

スクロースと上白糖：クロヤマアリにおける濃度依存的な選好性

**Sucrose and caster sugar: the concentration-dependent preference of
*Formica japonica***
城戸咲恵^{1,2}, 村瀬香^{1,*}Sakie Kido^{1,2}, Kaori Murase^{1,*}¹ 名古屋市立大学大学院システム自然科学研究科¹ Graduate School of Natural Sciences, Nagoya City University² 島根大学生物資源科学部² Faculty of Life and Environmental Science, Shimane University

* Corresponding author: Kaori Murase, Email: kmurase@nsc.nagoya-cu.ac.jp

要旨

日本国内で砂糖といえば、スクロースと転化糖などの混合物である上白糖を指すが、海外では上白糖は一般家庭用・研究用のいずれにもほとんど使用されていない糖である。そこで本研究では、クロヤマアリ (*Formica japonica*) を研究材料に、上白糖とスクロースへの選好性を調査、比較した。さらに、上白糖とスクロースの濃度依存的な選好性も調査した。負の二項分布 GLM を用いた解析の結果、スクロースと上白糖の間に有意な違いは認められなかった。しかし、糖ことのウィルコクソン順位和検定を用いた対比較を行なった結果、コントロールの水に比べて、スクロースでは濃度 10% 及び 50% の場合に、上白糖では濃度 50% 及び 80% の場合で有意な差 ($P < 0.05$) が認められた。以上の結果から、上白糖とスクロースに対するクロヤマアリの選好パターンは、濃度によって異なる可能性が示唆された。

Abstract

The term “sugar,” in Japan, refers to caster sugar (superfine sugar, in American English), which is composed of sucrose, invert sugar and other minor constituents. However, this form of sugar is scarcely used abroad for both daily use and research use. This study compared the preference of *Formica japonica* for caster sugar and sucrose. Moreover, we investigated concentration-dependent preference for caster sugar and sucrose. A negative binomial GLM analysis did not show any significant difference between caster sugar and sucrose. However, a pair-wise Wilcoxon rank sum test showed a significant difference ($P < 0.05$) between 10% sucrose and the control (water), and between 50% sucrose and the control, while a significant difference was observed between 50% caster sugar and the control, and between 80% caster sugar and the control. These results suggested that the concentration-dependent response patterns to sugar observed for *Formica japonica* may differ between caster sugar and sucrose.

はじめに

糖はアリ類の研究で様々な場面で用いられている(Klotz & Moss, 1996; Josens *et al.*, 1998; Mailleux *et al.*, 2000; Silverman & Roulston, 2001; Sunamura *et al.*, 2011; Wada-Katsumata *et al.*, 2011; Hojo *et al.*, 2014)。海外の研究では、砂糖としてスクロースを用いて実験をしている例がいくつかある(Klotz & Moss, 1996; Josens *et al.*, 1998; Mailleux *et al.*, 2000; Silverman & Roulston, 2001)が、日本国内では「砂糖」や「砂糖溶液」を用いたと書かれているアリ類の研究が少なくない(例えば、安部, 1973; Sunamura *et al.*, 2011; 環境省, 2013; 佐藤 *et al.*, 2014; 矢澤, 2016)。通常、日本で一般的な砂糖といえば上白糖を指すことが多いため、研究で使用した「砂糖」が、上白糖であるのか、薬品会社が製造するスクロースのみの糖であるかは不明である。これまで研究によれば、上白糖の成分は、97.8%がスクロース、1.3%が転化糖、0.8%が水分、0.02%が灰分であるという(三木, 1994)。さらに上白糖は、アミノカルボニル反応の一種であるメイラード反応を起こすことがあることから、原料に由来するアミノ酸やタンパク質も微量に含まれていると考えられる。アリ類の研究を進める上で、薬品会社の製造するスクロースと上白糖を同じものとして扱って良いのだろうか？

蝶では35~40%(May, 1985; Pivnick & McNeil, 1985)、ミツバチでは60%のスクロース溶液がエネルギー吸収率は最大であるといわれている(Roubik & Buchmann, 1984)。一方、アリにおける糖の給餌実験を伴う研究では、20~25%の砂糖溶液がよく用いられている(安部, 1973; 水野 *et al.*, 1973; Daane *et al.*, 2006; Wada-Katsumata *et al.*, 2011)が、10%や50%の溶液を用いている研究もあり(Klotz & Moss, 1996; Sunamura *et al.*, 2011)、研究によって糖濃度のばらつきが大きく、多くが任意に糖の濃度を選択していると考えられる。もし、糖の種類やその濃度によって選好性が大きく異なるならば、複数の研究成果を統合して解析するメタアナリシスなどが難しくなる。アリ類の砂糖溶液の濃度に関する一貫した知見が得られていないことは重大な課題と言える。

クロヤマアリ(*Formica japonica*)は主に花の蜜や甘露を餌とすることが知られている(吉本 & 山根, 1990; 小澤, 2012)。日本の様々な場所で生息が確認されている最普通種であることから(アリ類データベース作成グループ, 2008)、いろいろな研究の材料として選ばれている(例えば、Fukushi, 2001; Akino *et al.*, 2002, 2004; Aonuma & Watanabe, 2012)。このような背景から、本研究ではクロヤマアリを研究材料にして、スクロースと上白糖に対する選好性に有意な差がみられるかどうかを明らかにすることを研究目的とする。さらに、クロヤマアリの砂糖溶液の濃度に対する選好性も明らかにすることも研究目的とする。

材料と方法

調査地

調査地は愛知県名古屋市にある名古屋市立大学滝子(山の畑)キャンパス(名古屋市瑞穂区瑞穂町, N 35°08'17", E 136°55'35")とその周辺である。このキャンパスは、名古屋市の中心部にありながら豊かな植生に恵まれている。

材料

ヤマアリ亜科(*Formicinae*)ヤマアリ属(*Formica*)クロヤマアリ(*Formica japonica*)は日本全域に生息(アリ類データベース作成グループ, 2008)し、公園や草本群落などによく確認される種である(頭山 & 中越, 1994)。

一般的な砂糖とは、世界的にはグラニュー糖であるのに対し、日本においては上白糖である。上白糖は東洋独自の砂糖で、しっとりした感触を持たせるため、ビスコと称する濃厚転化糖液を振りかけて製造する(三木, 1994)。本研究で用いた上白糖は中部精糖株式会社のものである。また、本研究で用いたスクロースは和光純薬工業株式会社(Wako Pure Chemical Industries, Ltd.)の試薬特級のものである。

実験方法

実験は2015年8月に行った。上白糖を超純水(Milli-Q水, 日本ミリポア株式会社)で溶かし、10%、20%、50%、80%の上白糖溶液を作成した。同様に、スクロース溶液も作成した。ビニール袋に6 cm³のコットンを入れ、そこに各溶液を注ぎ十分に浸るようにした。50%と80%は粘度が高かったため、シャーレにコットンを並べ、すべてのコットンに溶液がしみこむようにした。上白糖とスクロースの各濃度のコットンを、クロヤマアリの巣から均等な距離にランダムに配置した。餌を置いてから40分後に各コットンの溶液を吸っているアリを確認し、その数を数えた。これを1セットとし、全部で10反復行った。アリ類の種間競争の効果を排除するため、クロヤマアリ以外のアリ種が占有している場所は使用しなかった。

解析手法

データ解析はR 2.15.0を用いた。得られた全データを用いて、ポアソンGLMと負の二項分布GLM解析を行なった。さらに、糖ごとにウィルコクソン順位和検定(Pairwise comparisons using Wilcoxon rank sum test)を用いた対比較を行なった。多重比較における p 値補正の方法としてBH法(Benjamini & Hochberg, 1995)を用いた。

また、得られた全データを用いてウィルコクソン順位和検定を用いた対比較を行なった。

結果

ポアソン GLM の AIC は 293.77 (Table 1)、負の二項分布 GLM 解析の AIC は 281.72 であった (Table 2)。AIC が低い、負の二項分布 GLM 解析の結果を以下に述べる。コントロールの水に対して、糖溶液の方にクロヤマアリが有意に集まっていた (Table 2)。しかしスクロース溶液と上白糖溶液の間に、有意な違いは認められなかった (Table 2)。

Table 1 ポアソン GLM の結果

“Sugar solution”はスクロースあるいは上白糖の溶液を指す。括弧内の数値は溶液の濃度を示す。(AIC: 293.77)

Table 1. The result of Poisson GLM. “Sugar solution” means the solution of sucrose or caster sugar. The figures in parentheses indicate solution concentration (%). AIC is 293.77.

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)	
(Intercept)	-1.845	0.584	-3.158	0.0016	**
Sugar solution (10%)	1.897	0.619	3.065	0.0022	**
Sugar solution (20%)	1.946	0.617	3.153	0.0016	**
Sugar solution (50%)	2.686	0.597	4.501	0.0000	***
Sugar solution (80%)	2.079	0.612	3.396	0.0007	***
Caster sugar	-0.107	0.189	-0.567	0.5709	

Signif. codes: 0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1

Table 2 負の二項分布 GLM の結果

“Sugar solution”はスクロースあるいは上白糖の溶液を指す。括弧内の数値は溶液の濃度を示す。(AIC: 281.72)

Table 2. The result of negative binomial GLM. “Sugar solution” means the solution of sucrose or caster sugar. The figures in parentheses indicate solution concentration (%). AIC is 281.72.

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)	
(Intercept)	-1.811	0.613	-2.955	0.0031	**
Sugar solution (10%)	1.875	0.665	2.820	0.0048	**
Sugar solution (20%)	1.947	0.662	2.942	0.0033	**
Sugar solution (50%)	2.698	0.643	4.197	0.0000	***
Sugar solution (80%)	2.074	0.658	3.152	0.0016	**
Caster sugar	-0.175	0.255	-0.685	0.4934	

Signif. codes: 0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1

上白糖溶液を用いた場合の対比較の結果、コントロールの水に対して、濃度 50%と濃度 80%で有意な差が認められた(Table 3)。また、上白糖の濃度 10%に対して、濃度 50%と濃度 80%で有意な差が認められた(Table 3)。スクロース溶液を用いた場合の対比較の結果、コントロールの水に対して、濃度 10%と濃度 50%で有意な差が認められた(Table 4)。

Table 3 上白糖におけるウィルコクソン順位和検定(Pairwise comparisons using Wilcoxon rank sum test)を用いた対比較

多重比較における p 値補正の方法として BH 法(Benjamini & Hochberg, 1995)を用いた。

Table 3. The result of pairwise Wilcoxon rank sum test of the caster sugar. BH (Benjamini & Hochberg, 1995) method is employed as a method for adjusting p -values.

	0% solution	10% solution	20% solution	50% solution
10% solution	0.651	-	-	-
20% solution	0.232	0.347	-	-
50% solution	0.033	0.033	0.232	-
80% solution	0.033	0.067	0.564	0.239

Table 4 スクロースにおけるウィルコクソン順位和検定(Pairwise comparisons using Wilcoxon rank sum test)を用いた対比較

多重比較における p 値補正の方法として BH 法(Benjamini & Hochberg, 1995)を用いた。

Table 4. The result of pairwise Wilcoxon rank sum test of the sucrose. BH (Benjamini & Hochberg, 1995) method is employed as a method for adjusting p -values.

	0% solution	10% solution	20% solution	50% solution
10% solution	0.023	-	-	-
20% solution	0.124	0.425	-	-
50% solution	0.027	0.938	0.425	-
80% solution	0.124	0.660	0.862	0.660

得られた全データを用いて対比較した結果、コントロールの水(スクロースのコントロール、上白糖のコントロールの両方)に対して、スクロースでは濃度 10%で有意な差($P < 0.05$)が見られたものの、上白糖は濃度 10%で有意な差がみられなかった(Table 5)。しかし、コントロールの水(スクロースのコントロール、上白糖のコントロールの両方)に対して、スクロース濃度 50%も、上白糖の濃度 50%も、有意な差($P < 0.05$)が認められた(Table 5)。

Table 5 スクロースと上白糖を用いたウィルコクソン順位和検定(Pairwise comparisons using Wilcoxon rank sum test)を用いた対比較

多重比較における p 値補正の方法として BH 法(Benjamini & Hochberg, 1995)を用いた。S はスクロース、C は上白糖を示す。その前の数値は溶液の濃度を示す。

Table 5. The result of pairwise Wilcoxon rank sum test of the caster sugar and sucrose. BH (Benjamini & Hochberg, 1995) method is employed as a method for adjusting p -values. “S” indicates the sucrose. “C” indicates the caster sugar. The figures 0, 10, 20, 50, and 80 indicate solution concentration.

	0_S	0_C	10_S	10_C	20_S	20_C	50_S	50_C	80_S
0_C	0.690	-	-	-	-	-	-	-	-
10_S	0.039	0.045	-	-	-	-	-	-	-
10_C	0.451	0.737	0.060	-	-	-	-	-	-
20_S	0.160	0.281	0.425	0.425	-	-	-	-	-
20_C	0.164	0.313	0.425	0.431	1.000	-	-	-	-
50_S	0.045	0.056	0.960	0.084	0.425	0.472	-	-	-
50_C	0.039	0.045	0.629	0.056	0.281	0.281	0.629	-	-
80_S	0.155	0.281	0.629	0.376	0.831	0.831	0.642	0.392	-
80_C	0.039	0.056	0.476	0.100	0.737	0.635	0.431	0.358	0.960

考察

解析において、ポアソン GLM と負の二項分布 GLM 解析を行なったが、負の二項分布 GLM のほうで AIC が低く、予測の観点で良いモデルであった。負の二項分布 GLM を用いた解析の結果、クロヤマアリではスクロースと上白糖の選好性に関して、有意な違いは認められなかった。しかし、糖ごとにウィルコクソン順位和検定を用いた対比較の結果、上白糖ではコントロールの水に対して 50%、80%、スクロースでは 10%、50%の砂糖溶液で有意な差が認められた。さらに、2種類の糖をまとめてウィルコクソン順位和検定を用いた対比較も行なったところ、上白糖ではコントロールの水に対して 50%、スクロースでは 10%、50%の砂糖溶液で有意な差が認められた。このことから、上白糖とスクロースに対するクロヤマアリの選好パターンは、濃度によって異なる可能性が示唆された。今後、異なる研究を比較・考察する時や、メタアナリシスなどを行なう時は、上白糖とスクロースを同等と扱ってよいかを慎重に検討する必要があると考えられた。

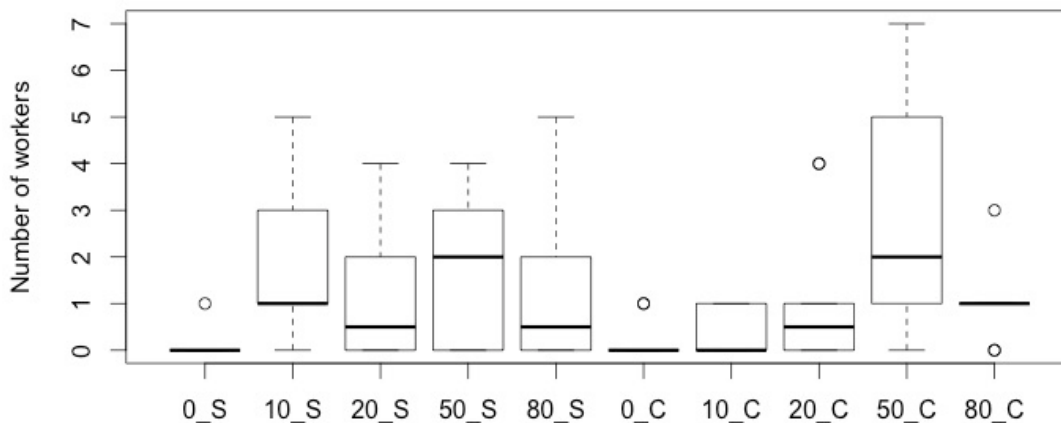
本研究のデータを概観すると(Fig. 1, Table 5)、以下の仮説が考えられる。スクロースでは低濃度でもクロヤマアリは甘みを感知することができるが、上白糖では濃度が高まると甘みを感じやすくなる、という仮説である。今後はコトンの面積を大きくして、クロヤマアリがより近寄りやすい実験条件でこの仮説を検証したいと考えている。また、砂糖を溶かす時間の長さや、その時の水温が、アリ類の行動に影響を与えていることも考えられることから、こういった事柄を考慮した実験計画を立てたいと考えている。

先行研究から、複数のアリ種で、訪れるワーカー数は砂糖溶液の濃度とともに上昇することが知られている(Blüthgen & Fiedler, 2004)。クロヤマアリの今回の結果をみると、上白糖もスクロースも 50%という高濃度に選好性が高いものの、ともに濃度の変化とともに選好性が単純に上昇しているわけではなさそうである。また本研究のデータには、外れ値と考えられる数値が見られた。クロヤマアリの糖の選好性に関しては、反復回数を増やしたり、別の季節にも実験を行ったりするなど、さらなる実験を行なう必要があると考えられた。また、気温や日当たり、時間などの環境要因もデータ化し、アリの詳細な行動についてもデータ化する必要があると考えている。

Fig. 1 2種の糖類と、その濃度に対するクロヤマアリの選好性

Sはスクロース、Cは上白糖を示す。X軸の数値は溶液の濃度を示す。Y軸はコットン上のクロヤマアリのワーカー数を示す。

Fig. 1. The preference of *Formica japonica* for two types of sugar and four levels of concentration. “S” indicates the sucrose and “C” indicates the caster sugar. The combinations of solution concentration and sugar types are shown in the X-axis (e.g., “10_S” means 10% sucrose solution). Y-axis shows the number of worker of *Formica japonica* on the cotton.



謝辞

本論文を作成するにあたり、名古屋市立大学大学院システム自然科学研究科の先生方から様々なご配慮を賜りました。ここに感謝の意を表します。

引用文献

- 安部琢哉 1973. 草地に生息する 4 種アリ間の食物分配について (2)蜜へのアリの集まり方. *琉球大学理工学部紀要 理学編*. 16, 232–245.
- Akino, T., Terayama, M., Wakamura, S. & Yamaoka, R. 2002. Intraspecific variation of cuticular hydrocarbon composition in *Formica japonica* Motschoulsky (Hymenoptera: Formicidae). *Zoological Science*. 19, 1155–1165.
- Akino, T., Yamamura, K., Wakamura, S. & Yamaoka, R. 2004. Direct behavioral evidence for hydrocarbons as nestmate recognition cues in *Formica japonica* (Hymenoptera: Formicidae). *Applied Entomology and Zoology*. 39, 381–387.
- Aonuma, H. & Watanabe, T. 2012. Octopaminergic system in the brain controls aggressive motivation in the ant, *Formica japonica*. *Acta Biologica Hungarica*. 63, 63–68.
- Benjamini, Y. & Hochberg, Y. 1995. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society Series B*, 57, 289–300.
- Blüthgen, N. & Fiedler, K. 2004. Preferences for sugars and amino acids and their conditionality in a diverse nectar-feeding ant community. *Journal of Animal Ecology*. 73, 155–166.
- Daane, K. M., Sime, K. R., Hogg, B. N., Bianchi, M. L., Cooper, M. L., Rust, M. K. & Klotz, J. H. 2006. Effects of liquid insecticide baits on Argentine ants in California's coastal vineyards. *Crop Protection*. 25, 592–603.
- Fukushi, T. 2001. Homing in wood ants, *Formica japonica*: use of the skyline panorama. *Journal of Experimental Biology*. 204, 2063–2072.
- Hojo, M. K., Yamamoto, A., Akino, T., Tsuji, K. & Yamaoka, R. 2014. Ants use partner specific odors to learn to recognize a mutualistic partner. *PLoS ONE*. 9, e86054.
- Josens, R. B., Farina, W. M. & Roces, F. 1998. Nectar feeding by the ant *Camponotus mus*: intake rate and crop filling as a function of sucrose concentration. *Journal of Insect Physiology*. 44, 579–585.
- 環境省 2013. アルゼンチンアリ防除の手引き(全国版). 環境省自然環境局防除に関する手引き. <https://www.env.go.jp/nature/intro/4control/tebiki.html>
- Klotz, J. H. & Moss, J. I. 1996. Oral toxicity of a boric acid-sucrose water bait to Florida carpenter ants (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Entomological Science*. 31, 9–12.
- Mailleux, A. C., Deneubourg, J. L. & Detrain, C. 2000. How do ants assess food volume?.

- Animal Behaviour*. 59, 1061–1069.
- May, P. G. 1985. Nectar uptake rates and optimal nectar concentrations of two butterfly species. *Oecologia*. 66, 381–386.
- 三木健 1994. 砂糖の種類と特性. *応用糖質科学*. 41, 343–350.
- 水野卓, 西垣定治郎, 竹内一男 & 松香光夫 1973. 昆虫によるホルモース糖の利用試験. *日本農芸化学会誌*. 47, 327–332.
- アリ類データベース作成グループ 2008. 全国のアリ(種)のイメージ検索. 日本産アリ類画像データベース. http://ant.edb.miyakyo-u.ac.jp/J/Find/J_ALL.html
- 小澤朗人 2012. ササゲの花外蜜腺に集まるアリはカメムシから莢果を守れるか?. *関西病虫害研究会報*. 54, 41–45.
- Pivnick, K. A. & McNeil, J. N. 1985. Effects of nectar concentration on butterfly feeding: measured feeding rates for *Thymelicus lineola* (Lepidoptera: HesperIIDae) and a general feeding model for adult Lepidoptera. *Oecologia*. 66, 226–237.
- Roubik, D. W. & Buchmann, S. L. 1984. Nectar selection by *Melipona* and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) and the ecology of nectar intake by bee colonies in a tropical forest. *Oecologia*. 61, 1–10.
- 佐藤愛子, 青井俊樹 & 安江悠真 2014. 岩手県遠野市におけるアリ類の生息状況 –夏期のツキノワグマの餌資源としての視点から–. *岩手大学農学部演習林報告*. 45, 81–97.
- Silverman, J. & Roulston, T. H. 2001. Acceptance and intake of gel and liquid sucrose compositions by the Argentine ant (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Economic Entomology*. 94, 511–515.
- Sunamura, E., Suzuki, S., Nishisue, K., Sakamoto, H., Otsuka, M., Utsumi, Y. Mochizuki, F., Fukumoto, T., Ishikawa, Y., Terayama, M. & Tatsuki, S. 2011. Combined use of a synthetic trail pheromone and insecticidal bait provides effective control of an invasive ant. *Pest Management Science*. 67, 1230–1236.
- 頭山昌郁 & 中越信和 1994. 都市緑地の構造とアリ類の棲息. *日本緑化工学会誌*. 20, 13–20.
- Wada-Katsumata, A., Yamaoka, R. & Aonuma, H. 2011. Social interactions influence dopamine and octopamine homeostasis in the brain of the ant *Formica japonica*. *Journal of Experimental Biology*. 214, 1707–1713.
- 矢澤佑 2016. 小笠原諸島への外来種侵入のリスクに関する研究 東京港におけるアリ類に注目して. *世界遺産学研究*. 1, 86–89.
- 吉本徹 & 山根正気 1990. 桜島の大正溶岩地帯におけるアリの食餌内容. *鹿児島大学理学部紀要 地学・生物学*. 23, 9–22.