

繁殖に向けたオスの行動発達とその内分泌メカニズム

誌名	ミツバチ科学
ISSN	03882217
著者名	赤坂,真也 佐々木,謙 原野,健一 長尾,隆司
発行元	玉川大学ミツバチ科学研究所
巻/号	28巻1号
掲載ページ	p. 21-28
発行年月	2010年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



繁殖に向けたオスの行動発達と その内分泌メカニズム

赤坂 真也, 佐々木 謙, 原野 健一, 長尾 隆司

春先になると、セイヨウミツバチのコロニーでは、オスが一時的に大量に生産される。オス成虫は羽化後、約一週間かけて巣内で性成熟し、その後、他巣の新女王と交尾をするために頻りに巣外へ飛んでいく。このようなオスの振る舞いを観察すると、セイヨウミツバチは高度に社会性を進化させた種でありながらも、オスの繁殖行動は比較的単純であり、単独性の種のオスとあまり大きな違いが無いようにも思える。それ故か、セイヨウミツバチに関する研究のほとんどがワーカーと女王に関するものであり、オスに関する研究は数が少ない。

セイヨウミツバチのオスは、研究を行う上で魅力に欠ける存在なのであろうか。確かにミツバチのオスには繁殖分業がみられず、採餌や育児などの複雑な行動もみられないが、メスと比べて原始的な種の性質を残しているかもしれない。メスに関する膨大な知見が蓄積されている今こそ、オスを研究対象にすることにより、ミツバチの社会性進化の手がかりが得られるかもしれない。そのような観点で、私たちはオスの繁殖行動の発現に関わる内分泌機構の解明について取り組んでいる。セイヨウミツバチのメスでは、以前から脳内物質による繁殖分業メカニズムの追究が行われてきた。オスの繁殖行動が発現する際に、メスと同様の内分泌メカニズムがはたらくのかどうかは、未だ調査されていない。オスの脳内物質の調査やそれらの機能解析を行うことにより、社会性種の繁殖制御の進化を内分泌機構の変遷として捉えることできるかもしれない。本稿では、脳内物質として作用する生体アミン（ドーパミン）に着目し、ドーパミンがオスの繁殖行動にどのような影響を与え

ているのかを紹介していく。

生体アミンの作用機序と ドーパミンの機能

生体アミンは神経伝達物質、神経修飾物質、神経ホルモンとして脊椎・無脊椎動物で機能している (Evans, 1980; Burrows, 1996; Schultz, 2007)。神経伝達物質はシナプス間の化学伝達の仲介物質として数ミリ秒単位でシナプス後膜に情報を伝達する。神経修飾物質はニューロンの終末から局所的なニューロン群に作用し、シナプス伝達効率やニューロンの閾値を変えるはたらきをする。神経ホルモンは血中を介し、広範囲の標的細胞に作用し、新たに遺伝子発現を引き起こす。これらの機能の違いは各生体アミンに特異的な受容体の種類やその分布によって決定されると考えられている (Bicker, 1999; Blenau and Baumann, 2001)。アミン分泌細胞はシナプス、ニューロン群、あるいは血中に生体アミンを放出する。放出された生体アミンは標的細胞にある受容体に結合する。結合後は分泌細胞のシナプス前膜で発現しているトランスポーターによって回収され、シナプス前膜に再び取り込まれるか、あるいは N-アセチル転移酵素によって不活性化される。

生体アミンの一種であるドーパミンは、昆虫における連合学習 (Mercer and Menzel, 1982; Vergoz et al., 2007)、活動性 (Draper et al., 2007; Miyatake et al., 2008; Nishi et al., 2010)、繁殖行動 (Wicker-Thomas and Hamann, 2008)、そして性成熟 (Neckameyer, 1996; Pendleton et al., 1996) といった行動や生理を調節している。セイヨウミツバチに

においても、ドーパミンによる同様の作用が、通常のワーカー (Mercer and Menzel, 1982; Vergoz et al., 2007) や産卵ワーカー (Harris and Woodring, 1995; Sasaki and Nagao, 2001, 2002; Dombroski et al., 2003; Beggs et al., 2007), 女王 (Harano et al., 2005, 2008a) で報告されている。ドーパミンによる活動性の上昇は、ワーカーの採餌への動員 (Božič and Wooding, 1998) や女王の交尾飛行の促進 (Harano et al., 2005, 2008a) に寄与すると考えられる。オスの行動や生理に関するドーパミンの役割はほとんど研究されていないが、オスの脳内のドーパミン量は羽化後から徐々に上昇

していき、7~8日齢でピークに達し、その後減少していく (Harano et al., 2008b)。また、脳内でのドーパミントランスポーター遺伝子の発現は、日齢とともに上昇していく (Nomura et al., 2009)。脳内ドーパミン量の上昇が続く日齢はオスの交尾飛行が開始される時期と重なることから、オスの繁殖行動におけるドーパミンの関与が考えられる。

オスの繁殖行動におけるドーパミンの関与

ドーパミンは様々な動物種の運動活性を促進するはたらきがあることから、ミツバチのオス

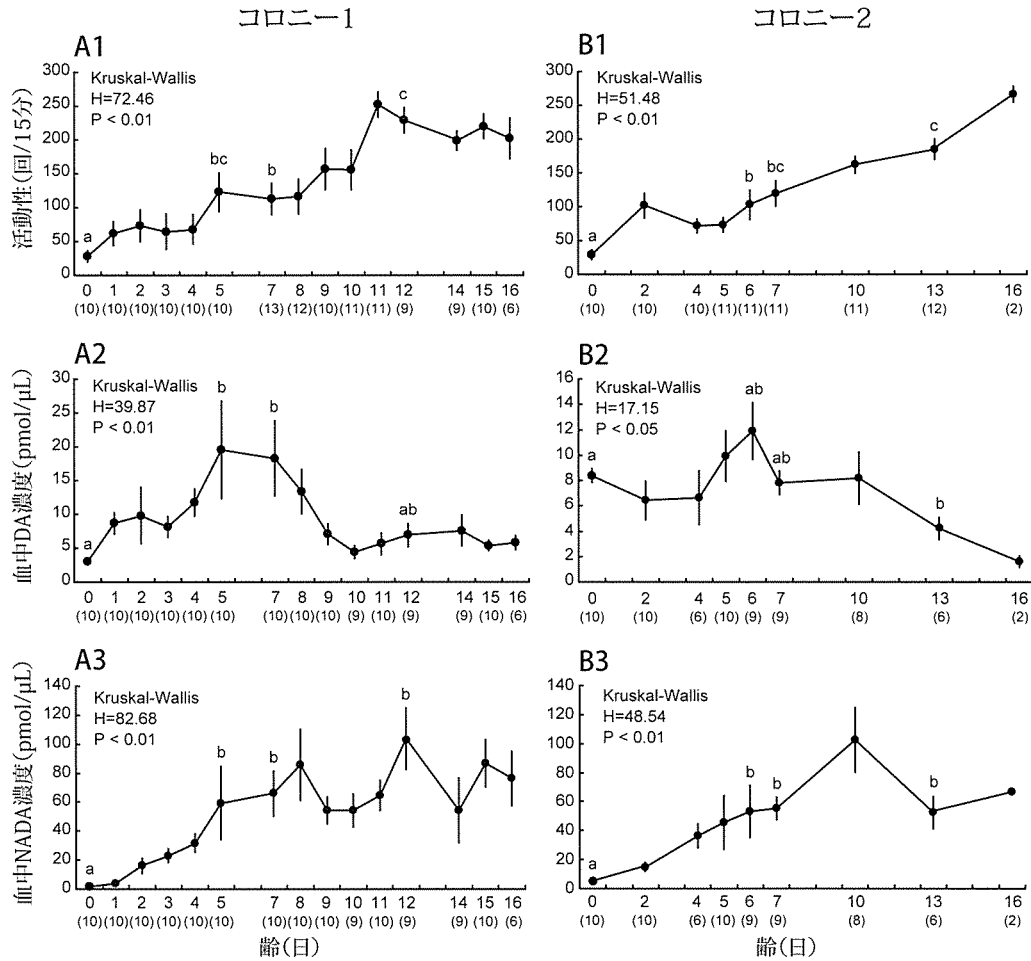


図1 オスの活動性 (A1, B1), 血中ドーパミン量 (A2, B2), 血中N-アセチルドーパミン量 (A3, B3) の日齢変化 Aはコロニー1, Bはコロニー2の結果を示している。プロットの値は平均値であり、誤差線は標準誤差である。検定はそれぞれKruskal-Wallis test ($P < 0.05$)を行い、多重比較(Steel-Dwass test, $P < 0.05$)で、日齢毎の変化を検討した。日齢の下の数字はサンプル数を示している。Akasaka et al. (2010) より改変。

においてもドーパミンが交尾飛行の活性を高める可能性が考えられる。そこで、オスの交尾飛行における動機付けの程度を実験室内で評価するために、まず歩行などの基本的な行動の活動性を指標に用いることにした。活動性は赤いセロファンで覆ったシャーレ（直径 9 cm, 高さ 1.5 cm）を用いた。シャーレ内に巣礎を敷き詰め、中央に小さいシャーレ（直径 4 cm, 高さ 1 cm）を貼り付けることでサーキット状にした。さらに、シャーレの蓋に十字線を引き 4 区画にし、区画を歩行通過する回数をカウントした。活動性を計測した個体から体液を抽出し、血中ドーパミン量とその代謝物質である *N*-アセチルドーパミン量を HPLC-ECD 法で分離・定量し、日齢と活動性との関係を調べた。その結果、活動性は日齢に依存して上昇し続けることが分かった (Akasaka et al., 2010) (図 1 A1 と B1)。活動性の低い日齢では、シャーレ内で常時歩行し続ける個体、歩行と不動を繰り返す個体、あるいは全く動かない個体があったが、交尾飛行を行う 6 日齢に近づくにつれ、常時歩行し続ける個体の頻度が多くなっていった。一方、血中ドーパミン量は羽化後 5 ~ 6 日齢まで上昇していき、その後、減少していくことが分かった (Akasaka et al., 2010) (図 1 A2 と B2)。血中ドーパミン量の変化はすでに報告されている脳内ドーパミン量の傾向 (Harano et al., 2008b) と似ていた。血中 *N*-アセチルドーパミン量の上昇は 10 ~ 12 日齢までみられ、血中ドーパミン量の上昇よりも長く続く傾向がみられた (図 1 A3 と B3)。

昆虫における飛翔や歩行といった運動パターンを形成する神経系は脳や胸部神経節である。そこで、血中や脳内、中・後胸部神経節内のドーパミン量を同じ個体で定量したところ、これらの部位のドーパミン量はすべて交尾飛行開始時期まで上昇することが分かった (Akasaka et al., 2010) (図 2)。

ドーパミンによる繁殖行動への関与を調べるためには、基本的な行動活性だけでなく飛翔行動においても日齢による活性の違いを調べる必要がある。そこで、オスの飛翔行動を 24°C,

250.4 lx の条件下のケージ (45 cm×60 cm×45 cm) 内で観察したところ、0 日齢では歩行をする個体のみであった。3 日齢から飛翔行動をする個体も現れるが、それは少数でほとんどの個体は接地しながら羽ばたきをする個体であり、8 日齢になると、ほとんどの個体が飛翔行動を行った (Akasaka et al., 2010) (図 3)。この飛翔実験の結果は実験条件下で行ったものであるが、オスパチトラップを用いた自然条件下での飛翔実験でも、同様の結果が報告されている (Tozetto et al., 1997; Giray and Robinson, 1996)。

歩行や飛翔の活動性の上昇はドーパミンや代謝物質である *N*-アセチルドーパミン量の上昇と並行して起こった。ドーパミンや *N*-アセチルドーパミン量の上昇は、ドーパミンが直接、中枢神経系もしくは末梢組織に作用し、その後、血中の *N*-アセチル転移酵素によって不活性化された結果と考えられる。ドーパミンは脳における基本的な行動活性を調節し、中・後胸部神経

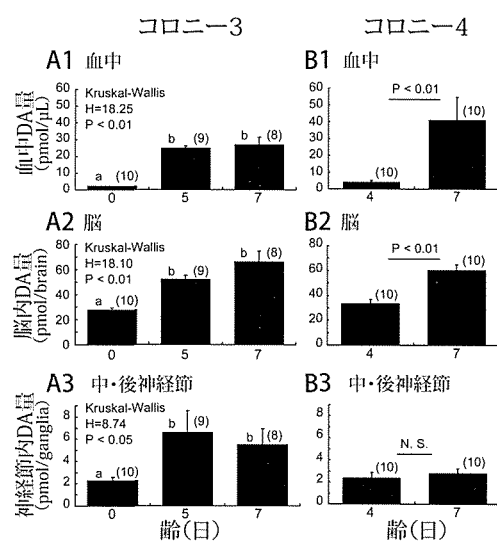


図 2 オスの血中 (A1, B1), 脳内 (A2, B2), 中・後胸部神経節内 (A3, B3) のドーパミン量の変化 A はコロニー 3, B はコロニー 4 の結果を示している。誤差線は標準誤差である。棒グラフ上の数字はサンプル数を示している。コロニー 3 の検定では Kruskal-Wallis test ($P < 0.05$) を行い、多重比較 (Steel-Dwass test, $P < 0.05$) で、日齢毎の変化を検討した。コロニー 4 では Mann-Whitney U test で日齢変化を検討した。Akasaka et al. (2010) を改変。

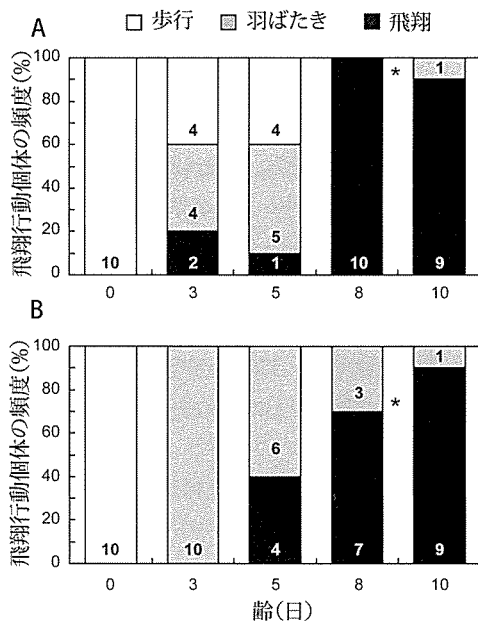


図3 オスの飛行行動の発達

白色は羽ばたきや飛行をしなかった個体、灰色は羽ばたき行動を行った個体、黒色は飛行行動を行った個体を示している。Aはコロニー3、Bはコロニー4の結果で、カラム内の数字はサンプル数を示している。*は、0日齢と8日齢における飛行個体の頻度を Fisher's exact test ($P < 0.01$) によって検定した結果であり、有意差があることを示している。Akasaka et al. (2010) より改変。

節における歩行や飛行行動のパターンの形成に作用している可能性がある。

受容体ドラッグによるドーパミンの作用の検証

オスの性成熟に伴ったドーパミン量の上昇はみられたが、ドーパミンは活動性を促進させる役割を担っているのであろうか。オスにドーパミンを直接注入すると、すぐに、N-アセチル転移酵素によって代謝されてしまう恐れがある。そのため、ドーパミン受容体アゴニストとアンタゴニストを用いて、活動性への影響を調べた。アゴニストとは、受容体に結合し、リガンド（この場合はドーパミン）と同じように細胞内に情報伝達を行うことができる物質のことをいい、アンタゴニストは受容体に結合できるが、情報伝達が起らない物質のことをいう。つまり、アンタゴニストは受容体にリガンドが

結合できないようにするブロッカーとして作用する。

4～5日齢のオスに 10^{-2} M cis(Z)-flupenthixol (アンタゴニスト) を注入すると、活動性が減少し、明らかに休む時間が長くなった。アンタゴニスト注入後2時間で活動性は有意に減少し、22時間後では、アンタゴニストの作用は無くなり、活動性は回復した (Akasaka et al., 2010) (図4)。対照区としてミツバチ生理塩溶液を注入した個体では、活動性は減少しなかった。また、同じ日齢のオスに 10^{-2} M 6,7-ADTN (アゴニスト) を注入すると、活発に動くようになり、10分後に活動性は有意に上昇した。より低い濃度 (10^{-3} M) のアゴニストを注入した個体でも2時間後には活動性が上昇した (Akasaka et al., 2010) (図5)。これらの結果から、アゴニストは濃度依存的に活動性の促進効果を示し、2時間程度時間をおくことにより、体内で拡散し、作用すると考えられる。このように、オスにおいてドーパミンが活動性を促進させる機能を持つことが実験的に検証できた。

ドーパミンがオスの活動性の促進に関与するとすれば、疑問となる点の一つある。それは、血中や脳内のドーパミン量が8日齢以降減少するのに対し、活動性は上昇し続けるという点である。8日齢以降のオスでは、低いドーパミン量で高い活動性を維持していることになり、

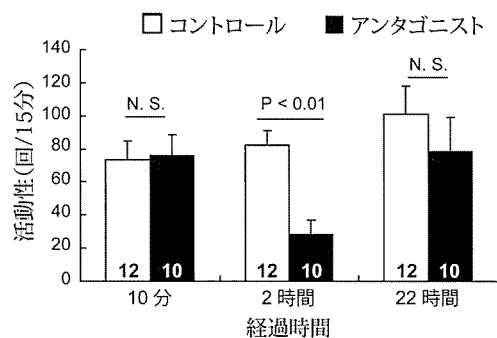


図4 ドーパミン受容体アンタゴニスト (cis(Z)-flupenthixol) によるオスの活動性への影響。誤差線は標準誤差を、棒グラフ上の数字はサンプル数を示している。検定は Mann-Whitney U test を用い、コントロール群とアンタゴニスト処理群を比較した。Akasaka et al. (2010) を改変。

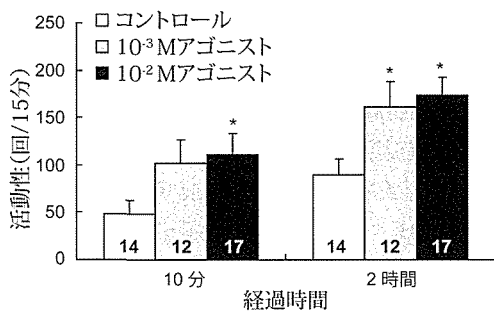


図5 ドーパミン受容体アゴニスト (6,7-ADTN) によるオスの活動性への影響

誤差線は標準誤差を、棒グラフ上の数字はサンプル数を示している。検定はSteel's testを用い、コントロール群とアゴニスト処理群を比較した。Akasaka et al. (2010) を改変。

ドーパミンと活動性の関係が矛盾しているように見える。ドーパミンは若齢のオスの活動性を上昇させる引き金として作用しているが、活動性を維持する機構は別にあるのかもしれない。

生殖器官の発達とドーパミンの関係

セイヨウミツバチのメスにおいて、ドーパミンが生殖器官の発達に関与していることはすでに述べた。産卵ワーカーでは卵巣発達と

脳内ドーパミン量に相関がみられ (Sasaki and Nagao 2001), ドーパミンを経口摂取させると卵巣発達が促進される (Dombroski et al., 2003)。オスの場合、性成熟は羽化直後から始まり、ドーパミン量も日齢に依存して上昇することから、ドーパミンによる生殖器官の発達の促進が予想される。

オスの生殖器官は主に精子を生産する精巣、生産された精子を貯蔵する貯精嚢、そして精子に混合するための分泌物を生産する付属腺からなる。精巣は4日齢まで膨らんでおり、羽化直後の重量が最も大きい。また、この時期の精巣は白、あるいはクリーム色をしている。4-8日齢にかけて精巣は萎み、羽化直後の精巣と比べ軽くなる。つまり、交尾飛行に向けて作られた精子が貯精嚢に蓄えられていると考えられる。また、この時期の精巣は緑がかった色になる。貯精嚢は羽化後8~12日齢で重量が増し、安定する。また、付属腺重量は羽化後4日齢まで上昇し、安定する。このように、約8日齢までに生殖器官の発達が完了することになる (吉田, 1989; Harano et al., 2008b) (図6)。

予備的な実験ではあるが、若齢のオスにドーパミンを経口摂取させて、数日間、屋内で飼育し、生殖器官の重量を測定したところ、ドーパ

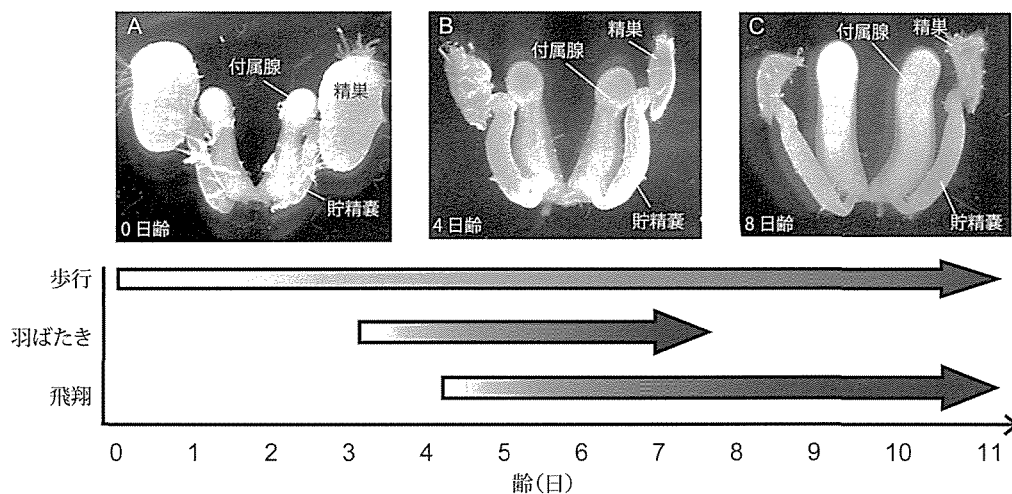


図6 オスの生殖器官と行動の発達

上図は0日齢 (A), 4日齢 (B), 8日齢 (C) の生殖器官を示している。精巣は8日齢には完全にしぼみ、貯精嚢と付属腺は膨張する。下図は歩行、羽ばたき、飛翔の発達スケジュールを示している。歩行活性は日齢と共に上昇する。羽ばたきは交尾飛行開始前に発現し、飛翔の準備段階と考えられる。飛翔の発達は8日齢までに完了する。上図はHarano et al. (2008) を、下図はAkasaka et al. (2010) を基に作成。

ミンによる生殖器官発達の促進作用は検出できなかった。しかし、ドーパミン量は上昇していたことから、体内にドーパミンが取り込まれたことは確認できており、今後追試する必要がある。また、オスのみで屋内飼育を行うと、ドーパミン量の増加や活動性の上昇、生殖器官の成熟といった生理・行動の発達が遅れることが確認された。オス成虫はワーカーからの給餌を受けて性成熟するなど、ワーカーへの依存度が高いことから、野外のコロニーのようにワーカーが十分にいる条件を実験室内で再現する必要があるのかもしれない。

真社会性進化に伴う 繁殖制御の変化

一年性の生活史を持つ原始的眞社会性ハチ類（マルハナバチやアシナガバチ）は、秋に交尾をしたメスが越冬し、春に巣を創設する。創設女王は産卵だけでなく、巣作りや採餌、育児なども行う。そして、初期ワーカーが羽化すると、女王は産卵に専念する。このように、原始的眞社会性ハチ類では、カースト間での完全な分業は実現していない。

セイヨウオオマルハナバチにおいて、血中幼若ホルモン（JH）濃度や脳内ドーパミン

量は卵巣発達とともに上昇する（Bloch et al., 2000a,b）。そのような関係は数種のアシナガバチにおいても確認されている（Giray et al., 2005; Sasaki et al., 2007）。さらに、アシナガバチに JH 塗布やドーパミン経口摂取を行うと卵巣発達が促進される（Bohm, 1972; Sasaki et al., 2009）。これらの知見から、原始的眞社会性ハチでは、JH やドーパミンにより、卵巣の発達がコントロールされていると考えられる。一方で、これらの種では、JH はワーカー間の分業にも関わっているようである。アシナガバチの 1 種では、ワーカーに JH を塗布すると、巣の防衛や採餌行動が誘導されることが報告されている（Giray et al., 2005）。

ミツバチは、上述の種とは異なり、女王とワーカーが繁殖とコロニー維持活動を完全に分業している高度眞社会性種である。この種では、産卵を専門とする女王や産卵ワーカーの JH 濃度は外勤ワーカーと比べて低く、内勤ワーカーと同程度である（Robinson et al., 1991）。他にもいくつかの証拠から、ミツバチのメスでは、JH の性腺刺激ホルモンとしての機能は失われていると考えられている（West-Eberhard, 1996; Hartfelder, 2000）。代わりに、JH はワーカーの齢間分業を調節するペースメーカー

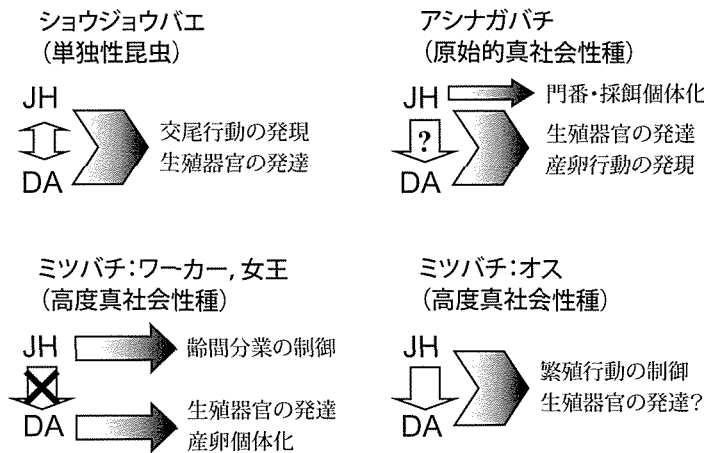


図7 JH とドーパミンによる繁殖制御の種間・種内比較

単独性昆虫であるショウジョウバエや原始的眞社会性種であるアシナガバチでは、JH、ドーパミンによって生殖器官や繁殖行動が促進される。高度眞社会性であるセイヨウミツバチのメスでは、JH による生殖器官や繁殖行動の促進機能が失われ、ドーパミンがその機能を保持している。ミツバチオスでは、アシナガバチと同様に JH の生殖器官や繁殖行動の促進機能が保持されている。雌雄間で JH の機能は異なるがドーパミンの機能は共通である。

ホルモンとして機能している (Robinson and Vargo, 1997; Page and Amdam, 2007). オスにおいては, JH の性腺刺激ホルモンとしての機能は十分調べられていない. しかし, その生合成速度や血中濃度のピークは交尾飛行の開始時期と一致しており (Tozetto et al., 1995; Giray and Robinson, 1996), JH や JHA (メソプレノ) を性成熟前の個体に施すと, 交尾飛行の開始を早めることができる (Giray and Robinson, 1996; Tozetto et al., 1997) ことから, JH は少なくとも行動面ではオスの繁殖を促進する役目があると考えられる. このホルモンはさらに, オスの脳内ドーパミン量を調節することが示唆されており (Harano et al., 2008b), 今回示した結果と合わせると, JH はドーパミンと共にオスの繁殖を制御している可能性が高いと思われる.

上述の知見をまとめると, 原始的真社会性種であるアシナガバチやマルハナバチでは, JH とドーパミンの両方が繁殖を促進し, JH は齢間分業も調節する場合がある. 一方, 高度真社会性種であるミツバチのメスでは, JH の性腺刺激ホルモンとしての機能は失われ, ドーパミン単独による繁殖の促進がみられる (図 7). しかし, オスでは, 原始的真社会性種の性質が保存されており, JH やドーパミンは繁殖を促進する (図 7). このような JH とドーパミンによる繁殖の促進作用は, 単独性種であるショウジョウバエでもみられることから (Gruntenko and Rauschenbach, 2008), 単独性の繁殖制御機構を社会性種も受け継いでいる可能性が考えられる (佐々木, 2010) (図 7).

終わりに

本稿では, オスの繁殖行動に関わるドーパミンの役割を中心に述べた. オスの行動生理学的研究は始まったばかりで, 多くの課題が残されている. ワーカーでは, 生体アミンであるオクトパミンが飛翔行動を促進するという報告があり (Schulz and Robinson, 2001), 今後, オスにおける他の生体アミンの機能解析が必要となるであろう. また, それらの前駆物質の動態を

調べることにより, 交尾飛行に向けて合成・代謝活性の変化や脳内の液性環境への影響を明らかにしていくことも, 今後の課題の一つである. これらの研究が進展することにより, 社会性進化の理解も深まっていくであろう.

(赤坂¹, 佐々木^{1,3}, 原野², 長尾^{1,3}, 1: 〒924-0838 石川県白山市八東穂3-1 金沢工業大学 バイオ・化学専攻, 2: 〒194-8610 東京都町田市玉川学園6-1-1 玉川大学脳科学研究所, 3: 〒924-0838 石川県白山市八東穂3-1 金沢工業大学人間情報システム研究所)

引用文献

- Akasaka, S., K. Sasaki, K. Harano and T. Nagao. 2010. *J. Insect Physiol.* 56: 1160-1166.
- Beggs, K. T., K. A. Glendinning, N. M. Marechal, V. Vergoz, I. Nakamura, K. N. Slessor and A. R. Mercer. 2007. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 104: 2460-2464.
- Bicker, G. 1999. *Microsc. Res. Tech.* 44: 166-178.
- Blenau, W. and A. Baumann. 2001. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 48: 13-38.
- Bloch, G., D. W. Borst, Z. Huang, G. R. Robinson, J. Cnaani and A. Hefetz. 2000a. *J. Insect Physiol.* 46: 47-57.
- Bloch, G., T. Simon, G. E. Robinson and A. Hefetz. 2000b. *J. Comp. Physiol. A* 186: 261-268.
- Bohm, M. K. 1972. *J. Insect Physiol.* 18: 1875-1883.
- Božič, J. and J. Woodring. 1998. *Comp. Biochem. Physiol.* 120A: 737-744.
- Burrows, M. 1996. *The Neurobiology of an Insect Brain.* Oxford University Press, Oxford. 704 pp.
- Classen, D. E. and A. E. Kammer. 1986. *J. Neurobiol.* 17: 1-14.
- Dombroski, T. C. D., Z. L. P. Simões and M. M. G. Bitondi. 2003. *Apidologie* 34: 281-289.
- Draper, I., P. T. Kurshan, E. McBride, F. R. Jackson and A. S. Kopin. 2007. *Dev. Neurobiol.* 67: 378-393.
- Evans, P. D. 1980. *Adv. Insect Physiol.* 15: 317-473.
- Giray, T. and G. E. Robinson. 1996. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 93: 11718-11722.
- Giray, T., M. Giovanetti and M. J. West-Eberhard. 2005. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 102: 3330-3335.
- Gruntenko, N. E. and I. Y. Rauschenbach. 2008. *J. Insect Physiol.* 54: 902-908.
- Harano, K., K. Sasaki and T. Nagao. 2005. *Naturwissenschaften* 92: 310-313.
- Harano, K., M. Sasaki and K. Sasaki. 2007. *Sociobiology* 50: 189-200.
- Harano, K., M. Sasaki, T. Nagao and K. Sasaki. 2008a. *Physiol. Entomol.* 33: 395-399.
- Harano, K., K. Sasaki, T. Nagao and M. Sasaki. 2008b. *J. Insect Physiol.* 54: 848-853.
- Harris, J. W. and J. Woodring. 1995. *Comp. Biochem. Physiol.* 111C: 271-270.
- Hartfelder, K. 2000. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2: 157-177.
- Miyatake, T., K. Tabuchi, K. Sasaki, K. Okada, Y.

- Nishi, K. Katayama and S. Moriya. 2008. *Anim. Behav.* 75: 113-121.
- Mercer, A. R. and R. Menzel. 1982. *J. Comp. Physiol.* 145: 363-368.
- Neckameyer, W. S. 1996. *Dev. Biol.* 176: 209-219.
- Nishi, Y., K. Sasaki. and T. Miyatake. 2010. *J. Insect Physiol.* 56: 622-628.
- Nomura, S., J. Takahashi, T. Sasaki, T. Yoshida and M. Sasaki. 2009. *Appl. Entomol. Zool.* 44: 403-411.
- Page, R. E. and G. V. Amdam. 2007. *BioEssays* 29: 334-343.
- Pendleton, R. G., N. Robinson, R. Roychowdhury, A. Rasheed and R. Hillman. 1996. *Life Sci.* 59: 2083-2091.
- Robinson, G. E. and E. L. Vargo. 1997. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 35: 559-583.
- Robinson, G. E., C. Strambi, A. Strambi and M. F. Feldlaufer. 1991. *J. Insect Physiol.* 37: 929-935.
- Sasaki, K. and T. Nagao. 2001. *J. Insect Physiol.* 47: 1205-1216.
- Sasaki, K. and T. Nagao. 2002. *J. Insect Physiol.* 48: 1075-1085.
- Sasaki, K., K. Yamasaki and T. Nagao. 2007. *J. Insect Physiol.* 53: 940-949.
- Sasaki, K., K. Yamasaki, K. Tsuchida and T. Nagao. 2009. *Naturwissenschaften* 96: 625-629.
- 佐々木謙. 2010. *比較生理生化学* 27: 3-9.
- Schulz, D. J. and G. E. Robinson. 2001. *J. Comp. Physiol. A*, 187: 53-61.
- Schultz, W. 2007. *Trend. Neurosci.* 30: 203-210.
- Tozetto, S. O., A. Rachinsky and W. Engels. 1995. *Experientia* 51: 945-946.
- Tozetto, S. O., A. Rachinsky and W. Engels. 1997. *Apidologie* 28: 77-84.
- Vergoz, V., E. Roussel, J. Sandoz and M. Giurfa. 2007. *PLoS ONE* 2: e288.
- West-Eberhard, M. J. 1996. In: Turillazzi, S. and M. J. West-Eberhard (Eds.), *Natural History and Evolution of Paper Wasps*. Oxford Univ. Press, Oxford. pp. 290-317.
- Wicker-Thomas, C. and M. Hamann. 2008. *J. Insect Physiol.* 54: 1423-1431.
- 吉田忠晴. 1989. *ミツバチ科学* 10: 132-138.

SHINYA AKASAKA¹, KEN SASAKI^{1,3}, KEN-ICHI HARANO² and TAKASHI NAGAO^{1,3}. Behavioral development for reproduction and its endocrine mechanism in male honeybees. *Honeybee Science* (2010) 28(1): 21-28. 1: Graduate Program in Bioscience and Chemistry, Kanazawa Institute of Technology, 3-1 Yakkaho Hakusan, Ishikawa, 924-0838 Japan, 2: Brain Science Institute, Tamagawa University, 6-1-1 Tamagawagakuen, Machida, Tokyo, 194-8610 Japan, 3: Human Information Systems, Kanazawa Institute of Technology, 3-1 Yakkaho Hakusan, Ishikawa, 924-0838 Japan.

Biogenic amines act as neurotransmitters, neuromodulators and neurohormones in the central nervous systems in both vertebrates and invertebrates. Dopamine regulates diverse insect behaviors and physiology including associative learning, locomotor activity and reproductive maturation. In females in primitively eusocial wasps and honeybees, similar regulatory roles of dopamine in reproduction have been reported. Juvenile hormone (JH) plays a role as a gonadotropin in solitary insects and primitively eusocial Hymenoptera, including bumblebees and paper wasps. In honeybee workers, however, JH plays a role as a pacemaker hormone that regulates age-polyphenisms. In male honeybees, the role of dopamine and its relationship with JH have not been elucidated. Hemolymph JH titers increased in parallel with the brain dopamine levels in males. In addition, completion of reproductive maturation and onset of mating flight in males correspond to the peak of brain dopamine levels and hemolymph JH titers. Therefore, it is thought that dopamine promotes development of reproductive behaviors in male honeybees. In the present study, we determined hemolymph levels of dopamine and its metabolite (N-acetyldopamine) in 0-16 day-old adult males. The development of locomotor and flight activities were recorded for the same period. Hemolymph levels of dopamine and N-acetyldopamine were found to increase at the time of onset of mating flight activity and those of dopamine decreased thereafter. Both locomotor and flight activities increased with hemolymph dopamine levels but the increased activity levels were maintained following decline of dopamine levels. Dopamine levels in the brain and meso-metathoracic ganglia showed a similar developmental profile to hemolymph dopamine levels. Locomotor activities were temporarily inhibited by injection of a dopamine-receptor antagonist (cis(Z)-flupenthixol) into the thorax, and were enhanced by injection of a dopamine-receptor agonist (6,7-ADTN). These results suggest the reproductive function of dopamine in male honeybees. Our findings link the role of dopamine with that of JH in enhancement of basic behavioral activities for mating in males. It is therefore possible that dopamine regulation in reproductive females operates independently of JH, whereas dopamine in males appears to act downstream of JH. Further studies will be required to address how the dopaminergic systems in regulating female reproduction could be independent from JH controls in honeybees.