

「クロスズメバチの女王とオス、働き蜂はどのような餌種を分配されているのか？」

神戸大学大学院人間発達環境学研究科

佐賀 達矢

1 研究の背景と目的

ミツバチでは、幼虫期にロイヤルゼリーを与え続けられたメスが次世代の女王蜂（新女王）になり、シロアリでも王や女王には特別な栄養供給がなされることが知られている。社会性カリバチ類においても、幼虫期の栄養条件が将来のカースト分化に関与する可能性は古くから指摘されており、O'Donnell (1998) は、社会性カリバチ類における繁殖カーストの決定において、成虫化以前の栄養条件が重要な役割を果たすことを総説している。さらに、アシナガバチ属では、幼虫への給餌量やタンパク質供給量の違いが、将来のカーストに関わる発育や生理状態に影響することが示されている (Karsai and Hunt, 2002; Judd et al., 2015)。

スズメバチ亜科でも、クロスズメバチ属では女王蜂になる幼虫と働き蜂になる幼虫で与えられる餌の栄養的な質に差があることが示唆されてきた (Montagner, 1966; Schmidt et al., 2012)。しかし、これらの研究の多くは栄養状態や発育条件に注目したものであり、実際にどのような餌生物が女王幼虫と働き蜂幼虫に分配されているのかについては、ほとんど明らかになっていない。

また、本研究で対象とした 2 群は、繁殖カーストと労働カーストの体サイズ差という点でも対照的である。シダクロスズメバチを含むクロスズメバチ属 *Vespula* では、一般に働き蜂と女王蜂の体サイズ差が比較的明瞭であり、幼虫は大きさの異なるセルで育てられることが知られている。一方で、オオスズメバチを含むスズメバチ属 *Vespa* では、女王蜂が働き蜂より大型である傾向はあるものの、その差はクロスズメバチ属ほど明瞭ではなく、種によっては両カーストの形態に重なりもみられる (Jeanne and Suryanarayanan, 2011; Perrard et al., 2012)。したがって、繁殖カーストと労働カーストの体サイズ差の程度が異なるグループの蜂を用いて比較することは、社会性狩蜂におけるカースト分化機構の一般性と多様性の両方を検討するうえで有効である。

そこで本研究では、DNA メタバーコーディング技術を用いて、クロスズメバチ属のシダクロスズメバチ *Vespula shidai* およびスズメバチ属のオオスズメバチ *Vespa mandarinia* を対象に、女王蜂と働き蜂の幼虫間で餌種構成および餌の多様性に差異があるかを検証した。これにより、社会性狩蜂において階級差を生み出す至近要因として、幼虫期の餌分配がどのような役割を果たしているのかを明らかにすることを目的とした。

2 研究方法・研究内容

(1) サンプルング

シダクロスズメバチについては、2023 年 10 月 22 日～29 日に岐阜県中津川市付知町で飼育されていた 3 巣、2023 年 11 月 3 日に豊田市足助町で飼育されていた 1 巣、および 2024 年 11 月 3 日に岐阜県恵那市串原町で飼育されていた 1 巣の計 5 巣から、働き蜂と女王蜂の終齢幼虫をそれぞれ 3 個体ずつ取り出して餌解析に用いた。

オオスズメバチについては、2023 年 10 月 7 日～23 日に宮崎県児湯郡川南町で採集した 4 巣（巣 ID: 7, 8, 9, 12）から、女王蜂の幼虫計 6 個体（巣 7 から 3 個

体、巣 8,9,12 から各 1 個体) および働き蜂の幼虫計 8 個体 (巣 7,8 から各 3 個体、巣 9,12 から各 1 個体) を取り出して同様の解析に用いた。

(2) 餌種の DNA メタバーコーディング

両種ともに、幼虫を 99.9%エタノールで脱水後、中腸内容物からゲノム DNA を抽出し、ミトコンドリア DNA の COI 領域を増幅した。PCR には Leray et al. (2013) のプライマー (1st-IntF/1st-HCOmR) を用い、対象種自身の DNA 増幅を防ぐために種ごとに設計したブロッキングプライマーを併用した (シダクロスズメバチ用: V. shidai_blocking (Saga and Fujioka, 2025)、オオスズメバチ用: V. mandarinia_blocking; 5'-GGA TGA ACT TTA TAT CCC CCT CTC TCA TCA ATT ACT GGA CAT AAT AGA C -3'/3Sp3C/)。その後、インデックス付きの 2nd プライマーを用いて tailed PCR を行い、増幅産物を MiSeq (Illumina) でシーケンスした。シーケンスデータは Qiime2 の dada2 プラグインまたは委託会社のパイプラインによりノイズ・キメラ配列を除去し、ASV/OTU を構築した。得られた配列を NCBI の nt データベースで blastn 検索し、塩基配列一致率 97%以上を基準として種判定を行った。

(3) 統計解析

各サンプルにおいてリード数が 10 未満の低頻出 OTU/ASV は除去した。シダクロスズメバチについては、サンプル間のリード数のばらつきの平準化を目的とした数値シミュレーションを実施した後、R の rrarefy 関数によりリサンプリングした。オオスズメバチについては最小リード数 (3,155 リード) への希薄化 (rarefaction) を行った。

両種ともに、以下の統計解析を共通して実施した。まず、Bray-Curtis 指数および Jaccard 指数を用いた非計量多次元尺度法 (NMDS; metaMDS 関数) により餌種構成の類似関係を序列化した。次に、幼虫の餌種構成が働き蜂と女王蜂とで異なるかを検討するため、PERMANOVA 解析 (adonis2 関数) を行った。その際、巣 (コロニー) 間の影響を排除するため、コロニーを strata として指定した並べ替えも実施した。さらに、betadisper 関数を用いて多変量分散の均質性を検定し、PERMANOVA の結果がセントロイドの差に起因することを確認した。加えて、indval 関数 (indicspecies パッケージ) を用いた指標種解析により各カーストに特徴的な餌種を同定した。

オオスズメバチについては上記に加え、各サンプルの Shannon 多様度指数 (H')、Simpson 多様度指数 ($1-D$)、および Pielou 均等度指数 (J') を算出し、Wilcoxon 順位和検定および Welch の t 検定によりカースト間で比較した。また、SIMPER 解析により群間の非類似度に対する各餌種の寄与率を算出した。以上の統計解析は R version 4.1.0 以降および vegan パッケージを用いて実施した。

3 研究成果

(1) シダクロスズメバチ *Vespula shidai*

Bray-Curtis 指数に基づく PERMANOVA 解析の結果、巣の違いの効果を取り除いていない場合 ($F=0.94, p=0.474$) も取り除いた場合 ($F=0.94, p=0.248$) も、働き蜂幼虫と女王蜂幼虫の餌構成に有意な差は認められなかった。一方、Jaccard 指数 (在/不在データ) を用いた PERMANOVA 解析では、巣の違いの効果を取り除かない場合には有意差は認められなかったが ($F=1.20, p=0.101$)、巣の違いの効果を取り除くと、働き蜂幼虫と女王蜂幼虫の間で有意な差が認められた ($F=1.20, p=0.005$)。

さらに指標種解析では、Bray-Curtis 指数に基づいた場合にはハスミエダシヤク *Hypomecis roboraria*、Jaccard 指数に基づいた場合にはスジモンヒトリ *Spilarctia seriatopunctata* が女王蜂幼虫の有意な指標種 ($p < 0.05$) として抽出され、働き蜂幼虫側には有意な指標種は認められなかった ($p > 0.05$)。

これらの結果は、シダクロスズメバチでは、女王蜂幼虫と働き蜂幼虫の間で餌の種類そのものに差がある可能性を示している。一方で、Bray-Curtis 指数では有意差が認められなかったことから、少なくとも本研究の範囲では、各餌種の相対的な比率の違いよりも、どの餌種が含まれるかという在/不在の違いが強く表れていた可能性がある。この結果は、クロスズメバチ属において女王蜂幼虫と働き蜂幼虫で栄養的な質の差があることを示唆した先行研究 (Montagner, 1966; Schmidt et al., 2012) と整合的であり、本研究はその差異を、自然条件下に近い材料を用いて具体的な餌生物の構成差として示した点に意義がある。

また、シダクロスズメバチを含むクロスズメバチ属では、女王蜂と働き蜂の体サイズ差が比較的明瞭であり、発育段階における給餌条件の差が形態分化と結びついている可能性が従来から想定されてきた (Jeanne and Suryanarayanan, 2011)。本研究で観察された餌種構成差は、そのようなカースト分化の近接要因としての給餌差の存在を支持する結果と考えられる。

(2) オオスズメバチ *Vespa mandarinia*

オオスズメバチでは、4 コロニー (コロニー 7, 8, 9, 12) の 14 サンプル (女王蜂幼虫 6 個体、働き蜂幼虫 8 個体) から、種レベルで同定された計 96 餌種が検出された。コロニーを strata として指定した Bray-Curtis 指数に基づく PERMANOVA 解析の結果、同一コロニー内においても女王蜂幼虫と働き蜂幼虫の餌種組成に有意な差が認められた ($R^2 = 0.126$, $F = 1.73$, $p = 0.023$)。betadisper 検定の結果、カースト間の多変量分散に有意差は認められず ($p = 0.68$)、PERMANOVA の有意差はカースト間の分散差ではなくセントロイドの差に起因することが確認された。NMDS の stress 値は 0.108 と良好であった。

多様度指数の比較では、観察餌種数 (女王蜂幼虫 14.3 ± 4.3 種 vs. 働き蜂幼虫 21.0 ± 8.3 種; Wilcoxon 検定 $p = 0.12$)、Shannon 多様度指数 (女王蜂幼虫 1.79 ± 0.37 vs. 働き蜂幼虫 1.45 ± 0.61 ; $p = 0.48$)、および Simpson 多様度指数 (女王蜂幼虫 0.76 ± 0.09 vs. 働き蜂幼虫 0.59 ± 0.25 ; $p = 0.33$) のいずれにも有意差は認められなかった。一方、Pielou 均等度指数は女王蜂幼虫 (0.69 ± 0.11) が働き蜂幼虫 (0.48 ± 0.18) より有意に高かった (Welch の t 検定 $t = 2.70$, $df = 11.8$, $p = 0.020$; Wilcoxon 検定 $W = 39$, $p = 0.061$)。

SIMPER 解析では、カースト間の非類似度に対する寄与率が最も大きい種としてチョウセンカマキリ *Tenodera sinensis* (寄与率 15.4%、働き蜂幼虫に多い) およびアオドウガネ *Anomala viridana* (寄与率 15.0%、女王蜂幼虫に多い; $p = 0.062$) が抽出された。指標種解析では、女王蜂幼虫の指標種としてドウガネブイブイ *Anomala cuprea* (stat = 0.71, $p = 0.055$) が、働き蜂幼虫の指標種としてシロテンハナムグリ *Protaetia orientalis* (stat = 0.71, $p = 0.090$) およびキイロスズメガ *Theretra nessus* (stat = 0.71, $p = 0.087$) がそれぞれ有意傾向 ($p < 0.10$) を示した。

これらの結果は、オオスズメバチでは、女王蜂幼虫と働き蜂幼虫の間で、単なる餌種の有無だけでなく、各餌種の配分のされ方そのものにも差がある可能性を示している。とくに、女王蜂幼虫で Pielou 均等度指数が有意に高かったことは、女王蜂幼虫が特定の少数餌種に偏るのではなく、より均等で多様な餌供給を受けているこ

とを示唆する。この点は、社会性カリバチ類において幼虫期の栄養条件がカースト分化に関与するとした O'Donnell (1998) の整理や、アシナガバチ属で幼虫期の栄養条件が発育やカースト関連形質に影響することを示した Karsai and Hunt (2002)、Judd et al. (2015) の知見と方向性を同じくする。

一方で、オオスズメバチを含むスズメバチ属では、女王蜂と働き蜂の体サイズ差は存在するものの、クロスズメバチ属ほど明瞭ではないとされる (Jeanne and Suryanarayanan, 2011; Perrard et al., 2012)。それにもかかわらず本研究で明瞭な餌種構成差が検出されたことは、給餌差が、体サイズ差の大きい群に限られた特殊な現象ではなく、体サイズ差がより連続的な群でも広くみられる可能性を示している。このことは、社会性狩蜂におけるカースト分化機構が単一ではなく、共通する基盤を持ちながらも、その現れ方には系統差がある可能性を示唆する。

(3) 総合的考察

本研究は、シダクロスズメバチとオオスズメバチのいずれにおいても、女王蜂幼虫と働き蜂幼虫の間で餌種構成に差がみられることを示した。これは、社会性カリバチ類において幼虫期の栄養条件がカースト分化に関与するという考え方 (O'Donnell, 1998) を、社会性狩蜂の自然条件下における餌分配という形で支持するものである。とくに本研究は、従来のように栄養状態や給餌量の違いを推定するだけではなく、DNA メタバーコーディングにより、どのような餌生物が女王蜂幼虫と働き蜂幼虫に分配されているのかを具体的に示した点で新規性が高い。

さらに、繁殖カーストと労働カーストの体サイズ差が比較的大きいクロスズメバチ属と、それほど明瞭ではないスズメバチ属の双方で餌種構成差が認められたことは、幼虫期の給餌差が社会性狩蜂に広く共有される可能性を示している。一方で、その差の現れ方は種によって異なり、シダクロスズメバチでは主として餌種の在／不在の差として、オオスズメバチでは餌種の相対的配分の差や均等度の差として現れた。このことは、社会性狩蜂におけるカースト分化の近接機構が一様ではないことを示唆する。

ただし、本研究で明らかになったのはあくまで餌 DNA の種構成差であり、これをそのまま摂食量や栄養価の差、あるいはカースト決定の直接因子とみなすことはできない。したがって今後は、各餌種の栄養価の評価、安定同位体分析、脂質やアミノ酸組成の比較、さらには給餌実験などを通じて、餌種の違いがどの程度カースト分化の因果要因となっているのかを検証する必要がある。

4 生活や産業への貢献および波及効果

調査対象としたシダクロスズメバチとオオスズメバチは蜂の子として食用とされており、地域住民の間では働き蜂と女王蜂の幼虫で味が異なるとの認識もある。今回、実際に両方で餌の種構成が異なることが 2 種のスズメバチで確認されたことから、住民の経験的な知見の信憑性がより高まった。今後、女王幼虫特有の餌に由来する栄養価の違いを明らかにできれば、高付加価値の昆虫食品の開発につながる可能性がある。また、世界の侵略的外来種ワースト 100 種には研究対象種と同属のキオビクロスズメバチ *Vespula vulgaris* やツマアカスズメバチ *Vespa velutina* が含まれる。本研究で示された女王幼虫特有の餌種の存在を利用し、効率的な巣の駆除技術の開発にもつながると考えられる。

引用文献

- Jeanne RL, Suryanarayanan S (2011) A new model for caste development in social wasps. *Communicative & Integrative Biology* 4: 373–377.
- Judd TM, Teal PEA, Hernandez EJ, Choudhury T, Hunt JH (2015) Quantitative differences in nourishment affect caste-related physiology and development in the paper wasp *Polistes metricus*. *PLoS ONE* 10: e0116199.
- Karsai I, Hunt JH (2002) Food quantity affects traits of offspring in the paper wasp *Polistes metricus*. *Environmental Entomology* 31: 99–106.
- Leray M, Yang JY, Meyer CP, Mills SC, Agudelo N, Ranwez V, Boehm JT, Machida RJ (2013) A new versatile primer set targeting a short fragment of the mitochondrial COI region for metabarcoding metazoan diversity: application for characterizing coral reef fish gut contents. *Frontiers in Zoology* 10: 34.
- Montagner H (1966) Sur le déterminisme des castes femelles chez les guêpes du genre *Vespa*. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Paris* 263: 547–549.
- O'Donnell S (1998) Reproductive caste determination in eusocial wasps (Hymenoptera: Vespidae). *Annual Review of Entomology* 43: 323–346.
- Perrard A, Villemant C, Carpenter JM, Baylac M (2012) Differences in caste dimorphism among three hornet species (Hymenoptera: Vespidae): forewing size, shape and allometry. *Journal of Evolutionary Biology* 25: 1389–1398.
- Saga T, Fujioka H (2025) Unraveling the dietary ecology and traditional entomophagy of *Vespula shidai* in Central Japan: Insights from DNA metabarcoding and local practices. *Journal of Insects as Food and Feed*, 11, 2097–2115.
- Schmidt KC, Hunt BG, Smith CR (2012) Queen, worker, and male yellowjacket wasps receive different nutrition during development. *Insectes Sociaux* 59: 289–295.