方法で自らの遺伝子を残すことができる能力とも考えられる。実際、Owen and Plowright(1982)は、*B. melanopygus*の雄の2型を用いて、生産された雄蜂が女王蜂産卵か働き蜂産卵に由来するものかについて調べ、正常なコロニーでは19%の雄が働き蜂によるものであり、さらに女王蜂が死亡したコロニーでは39%が働き蜂由来としている。また、女王蜂の状態は、働き蜂生産数には強く関与するものの、生殖虫生産については、働き蜂の方が女王蜂よりも関係が強いと報告している。以上の生態的な特徴をつかむことは、大量増殖時のシステム化を考える上で重要な基礎データとなる。ただし、これらの知見は複数のマルハナバチの種ごとに得られたものであり、最終的には目的とした日本在来種の生態的な特徴を明らかにする必要がある。一例として、セイ

ヨウオオマルハナバチと*B. impatiens*の比較では、コロニーサイズの違いの他に、競合行動時にセイヨウオオマルハナバチ働き蜂の卵巣が発達するのに対して、*B. impatiens*では、創設女王蜂がいる条件下では卵巣小管中に成熟卵が見られない点、セイヨウオオマルハナバチが1回交尾なのに対して、*B. impatiens*で多回交尾の可能性が高いといった種間差が示されている(Cnaani *et al.* 2002)。本研究では、オオマルハナバチとクロマルハナバチについて、それぞれのコロニーが、SP, QP、競合のタイミングによってコロニーの形成過程が大きく異なることを明らかにした。これらのタイミングを指標とすることで、利用可能な種の選択、地域個体群間の比較、系統選抜や販売用コロニーの選択が可能となると考えられる。

## (2) 日本在来種マルハナバチの利用の意義

施設トマト栽培において、マルハナバチをポリネーションに利用する技術は、着果作業の省力化と収量の増加からその利用効果は高い。受粉によって着果させる必要があることから、ホルモン剤処理よりも花の状態を、より観察する必要があるが、マルハナバチの訪花行動や、バイトマーク、着果程度を観察することで、花の状態も推測することができる。神奈川県農業総合研究所では、本研究で必要とされた栽培条件に基づき、さらに病害虫防除を天敵昆虫や熱水土壌消毒に、施肥を有機質肥料にした環境保全型栽培体系と従来のホルモン剤処理、慣行防除施肥による栽培体系との比較を行っている。その結果、着果作業時間で91%、消費エネルギー量で88から89%を減少させただけでなく、収益性も向上させ、環境保全型栽培体系の方が、従来の栽培方法よりも経費がかかるものの可販果割合の増加から、経営的な観点から見ても有利であることを実証した(岡本ら 2002)。これらのことから、施設トマト生産者にとって、セイヨウオオマルハナバチは、栽培体系の中から外すことのできない、重要な生産資材のひとつとなっている。

しかし、一方ではセイヨウオオマルハナバチの日本の生態系に侵入、定着が懸念されており(加藤 1993, Ono 1997, 鷺谷 1998)、この問題にも早急な対応が必要である。日本では、サクラソウの異型花柱性をモデルにしてポリネーターの重要性について研究が行われている。ポリネーターの活動が不十分であることを想定したシミュレーションでは、数から十数世代後には、サクラソウの異型花柱性が崩壊し、現在ではごく低い頻度でしか存在しない等花柱花のクローンで個体群が形成されることを示唆している(鷺谷 1992)。現在、サクラソウのポリネーターの研究が行われており、北海道ではエゾトラマルハ

ナバチが、重要なポリネーターになっていることがわかつてきた。この地域の近隣では、施設から拡散したセイヨウオオマルハナバチの野生状態のコロニーが発見されており、エゾトラマルハナバチとの競合が懸念されている。これらのことは、セイヨウオオマルハナバチの拡散が、在来種マルハナバチの個体群に悪影響を及ぼすことが、その地域の植物相を変えてしまう恐れがあることを示している。そこで、サクラソウの保全のためには、そのポリネーターも含めた保全が必要である。Williams(1986)は、1960年の前後のイギリスでのマルハナバチの分布の比較を行い、マルハナバチの保全における餌資源や営巣場所、越冬場所などの環境変化の重要性を報告している。営巣場所、越冬場所については、現状マルハナバチが生息している場所であれば、その地域全体を保全していくことで、目的は達成されるが、部分的に生態系を変える必要性が生じた場合、マルハナバチの営巣場所、越冬場所がどこにあり、どのような場所がそれに適しているのかを元に必要な場所を保全する必要がある。カナダでは Hobbs(1967)が、21種のマルハナバチの野外での生態を報告しており、それぞれの種類で越冬場所として好む場所、初期営巣に選ばれる環境などを挙げている。他のポリネーターの保全でも同様のことであるが、日本在来種マルハナバチがどのような環境条件で越冬しているかについては知見が極めて乏しい。また、コロニーの成長過程に関する情報が不十分であれば、気象条件の影響がマルハナバチの営巣に対してどのような影響を及ぼすかも推測できない。本研究では、セイヨウオオマルハナバチに置き替えるため、在来種の大量飼育技術の開発を目指し、それらの生態的な研究を行った。これらの知見は、野外条件でのマルハナバチの生態研究を行う上でも有効な情報になると思われる。

マメコバチによるリンゴでのポリネーションは、日本在来種のハナバチをリンゴ栽培に有効に利用しながら、それらの個体群も維持するといった点では、生態学的観点および農業技術の観点の両面いずれから見ても優れた技術である。しかし、一方でマメコバチは、1977年にアメリカ合衆国に、低木果樹用のポリネーターとして導入されており(Free 1993)、この場合は、外来種としてセイヨウオオマルハナバチ同様に、その管理が求められる。経済成長が著しいアジア圏の農業を考える上で、より集約的で土地生産性の高い施設園芸は拡大する方向にある。各国、地域間で施設園芸の技術力に差があるものの、従来の栽培する植物のための研究開発から、施設園芸技術そのものを環境保全型および省力化する方向に研究

課題を展開する必要があり、その中でポリネーターの研究は重要な意味を持つ(伊東 2002)。セイヨウミツバチを中心とした*Apis*属の管理とその利用が中心になると考えられるが、さらに花粉をセイヨウミツバチに採集させ、その花粉を集めて保存利用する手法も、今後広域でのポリネーションを考える中では重要であろう(佐々木 1995)。

農業生産の現場でのポリネーター研究は、ハナバチを中心としたポリネーターの管理、および新たな生物資源となるポリネーターの探索よりも、すでに実用化されているポリネーターを自分たちの研究分野に直接応用する研究例が多い。しかし、いずれの地域でも、すでにポリネーターとして管理している種以外にも、多くのハナバチを中心としたポリネーターが生息している。Cane (1997)は、特に地中営巣性のハナバチに注目し、これらのハナバチの個体群を野生状態のまま管理し、農業に生かすことを試みている。約2万種のハナバチのうち80%は単独性種であり(Michener 1974), Cane (1997)で示されている野生ハナバチも容易に思える。しかし、前田(1981, 1993)は、30数種の野生ハナバチの飼育に成功しても、これらを野外に放置すると消滅する場合が多いとし、その原因を営巣場所や周囲の環境の微環境、微気象としている。つまり、農業利用から見た野生ハナバチの研究が少ないため、新たな野生ハナバチの飼育が可能になつても、その種の生態的な知見が乏しいことから、農業利用までの応用研究が展開にくくなっている。本研究では、セイヨウオオマルハナバチが施設のトマト栽培での有効なポリネーターであるという事実から、その資材を日本の施設園芸に導入するのではなく、利用する昆虫の検索から始め、その開発のための知見を得た。施設トマトのポリネーターとして日本在来種の利用を考え、その増殖、飼育方法、コロニーの成長、施設トマトのポリネーションについて論じてきた。残された問題として、在来種の地域個体群のさらなる解析、および各地域での利用を想定した小中規模での大量増殖システムの構築があげられ、これらのテーマが今後の在来種ポリネーター利用を実用化させるまでに解決すべき課題であろう。

## 摘要

施設トマト栽培におけるポリネーター利用技術を生かしながら、外来種であるセイヨウオオマルハナバチに替わるポリネーターを創出するため、日本在来種のマルハナバチ類の研究開発を行った。

1. オオマルハナバチとクロマルハナバチの室内周年飼育技術を開発した。野外では繁殖期に生産された女王蜂は、巣外で交尾した後に土中や朽木などにもぐり込み越冬する。これに代わる4か月間の低温処理時に、女王蜂を保持する代用土壤の水分率と女王蜂の生存率の関係を調べたところ、オオマルハナバチは乾燥したもの、クロマルハナバチは50%程度の水分率のものが、低温処理中に高い生存率を示すことがわかった。また、低温処理開始時には、直接室温から低温室に女王蜂を移しても生存率に影響は見られないが、低温から室温に戻すときには、5°C→10°C→25°Cといった段階処理をする必要があることが明らかとなった。また、オオマルハナバチでは羽化後の日齢が10日以上を経過した女王蜂では生存率が低い傾向にあった。
2. 室内飼育下でのオオマルハナバチおよびクロマルハナバチのコロニー当たりの働き蜂、新女王蜂の生産数は、飼育を開始してから第1卵室を形成するまでの営巣準備日数、および第1卵室を形成してから、第1蜂児が羽化するまでの日数と、負の相関関係にあり、これらが室内飼育下での劣勢群の早期検出指標になることを明らかにした。
3. マルハナバチ室内周年増殖技術の開発のために、コロニーの成長を解析し、オオマルハナバチ、クロマルハナバチについての基本的なコロニーの成長パターンを明らかにした。女王蜂の産卵には4期に大別できるパターンがあることがわかった。
4. オオマルハナバチとクロマルハナバチのコロニーの成長パターンについて比較を行った。働き蜂を生産するための受精卵産卵期間は、オオマルハナバチが、クロマルハナバチよりも10から12日有意に短かった。コロニー当たりの働き蜂生産数も、オオマルハナバチではクロマルハナバチよりも平均で62.2頭少なく、この差は産卵3期での受精卵を産卵している日数の違いに起因していることが明らかとなった。新女王蜂生産期では、オオマルハナバチが、営巣の様々な段階で見られ、コロニー間差が大きかったのに対し、クロマルハナバチでは、営巣後期に新女王蜂生産が行われる傾向が強いことが明らかになった。さらに、オオマルハナバチでは2地域個体群間で受精卵産卵期間および女王蜂生産時期に違いがある傾向が見られた。

5. オオマルハナバチ, クロマルハナバチとともに室内飼育条件下では働き蜂は女王蜂がいても羽化後の日数の経過とともに, アラタ体, 卵巣が発達する傾向がみられた. 老齢の働き蜂が女王蜂および他の働き蜂との競合行動を示す傾向があり, 競合期に入るとコロニー内で羽化後の日齢が若い働き蜂の死亡数が急増した.
6. オオマルハナバチ, クロマルハナバチ, コマルハナバチ, トラマルハナバチは, いずれもトマトに訪花し, セイヨウオオマルハナバチと同様の訪花行動をとることが確認された. また, 着果率, 1果実当たりの種子数, 空洞果の発生程度については, 4種の在来種およびセイヨウオオマルハナバチ間で差が認められず, 日本在来種とセイヨウオオマルハナバチとではポリネーションの効果に差がないものとされた.
7. 異なる栽培温度条件下でのトマトの花粉の活性および生成量を調査し, 施設内の温度管理がトマトの花に及ぼす影響について明らかにした. マルハナバチが振動採粉行動をしている事実に基づき, バイブレーターで振動させることで得たトマトの花粉について, その活性と量を測定した. その結果, 夜温の低下は花粉の活性には影響を及ぼさないが, 花粉生成量に大きな負の影響を及ぼすことが明らかとなった.
8. オオマルハナバチとクロマルハナバチの花粉採餌行動を室内実験でシミュレートし, 施設トマト栽培で花粉生成量が大きく減少した時の採餌行動の変化を明らかにした. 設定した採餌場所から花粉が得られなくなると, いずれの種でも処理後10分以降には, 急速に採餌場所に集まる働き蜂数が減少した. また採餌場所に働き蜂が集まるには, 花粉の匂いが誘引物質として機能していることが示唆されたが, 連続した採餌行動を維持させるためには, 花粉が採集できる条件が必要であることがわかった. これらのことから, 施設内に開花しているトマトから花粉が得られなくたった時点で, マルハナバチは次の訪花対象を探索すると考えられた.

以上の知見から, 日本在来種のマルハナバチの周年飼育技術とコロニーの成長に関する生態的な特徴および施設トマトのポリネーターとしての実用性について考察した. 最後に, 日本在来種マルハナバチの企業的な大量生産に向け, 病害対策, 生態的な特性を応用した増殖技術などを提案するとともに, 日本在来種マルハナバチ相, およびそれらに受粉を依存している植物相の保全における, 日本在来種マルハナバチの研究とその実用化の意義について論じた.

## Summary

Bumblebees (*Bombus* spp.) have evolved buzz foraging, a unique pollen-collection behavior that makes them an important pollinator in natural ecosystems and a useful crop pollinator in agriculture. Since the first successful mass production of the European bumblebee (*Bombus terrestris*) in Belgium in 1987, commercially available bumblebee species have been used widely for crop pollination of greenhouse tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) and eggplants (*Solanum melongena*), neither of which produce nectar rewards for bees. Commercial packages of *B. terrestris* were imported into Japan for the first time in 1991. These imports save farmers labor, produce high-quality fruits, and reduce use of chemical pesticides. However, escape of these non-native bumblebees may harm the native biota. The possible ecological impacts are hybridization with native species, nest usurpation, spread of non-native parasites and diseases, etc. These are strong arguments favoring commercialization and use of Japanese native bumblebees for pollination instead of introduced *B. terrestris*.

I investigated year-round mass production of Japanese native bumblebees and evaluated their pollination efficiency of greenhouse tomatoes.

The results are as follows:

1. Laboratory reared queens of *B. hypocrita* and *B. ignitus* survived artificial hibernation induced by chilling at 5°C for 4 months. *B. hypocrita* queens preferred dry vermiculite in place of soil, while *B. ignitus* queens preferred wet vermiculite or peat moss at 50%–55% moisture content. After chilling, stepped temperature increases of 10°C in 6 h resulted in higher survival rates for both species of queens. *B. hypocrita* queens younger than 10-days old gave better nesting results than older queens.
2. Worker and new-queen productivity of laboratory reared *B. hypocrita* and *B. ignitus* are influenced by delays in oviposition and first worker emergence. In *B. hypocrita*, colonies with oviposition delays of 20 or less days produced significantly more female castes than colonies with oviposition delays of 21 or more days. In *B. ignitus*, colonies with oviposition delays of 10 or less days produced significantly more female castes than colonies with oviposition delays of 11 or more days. In both species, colonies with long delays in first worker emergence produced fewer female castes than normal colonies in which first worker emergence occurred at 28 or less days. These two parameters permit early identification of normal colonies for commercial mass production.
3. Colony development in *B. hypocrita* and *B. ignitus* has four oviposition phases as already described in *B. terrestris*.
4. Worker productivity of *B. ignitus* is higher than that of *B. hypocrita*. The duration of fertilized-egg oviposition (DFO) in *B. ignitus* is  $47.5 \pm 5.3$  days, about 10 days longer than in *B. hypocrita* ( $36.6 \pm 4.7$  days). The foundress *B. hypocrita* queen produces progeny queens from fertilized eggs in Phase 2. However, progeny-queen production occurred only after Phase 3 in *B. ignitus*, suggesting that *B. hypocrita* has flexible production of the reproductive caste. Two field populations of *B. hypocrita* were collected from Yamanashi Prefecture (P-Y) and Shizuoka Prefecture (P-S) but no differences in DFO were detected. However, there was a significant difference in the DFO of the F<sub>1</sub> generations of laboratory-reared populations. The DFO (F<sub>1</sub>) of the P-S progeny was significantly shorter than that of the P-Y progeny. The P-S colonies tended to produce progeny queens earlier than the P-Y colonies.
5. The ovary and corpora allata (CA) of older workers of *B. hypocrita* and *B. ignitus* developed even when the foundress queen was present in the colony. Competitive behavior between older workers and the foundress queen and younger workers resulted in higher mortality of younger workers during the competition phase.
6. Buzz foraging of greenhouse tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) by four species of Japanese native bumblebees was examined. There was no difference in the pollination efficiency between the native bumblebees and imported bumblebees (*B. terrestris*). The fruiting rate was high (84%–100%) and there were almost no puffy fruits (0%–7%).
7. Tomato flowering is largely influenced by air temperature and tomato flowers exposed to cold conditions produce less pollen than flowers exposed to warm conditions. However, temperature has no effect on pollen viability.

8. The foraging behavior of Japanese native bumblebees was observed using artificial feeding dishes. Workers continued visiting for about 10 minutes even after foraging dishes became empty, suggesting that memory plays a role. Although foraging workers were attracted by volatile substances from pollen, they did not continue foraging in the absence of pollen. Laboratory experiments suggest that bumblebees recognize the presence of tomato pollen in a greenhouse. When tomato plants have no pollen, foraging workers seemed to target other flowers.

Mass production of Japanese native bumblebees and their application in greenhouse pollination is discussed based on these findings.

## 引用文献

- Alford, D. V. 1969<sup>a</sup>. *Sphaerularia bombi* as a parasite of bumble bees in England. *J. Apicult. Res.* 8: 49-54.
- Alford, D. V. 1969<sup>b</sup>. Studies on the fat-body of adults bumble bees. *J. Apic. Res.* 8: 37-48.
- Alford, D. V. 1975. Bumblebees. Davies-Poynter, London. pp.352.
- 浅田真一. 1998. マルハナバチの農業への利用. 昆虫と自然 33:30-33.
- 浅田真一. 1999<sup>a</sup>. 施設トマトでのマルハナバチ利用とその今後. 施設園芸 9: 30-34.
- 浅田真一. 1999<sup>b</sup>. 日本産マルハナバチの施設トマトでの利用. 農耕と園芸 3: 104-107.
- Asada, S. and M. Ono. 1996. Crop pollination by Japanese bumblebees, *Bombus* spp. (Hymenoptera: Apidae): Tomato foraging behavior and pollination efficiency. *Appl. Entomol. Zool.* 31: 581-586.
- Asada, S. and M. Ono. 1997. Tomato pollination with Japanese native bumblebees (*Bombus* spp.). *Proc. 7th Int'l Symp. on Pollination, Acta Hort.* 437: 289-292.
- 浅田真一・鈴木誠・奥村一・矢吹駿一・小野正人. 1999. 日本産マルハナバチの室内飼育に関する研究. 第1報 オオマルハナバチ女王蜂の低温処理による室内継代飼育. 神奈川農総研研究報告 139: 7-12.
- Asada, S. and M. Ono. 2000. Difference in colony development of two Japanese bumblebees, *Bombus hypocrita* and *B. ignitus* (Hymenoptera: Apidae). *Appl. Entomol. Zool.* 35: 597-604.
- 浅田真一・北 宜裕. 2001. 農業技術から見たポリネーションの応用研究. 施設トマトでのマルハナバチの利用. 日本花粉学会誌. 47: 63-73.
- 浅田真一・小野正人. 2002. オオマルハナバチとクロマーハナバチの実用化に向けた室内飼育技術の効率化. 劣勢なコロニーの早期検出法について. 応動昆. 46: 73-80.
- 天野和宏・S. Boongird. 1997. ハリナシバチの一種 *Trigona fuscobalteata* の閉鎖環境下における飼養事例. 北日本病虫研報. 48: 210-212.
- Banda, H. J. and R. J. Paxton. 1991. Pollination of greenhouse tomatoes by bees. *Proc. 6th Int'l Symp. on Pollination, Acta Hort.* 288: 194-198.
- Butler, C. G. 1954. The world of the honeybee. Collins. London. pp.226.
- Cane, J. H. 1997. Ground-nesting bees: The neglected pollinator resource for agriculture. *Proc. 7th Int'l Symp. on Pollination, Acta Hort.* 437: 309-2323.
- Cane, J. H., G. C. Eickwort, F. R. Wesley and J. Speilholz. 1985. Pollination ecology of *Vaccinium stamineum* (Ericaceae: Vaccinioideae). *Am. J. Bot.* 72: 135-142.
- Cnaani, J., D. W. Borst, Z. Y. Huang, G. E. Robinson, and A. Hefetz. 1997. Caste determination in *Bombus terrestris*: Differences in development and rates of JH biosynthesis between queen and worker larvae. *J. Insect Physiol.* 43: 373-381.
- Cnaani, J., W. R. Tschinkel, S. B. Vinson. 2002. Colony development, larval development and worker reproduction in *Bombus impatiens* Cresson. *Insects Soc.* 49: 164-170.
- Corbet, S. A., H. Chapman, and N. Saville. 1988. Vibrator pollen collection and flower form: bumblebee on *Actinidia*, *Sympytum*, *Borago* and *Polygonatum*. *Funct. Ecol.* 2: 147-155.
- Cumber, R. A. 1949. The biology of humble-bees, with special reference to the production of the worker caste. *Trans. Roy. Ent. Soc. Lond.* 100: 1-45.
- Dempsey, W. H. and J. E. Boynton. 1965. Effect of seed number on tomato fruit size and maturity. American society for horticultural science. 86: 575-581.
- De Ruijter, A. 1997. Commercial bumblebee rearing and its implications. *Proc. 7th Int'l Symp. on Pollination, Acta Hort.* 437: 261-269.
- ドウルエイテル アリー・ファン デン エインデ ヨハネス ヘンドリクス ペトロネラ マリア. 1999. マルハナバチの女王蜂の飼育方法およびマルハナバチの飼育方法. 公開特許公報(A). 特表平11-514211. 日本国特許庁.
- Duchateau, M. J. 1991. Regulation of colony development in bumblebees. *Proc. 6th Int'l Symp. on Pollination, Acta Hort.* 288: 139-143.
- Duchateau, M. J. and H. H. W. Velthuis. 1988. Development and reproductive strategies in *Bombus terrestris* colonies. *Behaviour* 107: 186-207.
- Duchateau, M. J. and H. H. W. Velthuis. 1989. Ovarian development and egg laying in workers of *Bombus terrestris*. *Entomol. Ex. Appl.* 51: 199.213.
- Estoup, A., M. Solignac, J. M. Cornuet, J. Goudet and A. Scholl. 1996. Genetic differentiation of continental and island populations of *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) in Europe. *Molecular Ecology* 5: 19-31.
- Free, J. B. 1993. *Insect Pollination of Crops*. Academic Press, London. pp. 684.
- 五箇公一・岡部貴美子・丹羽里美・米田昌浩. 2000. 輸入されたセイヨウオオマルハナバチのコロニーより検出された内部寄生性ダニとその感染状況. 応動昆. 44: 47-50
- Goka, K., Y. Yoneyama, K. Okabe, M. Yoneda, and S. Niwa. 2002. Ecological problems of bumblebee

- commercialization in Japan II - The genetic disturbance and parasite invasion. Proc. 14th Int'l Congress of IUSSI. p.148.
- Griffin, R. P., R. P. Macfarlane and H. J. van den Ende. 1991. Rearing and domestication of long tongued bumble bees in New Zealand. Proc. 6th Int'l Symp. on Pollination, Acta Hort. 288: 149-153.
- Gustafson, F. G. 1960. Influence of gibberellic acid on setting and development of fruits in tomato. Plant Physiology. 35: 521-532.
- Hannan, Md. A., Y. Maeta and K. Hosikawa. 1997. Colony development of two species of Japanese bumblebees *Bombus (Bombus) ignitus* and *Bombus (Bombus) hypocrita* reared under artificial conditions (Hymenoptera, Apidae). Jpn. J. Entomol. 65: 343-354.
- Heinrich, B. 1976. The foraging specializations of individual bumblebees. Ecol. Monogr. 46: 105-128.
- Heinrich, B. 1979<sup>a</sup>. Bumblebee economics. Harvard university press. Cambrigde, Massachusetts. pp245.
- Heinrich, B. 1979<sup>b</sup>. "Majoring" and "Minoring" by foraging bumblebees, *Bombus vagans*: an experimental analysis. Ecology. 60: 245-255.
- Heinrich, B., P.R. Mudge and P. G. Deringis. 1977. Laboratory analysis of flower constancy in foraging bumblebees: *Bombus ternarius* and *B. terricola*. Behav. Ecol. Sociobiol. 2: 247-265.
- Hobbs, G. A. 1967. Ecology of species of *Bombus* (Hymenoptera: Apidae) in southern Alberta. VI . Subgenus *Pyrobombus*. Can. Ent. 99: 1271-1292.
- 池田二三高・忠内雄次. 1992. わが国へのツチマルハナバチの導入経緯と果菜類のポリネーターとしての実用性. 農業および園芸. 67: 1213-1216.
- 井上隆太. 1996. セイヨウオオマルハナバチ *Bombus terrestris* L. の室内飼育における有王群と無王群の活動の比較. 平成7年度玉川大学卒業論文. pp.77.
- 伊藤誠夫. 1993. マルハナバチの分類と日本周辺における分布. 昆虫社会の新化(井上民二・山根爽一). 博品社. 東京. pp.75-92.
- 伊東 正 2002. 日本における施設園芸生産の現状と展望. 園芸学会雑誌 71(1):54-55.
- Ishikawa, S. and T. Wagatsuma. 1988. Plasma membrane permeability of root-tip cells following temporary exposure to Al ions is a rapid measure of Al tolerance among plant species. Plant Cell Physiol. 39: 516-525.
- 岩崎正男. 1995. 日本へのマルハナバチ利用技術の導入. ミツバチ科学学. 16:17-23.
- Jay, S. C. 1963. The development of honeybees in their cells. J. Apic. Res. 2: 117-134.
- Katayama, E. 1971. Observations on the brood development in *Bombus ignitus* (Hymenoptera, Apidae). I . Egg-laying habits of queens and workers. Kontyu 39: 189-203.
- Katayama, E. 1973. Observations on the brood development in *Bombus ignitus* (Hymenoptera, Apidae). II . Brood development and feeding habits. Kontyu 41: 203-216.
- Katayama, E. 1974. Egg-laying habits and brood development in *Bombus hypocrita* (Hymenoptera, Apidae). I . Egg-laying habits of queens and workers. Kontyu 42: 416-438.
- Katayama, E. 1975. Egg-laying habits and brood development in *Bombus hypocrita* (Hymenoptera, Apidae). II . Brood development and feeding habits. Kontyu 43: 478-496.
- Katayama, E. 1988. Workerlike new queens in a colony of *Bombus ardens* (Hymenoptera, Apidae). Kontyu. 56: 879-891.
- 片山栄助. 1993. マルハナバチ類の産卵と育児習性. 昆虫社会の新化(井上民二・山根爽一). 博品社. 東京. pp. 35-74..
- Katayama, E. 1994. Survivorship curves and longevity for workers of *Bombus ardens* SMITH and *Bombus diversus* SMITH(Hymenoptera, Apidae). Jpn. J. Entomol. 64: 111-121.
- 片山栄助. 2000. セイヨウオオマルハナバチの各地の目撃・採集状況と北海道十勝地方での発生状況. インセクト. 51: 15-16.
- 片山栄助・落合弘典. 1980. マルハナバチ類(*Bombus* spp.)の巣の見つけ方ととり方. 生物教材 15:45-63.
- 加藤 真. 1993. セイヨウオオマルハナバチ導入による日本の送粉生態系への影響. ミツバチ科学. 14:110-114.
- Kato, M., M. Matsumoto and T. Kato. 1993. Flowering phenology and anthophilous insect community in the cool-temperate subalpine forests and meadows at Mt. Kushigata in the central part of Japan. Contr.Biol. Lab. Kyoto Univ. 28: 119-172.
- 小出哲哉・林悟朗. 1993. 果菜類におけるマルハナバチ (*Bombus terrestris*)の利用に関する研究(第1報). マルハナバチの温室内における活動生態とミニトマトの着果及び果実品質に対する効果. 愛知農総試研報. 25: 165-170.
- Lipa, J. J. and Triggiani O. 1980. *Critidilia bombi* sp.n. a flagellated parasite of bumble-bee *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera, Apidae). Acta Protzool. 27: 287-290.
- Lipa, J. J. and Triggiani O. 1996. *Apicystis* gen nov and *Apicystis bombi* (Liu, Macfarlane and pengelly) comb nov (Protozoa: Neogregarinida), a cosmopolitan parasite of *Bombus* and *Apis* (Hymenoptera: Apidae). Apidologie

- 27: 29-34.
- Liu, H. J., R. P. Macfarlane and D. H. Pengelly. 1974. *Mattesia bombi* n. sp. (Neogregarinida: Ophrocystidae), A parasite of *Bombus* (Hymenoptera: Apidae). *J. Invertebr. Pathol.* 23: 225-231.
- Macfarlane, R. P. and R. P. Griffin. 1994. Detection of *Melittobia acasta* (Eulophidae) in bumblebee (*Bombus*, Apidae) colonies. *Melanderia*. 50:28-33.
- Macfarlane, R. P., J. L. Lipa and H. J. Liu. 1995. Bumblebee pathogens and internal enemies. *Bee Wld.* 76: 130-148.
- 前田泰夫. 1981. 野性ハナバチを利用した果樹の受粉. 採集と飼育 6:312-315.
- 前田泰夫. 1985. 有力野性ハナバチの大量増殖法の開発と利用効果. 昭和60年度科学研究費補助金(総合研究A)研究成果報告書 pp.39.
- 前田泰夫. 1992. 热帯生物資源であるハリナシバチの実用化, 特にハウス作物のポリネーターとしての利用に関する研究. 平成3年度科学研究費補助金(試験研究B)研究成果報告書 pp.77.
- 前田泰夫. 1993. マメコバチを利用したリンゴの受粉. シリーズ地球共生系4巻. 昆虫を誘い寄せる先戦略. 平凡社. p.195-232.
- Maeta, Y and R. P. Macfarlane. 1993. Japanese Conopidae (Diptera): Their biology, overall distribution, and role as parasites of bumblebees (Hymenoptera, Apidae). *Jap. J. Ent.* 61:493-509.
- Manino, A., F. Marletto, M. Porporato and L. Allais. 1994. Research on the rearing of bumblebees in artificial nests. *Ethology Ecology and Evolution*. 3: 95-99.
- 松香光夫. 1996. ポリネーターの利用. サイエンスハウス pp.153.
- 松浦誠. 1993. マルハナバチによるトマトの花粉媒介. 植物防疫 47: 173-176.
- McIvor, C. A. and L. A. Malone. 1995. *Nosema bombi*, a microsporidian pathogen of the bumblebee *Bombus terrestris*(L.). *N.Z.J.Zool.* 22: 25-31.
- Michener, C. D. 1974. The social behavior of the bees. Belknap Press of Harvard Univ. Press, Cambridge. pp.913.
- 光畑雅宏. 1996. 日本産マルハナバチの利用技術に関する基礎研究. 平成7年度玉川大学修士論文. pp.112.
- Mitsuhata, M., M. Yoneda, H. Yokoi, S. Akiyama, M. Omura and K. Goka. 2002. Ecological problems of bumblebee commercialization in Japan I - Actuality of commercialized bumblebee usage in the past ten years. *Proc. 14th Int'l Congress of IUSSI*. p.147.
- Müller, C. B. and P. Schmid-Hempel. 1992. Variation in life-history pattern in relation to worker mortality in the bumble-bee, *Bombus lucolus*. *Funct.Ecol.* 6: 48-56.
- 日本養蜂はちみつ協会 1999. ポリネーター利用実態調査報告書. (社)日本養蜂はちみつ協会編. pp.78.
- 丹羽里美・浅田真一・岩野秀俊. 1998. 日本に導入されたセイヨウオオマルハナバチから分離された微胞子虫について. 第42回応動昆大会講演要旨 p.131.
- 岡本昌広・北畠晶子・深山陽子・深沢智恵妙・吉田誠・渡邊清二・奥村一・浅田真一・小林正伸・小清水正美・阿久津四良・植草秀敏・北宜裕・佐々木皓二. 2002. 施設トマトにおける環境保全型栽培の実証. 神奈川農研研究報告. 142:17-35.
- 小野正人. 1995. いま注目される昆虫機能利用. マルハナバチと生物農薬. インセクタリューム. 32: 4-9.
- Ono, M. 1997. Ecological implications of introducing *Bombus terrestris*, and significance of domestication of Japanese native bumblebees (*Bombus* spp.). *Proc. Intel. Workshop on Biological Invasions of Ecosystem by Pests and Beneficial Organisms*. NIAES, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan, Tsukuba, pp. 244-252.
- Ono, M., M. Mitsuhashi and M. Sasaki. 1994. Use of introduced *Bombus terrestris* worker helpers for rapid development of Japanese native *B. hypocrita* colonies (Hymenoptera: Apidae). *Appl. Entomol. Zool.* 29: 413-419.
- Owen, R. E. and R. C. Plowright. 1982. Worker-queen conflict and male parentage in bumblebees. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 11: 91-99.
- Peterson, R.H. and H. G. Taber. 1987. Technique for vital staining of tomato pollen with fluorescein diacetate. *Hort.Science*. 22: 953.
- Picken, A.J.F. 1984. A review of pollination and fruit set in tomato. *J.Hort.Sci.* 59: 1-13.
- Pinchinat, B., M. Bilinski and A. Ruszkowski. 1979. Possibilities of applying bumblebees as pollen vectors in tomatoes F1 hybrid seed production. *Proc. Fourth Intl Symp. on Pollination*. 73-90.
- Plowright, R. C. and S. C. Jay. 1966. Rearing bumblebee colonies in captivity. *J. Apicul. Res.* 5: 155-165.
- Plowright, R. C. and C. M. Plowright. 1990. The laying of male eggs by bumble bee queens: an experimental reappraisal and new hypothesis. *Can. J. Zool.* 68: 493-497.
- Poinar, G.O. and P.A.Van der Laan. 1972. Morphology and life history of *Sphaerularia bombi*. *Nematologica*. 18: 239-252.
- Pomeroy, N. and R. C. Plowright. 1982. The relation between worker numbers and the production of males and queens in the bumble bee *Bombus perplexus*. *Can. J. Zool.* 60: 954-957.
- Ribeiro, M. F. 1999. Long duration feedings and caste

- differentiation in *Bombus terrestris* larvae. Insectes Soc. 46: 315-322.
- Ribeiro, M. F., H. H. W. Velthuis, M. J. Duchateau and J. van der Tweel. 1999. Feeding frequency and caste differentiation in *Bombus terrestris* larvae. Insectes Soc. 46: 306-314.
- Richard, K.W. 1987. Alfalfa leafcutter bee management in Canada. Bee Wld. 68: 168-178.
- Röseler, P. F. 1970. Unterschiede in der Kastendetermination zwischen den hummelaten *Bombus hypnorum* und *Bombus terrestris*. Zs. Natuforsch., 25b: 543-548.
- Röseler, P. F. 1985. A technique for year-round rearing of *Bombus terrestris* (Apidae, Bombini) colonies in captivity. Apidologie 16: 165-170.
- Röseler, P. F. and I. Röseler. 1978. Studies on the regulation of the juvenile hormone titer in bumblebee workers, *Bombus terrestris*. J. Insect Physiol. 24: 707-713.
- 坂上昭一. 1970. ミツバチがたどった道. 思索社. pp.231.
- 笹川浩美. 1984. ミツバチ *Apis mellifera* L.働き蜂の分業に関する内分泌学的研究－特に幼若ホルモンの関与について－ 玉川大学修士論文. pp.113.
- 佐々木正己. 1995. ポリネーター類の総合的利用化. 特性比較, 管理と人工授粉との組み合わせ使用. 植物防疫 49: 70-73.
- Schmid-Hempel, P. 1998. Parasites in social insects. Princeton University press. pp.409.
- Sladen, F. W. L. 1912. The humble-bee, its life history and how to domesticate it. Mac Mallan, London. pp.225.
- Smith, M. V. 1959. Queen differentiation and biological testing of royal jelly. Cornell Univ. Agr. Exp. Sta. No.356.
- Southwick, E. E. and L. Southwick, JR. 1992. Estimating the economic value of honeybees (Hymenoptera: Apidae) as agricultural pollinators in the United States. J. Econ. Entomol. 85: 621-633.
- Spaethe, J. and A. Weidenmüller. 2002. Size variation and foraging rate in bumblebees (*Bombus terrestris*). Insects soc. 49: 142-146.
- 杉浦直人・杉本雄樹・池末龍児. 2001. 熊本県におけるセイヨウオオマルハナバチの生息状況について. 保全生態学研究. 6: 81-84.
- 忠内雄次. 1996. トマトの生理からマルハナバチの利用を考える. 施設園芸. 2: 44-47.
- 田中肇・森田竜義. 1999. 純白の植物の生きざま. 花の自然史(大原雅). 北海道大学図書刊行会.3-16.
- Tasei, J. N. 1994. Effect of different narcosis procedures on initiating oviposition of prediapause *Bombus terrestris* queens. Entomol. Exp. Appl. 72: 273-279.
- Thomson, J. 1997. 日本におけるセイヨウオオマルハナバチの野生化についてのコメント. 保全生態学研究. 2: 28-35.
- Van Doorn, A. and J. Heringa. 1986. The ontogeny of a dominance hierarchy in colonies of the bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera, Apidae). Insectes Soc. 33: 3-25.
- Van den Eijnde J., A. de Ruijter and J. van der Steen. 1991. Method for rearing *Bombus terrestris* continuously and the production of bumblebee colonies for pollination purpose. Proc. 6th Intl Symp. on Pollination, Acta Hort. 288: 154-158.
- Van Heemert, C., A. de Ruijter, J. van den Eijnde and J. van der Steen. 1990. Year-round production of bumble bee colonies for crop pollination. Bee Wld. 71: 54-56.
- Van Honk, C. G. J., H. H. W. Velthuis, P. F. Röseler, and M. E. Malotaux. 1980. The mandibular glands of *Bombus terrestris* queens as a source of queen pheromones. Ent. Exp. Appl. 28: 191-198.
- Van Honk, C. G. J. and P. Hogeweg. 1981. The ontogeny of the social structure in a captive *Bombus terrestris* colony. Behav. Ecol. Sociobiol. 9: 111-119.
- Van Honk, C. G. J., P. F. Röseler, H. H. W. Velthuis and J. C. Hoogeveen. 1981. Factors influencing the egg laying of workers in a captive. Behav. Ecol. Sociobiol. 9: 9-14.
- Van Ravestijn, W. and Van der Sande, J. 1991. Use of bumblebees for the pollination of greenhouse tomatoes. Proc. 6th Intl Symp. on Pollination, Acta Hort. 288: 204-212.
- 鷲谷いづみ. 1992. 異型花柱性植物の種子繁殖と送粉. シリーズ地球共生系3巻. 昆虫を誘い寄せる先戦略. 平凡社. p.109-136.
- 鷲谷いづみ. 1998. 保全生態学からみたセイヨウオオマルハナバチの侵入問題. 日本生態学会誌. 48: 73-78.
- Washitani, I., Kato M., Nishihiro J. and Suzuki K. 1994. Importance of queen bumble bees as pollinators facilitating inter-morph crossing in *Primula sieboldii*. Plant Species Biology 9: 169-176.
- 鷲谷いづみ・矢原徹一. 1996. 保全生態学入門－遺伝子から景観まで－. 文一総合出版. pp.271.
- Waddington, K. D. 1997. Foraging behavior of nectarivores and pollen collectors. Proc. 7th Intl Symp. on Pollination, Acta Hort. 437: 175-191.
- Wang, I. 1965. Growth rates of young queen and worker honeybee larvae. J. Apic. Res. 4: 3-5.
- Webster, T. C. 1994. Fumagillin affects Nosema apis and honeybees. J. Econ. Entomol. 87: 601-604.
- Williams, P. H. 1986. Environmental change and the distributions of British bumble bees (*Bombus* LATR.).

- Bee Wld. 64: 50-61.
- 矢澤元啓. 1998. 蚕病診断の手引き. 埼玉県蚕業試験  
場, 埼玉県植物防疫協会編. pp.62.
- 山田雅輝・川嶋浩三・会津博作. 1984. マメコバチの増  
殖に関する個体群生態学的研究. 青森県りんご試  
報. 21: 23-92.
- Zander, E. und F. Becker. 1925. Die Ausbildung des  
geschlechtes bei der Honigbiene. Erlanger. Jahrb.  
Bienenk. 3: 163-223. (Cited from Beetsma,J. 1979)

平成16年3月31日発行  
神奈川県農業総合研究所  
研究報告  
第144号

神奈川県農業総合研究所  
〒259-1204 神奈川県平塚市上吉沢1617  
TEL (0463) 58-0333  
FAX (0463) 58-4254

Kanagawa Prefectural Agricultural Research Institute  
1617, Kamikisawa  
Hiratsuka, Kanagawa, 259-1204  
Japan

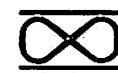
印刷所  
(有)湘南グッド



神奈川県

| 農業総合研究所

平塚市上吉沢1617 〒259-1204 電話(0463)58-0333(代表)



資源を大切に この本は、再生紙を使用しています