

環動昆

報 文

- 関谷善行：神戸市太山寺照葉樹林地帯周辺におけるチョウ類
群集の季節消長の再調査…………… 75
- 板倉修司・田中裕美・榎 章郎：イエシロアリのミトコンド
リアにおける活性型および不活性型ビルビン酸デ
ヒドロゲナーゼ複合体の活性（英文）…………… 87
- 木村大輔・宇賀昭二：兵庫県千種川上流域における
Centrocestus 属（吸虫：異形吸虫科）の疫学調査
1. 第一中間宿主貝における寄生状況…………… 97
- Chow-Yang Lee・Jocelyn Yap・Peng-Soon Ngee・Zairi Jaal：
マレーシアにおける塚構築地下生息性高等シロア
リ *Globitermes sulphureus* (Haviland) の採餌コロ
ニー（英文）…………… 105
- 鶴石 達・吉田利男：長野県中部の山地溪流におけるオオナ
ガレトビケラ幼虫と蛹の石表面の付着位置と幼虫
の消化管内容物…………… 113
- 短 報
- 辻 英明：ゴキブリ用粘着トラップの入り口の状態と捕獲効
率…………… 119
- 解 説
- 和田安彦：自然環境に配慮した河川整備 — その背景と実
際の工法 —…………… 123
- 会 報…………… 133
- 投稿規定…………… 135

Vol. 14

2

日本環境動物昆虫学会

2003

神戸市太山寺照葉樹林地帯周辺における チョウ類群集の季節消長の再調査

関谷善行

神戸市立西神中学校

(受領 : 2002年 8月17日 ; 受理 : 2003年 2月21日)

Re-investigation of Seasonal Prevalence of Butterflies in Laurel Forest around Taisan-ji Temple in Kobe City. Yoshiyuki Sekiya (Seishin Junior High School, Takenodai Nishi, Kobe 651-2274, Japan) *Jpn. J. Environ. Entomol. Zool.* **14** : 75-85 (2003)

Transect counts of butterflies were made in Taisan-ji Temple in Kobe City 11 times between April and October 1998. This research was a more detailed study than one done in 1996. The transect route was divided into three sections : X1, 1.2 km of open land, X2, 0.5 km of laurel forest, and X3, 1.1 km of forest edge. A total of 217 individuals belonging to 33 species were recorded. The diversity index, H' , was highest in the forest edge at 3.87, the index was 3.49 for the section in open land, and 3.38 in the laurel forest. *ER* analysis showed that X1 could be classified as being in the urban stage, X2 in the primeval stage, and X3 in the afforestation stage. These results suggest that the diversity in the laurel forest was low but most unaffected by human influence. Illumination intensity at points where butterflies were found was measured also. The open land was intensely illuminated in autumn, the laurel forest was illuminated dimly in summer, and the forest edge had moderate illumination intensity at all times during the survey.

Key words : Butterfly community, Laurel forest, Illumination intensity, Transect count

神戸市太山寺周辺地域において1998年4月から10月にかけてチョウ類群集の調査をした。以前の1996年の調査より調査回数を増やし、2.8kmの調査地域も細区分して周辺のオープンランドをX1 (1.2km)、林内部をX2 (0.5km)、林縁部をX3 (1.1km)として詳しい分析を実施した。調査はトランセクト法により、月平均2回、合計11回実施し、合計8科33種217個体のチョウ類を確認した。多様度指数 H' は細区分したX1では3.49、X2では3.38、X3では3.87であった。ERによる解析では、X1が都市段階、X2が原始段階、X3が二次段階をそれぞれ示した。この結果、照葉樹林

の原生林内部において、多様度は低いが自然度が高いことが示唆された。さらに、チョウが目撃された地点の照度を測定し、調査日による比較分析したところ、X1のオープンランドにおいては、秋期に比較的高い照度で、X2の林内部においては、夏期に比較的低い照度で、X3の林縁部においては、比較的平均的な照度でチョウ類群集が活動していることが示唆された。

はじめに

チョウ類群集解析については、今まで、解析方法そのものの検討の研究（田中，1988；巢瀬，1993；服部ら，1997；中村，2000），それぞれの地域でのチョウ類群集の解析の研究（今井ら，1996；夏原ら，1996；石井，1996；本田，1997；吉田，1997；関谷，1998），および群集動態の要因の研究（田下・市村，1997；関谷，1999，2000；北原，1999，2000，2001）の3つの方向の研究がなされているようである。その中で、群集動態の要因については、吸蜜資源や食草，温度，湿度，光の条件（照度，日陰の割合など），標高，植生状態など様々な原因が複雑に関係し合っていると考えられている。著者は、光の条件に着目し、これまでにチョウ類が夏期には比較的低い環境（林内）に多く見られ、逆に比較的高い環境（オープンランド）では減る傾向があることを報告した（関谷，1999）。それを裏付けるため、神戸市の照葉樹林地帯2カ所において、チョウ類を観察した地点の照度と季節消長についての関係をILI指数を算出して分析した（関谷，2000）。しかし、調査回数と観察個体数が少ないことから十分な考察が行えなかった。一方、チョウ類群集の多様性について論じられているのは雑木林周辺（石井，1996；本田，1997；関谷，1998，1999）や都市公園周辺（今井ら，1996；夏原ら，1996，吉田，1997）あるいは草原地帯（北原，1999，2000，2001）であることが多く、照葉樹林地帯での調査は少ないようである。そこで調査地を極相林である太山寺ルートにしほり，調査回数を5回から11回に増やした。さらに、ルートを環境別にオープンランド，林内部，林縁部と3

ルートに分けて、照度，個体数，種数の変動等について細分析をしてみた。

調査地および調査方法

1. 調査地

神戸市西区太山寺周辺（図1）の約2.8kmのルートをその環境に応じて、オープンランド（X1），林内部（X2），林縁部（X3）の3つに区分した。X1は水田と農道その周辺の比較的高い1.2kmのルート，X2はコジイ（*Castanopsis cuspidate* (Thunb.) Schottky），を主とする照葉樹林とウバメガシ（*Quercus phillyraeoides* A. Gray），を主とする硬葉樹林の2種類の自然林からなる原生林（服部ら，1996）の林内部の比較的低い0.5kmのルート，X3はX2の林周辺の河川の測道を中心とした明るさに関しては中間的な1.1kmのルートである。

2. 調査方法

1998年の4月から10月にかけて月1～2回，計11回の調査を実施した。調査法としては、トランセクト法（石井，1996）を採用し、晴天，微風，気温15℃以上の午後1時～3時，調査ルートを1人で歩きながら左右5m高さ5mの範囲内で目撃したチョウ類の種類と個体数を記録した。なお，捕獲同定できなかった個体については記録から除外した。また，日陰の部分の距離を歩数で測定（関谷，1999）し，コース全体に占める日陰の割合（%）を推定した。また，チョウ類を目撃した全地点でその時の照度（lux）を照度計（YAGAMI LX-222）で測定した。

3. データ解析法

得られたデータを集積し，調査区別に，目撃総

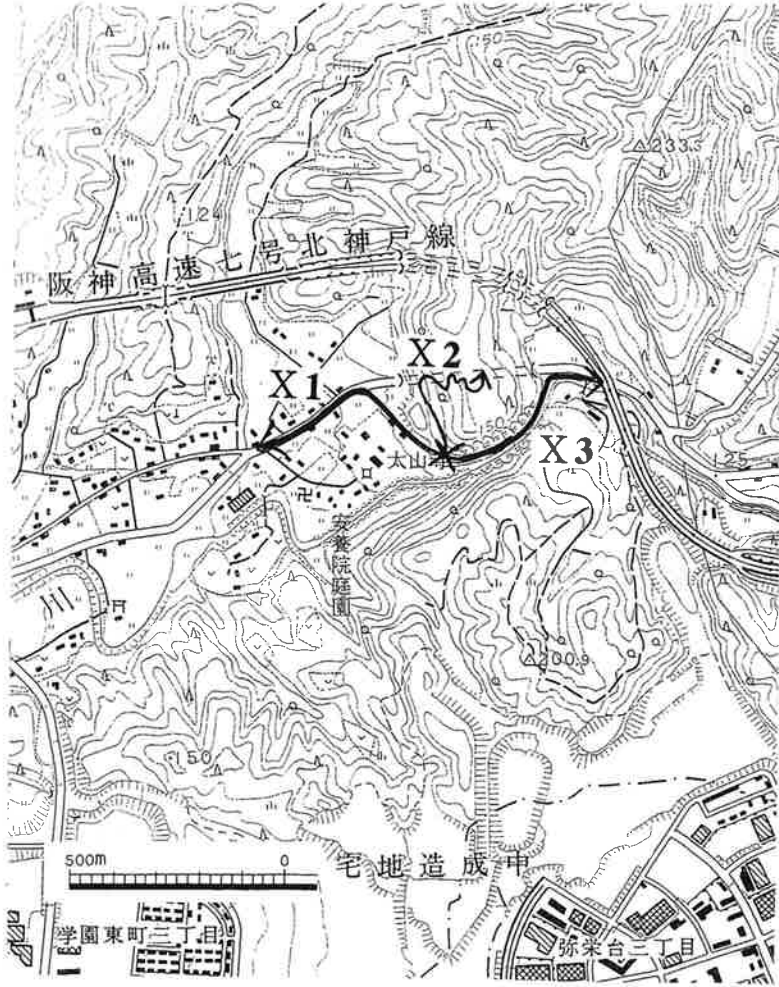


図1 神戸市太山寺周辺ルート。

種数, 個体数, 1kmあたりの個体数, 多様度指数, 各調査区間の種数を求めた. 種多様度については, Shannon 関数 (H' : 平均多様度), Pielou の均衡性指数 (J' : 相対多様度), Simpson の多様度指数 (SID) を算出した. また, 環境階級存在比 (ER) (田中, 1988) を求めた.

各指数の算出は次の各式によった (木元・武田, 1989).

$$H' = -\sum (n_i/N) \cdot \log_2 (n_i/N)$$

$$J' = -H'/\log_2 S$$

$$SID = 1 - \sum \{n_i (n_i - 1) / N (N - 1)\}$$

ただし, N : 総個体数, n_i : i 番目の種の個体数, S :

総種数.

$$ER = (\sum x_i T_i I_i) / (\sum T_i I_i)$$

ただし, $x_i = i$ 番目の種類の各環境段階 (X : α , 原始段階; β , 二次段階; γ , 三次段階; δ , 都市段階) の生息分布度, $T_i = i$ 番目の種類の年間補正総個体数, $I_i = i$ 番目の種類の指標値, 算出された各段階における ER 値は合計が10となり, 各段階がどのような割合で分布するかによってその環境を判断する.

さらに, チョウを目撃した地点での照度 (lux) の値を対数変換し, その平均値を照度対数変換値 (ILI : Illumination intensity index) として求め,

比較検討した。比較検討には、一元配置分散分析 *F* 検定 (前野・三国, 2001) を使用した。

$$ILI = \sum \log I/N$$

ただし、*N*: 総個体数, *I*: そのチョウを確認した地点の照度。

結 果

1. 種数と個体数

3 ルート合わせて 8 科 33 種 217 個体のチョウ類が確認された。X1 では 7 科 22 種 108 個体 (表 1), X2 では 7 科 14 種 30 個体 (表 2), X3 では 6 科 20 種 79 個体であった (表 3)。

2. 種構成および上位種の優占率

X1 から X3 の 3 つのルートで共通に見られた種は、ジャコウアゲハ、モンキアゲハ、キチョウ、コムスジの 4 種であった。上位 5 種の優占率は X1 では 73.2%, X2 では 69.9%, X3 では 56.9% とな

り、林縁部で優占率が低い結果となった (表 4)。

3. 種多様度および環境階級存在比 (ER)

3 つのルートの種多様度指数を表 5 に示した。J' と SID に関しては X1 から X3 にかけて、つまり、オープンランドから林内部、林縁部にかけて順に高くなる結果になり、H' は林内が最も低くなる結果となった。また、年間総補正個体数 (1 km 当たり) とそれぞれの種の生息分布度と指標値から 3 つのルートの ER (田中, 1988) を算出した。その結果、X1 が日浦 (1973) のいう都市的自然 (都市段階) を示し、X2 が原始的自然 (原始段階), X3 が農村的自然 (二次段階) を示した (図 2)。

4. 個体数と種数の季節消長

図 3 に 3 つのルートでの個体数と種数の季節消長を示した。オープンランドである X1 では夏期に比較的少ない傾向を示し、林内部の X2 では夏期に 7 月を中心にした 1 つのピークを示した。

表 1 X1 における調査結果および補正個体数

大山寺周辺農村地帯 (オープンランド) X1	4月		5月		6月		7月		8月		9月		10月		合計	補正値 / km
	4.11	4.29	5.23	5.31	6.28	7.18	7.29	8.18	8.29	9.12	10.11					
ジャコウアゲハ <i>Byasa alcinous</i> Klug			1												1	2.22
アオスジアゲハ <i>Graphium sarpedon</i> Linnaeus			1		1	1				1					4	8.89
キアゲハ <i>Papilio machaon</i> Linnaeus				1	1	1									3	6.67
ナミアゲハ <i>Papilio xuthus</i> Linnaeus	1	1			1	3	1	1		2		2			12	26.67
モンキアゲハ <i>Papilio helenus</i> Linnaeus							1					1			2	4.44
クロアゲハ <i>Papilio protenor</i> Linnaeus		1								1					2	4.44
モンキチョウ <i>Colias erate</i> Esper		1	1	3											5	11.11
キチョウ <i>Eurema hecabe</i> Linnaeus			1							1	2	1			5	11.11
モンシロチョウ <i>Pieris rapae</i> Linnaeus	7	3	5	4	1	1	1				3	8		33	73.33	
ベニシジミ <i>Lycaena phlaea</i> Linnaeus	1						2	2	1	1					7	15.56
ウラナシジミ <i>Lampides boeticus</i> Linnaeus													4	4	8.89	
ヤマトシジミ <i>Zizeeria maha</i> Kollar			1				2	1	1	1	5	6		17	37.78	
ルリシジミ <i>Celastrina argiolus</i> Linnaeus				1										1	2.22	
ツバメシジミ <i>Everes argiades</i> Pollas	2													2	4.44	
ウラギンシジミ <i>Curetis acuta</i> Moore					1						1			2	4.44	
テングチョウ <i>Libythea celtis</i> Laicharting	1													1	2.22	
コムスジ <i>Neptis sappho</i> Pollas		1				1								2	4.44	
ホシミスジ <i>Neptis pryri</i> Butler					1									1	2.22	
キタテハ <i>Polygonia c-aureum</i> Linnaeus											1			1	2.22	
コムラサキ <i>Apatura metis</i> Freyer					1									1	2.22	
ヒメウラナミジャノメ <i>Ypthima argus</i> Butler					1									1	2.22	
チャバネセセリ <i>Pelopidas mathias</i> Fabricius													1	1	2.22	
個 体 数	12	10	9	9	9	10	5	2	7	15	20	108		240.0		
種 数	5	8	5	4	7	8	4	2	6	7	5	22				

表2 X2における調査結果および補正個体数

太山寺林内部X2	4月		5月		6月	7月		8月		9月	10月	合計	補正值 /km
	4.11	4.29	5.23	5.31	6.28	7.18	7.29	8.18	8.29	9.12	10.11		
ジャコウアゲハ <i>Byasa alcinous</i> Klug					1							1	2.08
モンキアゲハ <i>Papilio helenus</i> Linnaeus			1	1			1			1		4	8.33
クワイアゲハ <i>Papilio protenor</i> Linnaeus								1		1		2	4.17
カラスアゲハ <i>Papilio bianor</i> Cramer						1						1	2.08
キチョウ <i>Eurema hecabe</i> Linnaeus											1	1	2.08
トラフレンジ <i>Rapala arata</i> Bremer	1											1	2.08
コミスジ <i>Neptis sappho</i> Pollas								1				1	2.08
アリキマダラ <i>Parantica sita</i> Kollar												1	2.08
ヒカゲチョウ <i>Lethe stells</i> Hewitson									1	1		1	2.08
サトキマダラヒカゲ <i>Neope goschkevitschii</i> Menetries						1	4	1				7	14.58
ヒメジャノメ <i>Mycalopsis gotama</i> Moore						4			1			4	8.33
コジャノメ <i>Mycalopsis francisca</i> Stoll			1	1			1	1				4	8.33
キマダラセセリ <i>Potanthus flavus</i> Murray										1		1	2.08
イチモンジセセリ <i>Parnara guttata</i> Bremer & Grey								1				1	2.08
個体数	1	0	2	2	1	6	6	5	2	4	1	30	62.50
種数	1	0	2	2	1	3	3	5	2	4	1	14	

表3 X3における調査結果および補正個体数

太山寺林縁部X3	4月		5月		6月	7月		8月		9月	10月	合計	補正值 /km
	4.11	4.29	5.23	5.31	6.28	7.18	7.29	8.18	8.29	9.12	10.11		
ジャコウアゲハ <i>Byasa alcinous</i> Klug			1									1	2.50
アオスジアゲハ <i>Graphium sarpedon</i> Linnaeus				1	1	2	1	2	1			8	20.00
クワイアゲハ <i>Papilio xuthus</i> Linnaeus				1				1		1	1	4	10.00
モンキアゲハ <i>Papilio helenus</i> Linnaeus		1		1		1						3	7.50
モンキチョウ <i>Collas erate</i> Esper				1								1	2.50
キチョウ <i>Eurema hecabe</i> Linnaeus		2	1			1			1	2	2	9	22.50
モンシロチョウ <i>Pieris rapae</i> Linnaeus	1	3		1								5	12.50
ウラナシシジミ <i>Lampides boeticus</i> Linnaeus											1	1	2.50
ヤマシシジミ <i>Zacerta maha</i> Kollar					1	2			6		2	11	27.50
ホリシジミ <i>Celastrina argiolus</i> Linnaeus			8	1								9	22.50
ツバメシジミ <i>Everes arglades</i> Pollas	1											1	2.50
ウラギンシジミ <i>Curetis acuta</i> Moore				2	1		1		1			5	12.50
イチモンジチョウ <i>Ludoga camilla</i> Linnaeus						1			1	1		3	7.50
コミスジ <i>Neptis sappho</i> Pollas			1	1	1	2	1		1	1		8	20.00
ヒメアカタテハ <i>Cynthia cardui</i> Linnaeus					1							1	2.50
ヒメウラナシ <i>Ypthima argus</i> Butler		1								2		3	7.50
ヒカゲチョウ <i>Lethe stells</i> Hewitson										1		1	2.50
サトキマダラヒカゲ <i>Neope goschkevitschii</i> Menetries			2									2	5.00
ヒメジャノメ <i>Mycalopsis gotama</i> Moore									1			1	2.50
チャバネセセリ <i>Pelopidas mathias</i> Fabricius											2	2	5.00
個体数	2	11	13	6	4	9	3	3	15	5	8	79	197.5
種数	2	7	5	6	4	6	3	2	9	4	5	20	

表4 3つのルートにおける上位5種の1km当たりの目撃個体数と優占率

順位 ¹⁾	X1ルート	X2ルート	X3ルート
1	モンシロチョウ 73.3 (33) ²⁾	サトキマダラヒカゲ 14.6 (7)	ヤマトシジミ 27.5 (11)
2	ヤマトシジミ 37.8 (17)	モンキアゲハ 8.3 (4)	キチョウ 22.5 (9)
3	ナミアゲハ 26.7 (12)	ヒメジャノメ 8.3 (4)	ルリシジミ 22.5 (9)
4	ベニシジミ 15.6 (7)	コジャノメ 8.3 (4)	アオスジアゲハ 20 (8)
5	モンキチョウ, キチョウ 11.1 (5), 11.1 (5)	クロアゲハ 4.2 (2)	コムスジ 20 (8)
a	175.6 (79)	43.7 (21)	112.5 (45)
b	240 (108)	62.5 (30)	197.5 (79)
c	73.2	69.9	56.9

1) a = 5種の1km当たり目撃個体数の合計 (5種の目撃個体数の合計), b = 全種の1km当たり目撃個体数の合計 (全種の目撃個体数の合計), c = 5種の優占率 (a/b, %).
2) () 内は目撃総個体数.

表5 太山寺ルートX1~3までの多様度指数

調査ルート	平均多様度 (H')	相対多様度 (J')	Simpson 指数 (SID)
X1 (オープンランド)	3.49	0.78	0.86
X2 (林内部)	3.38	0.89	0.91
X3 (林縁部)	3.87	0.89	0.93

5. 日陰の割合および照度

調査ルートの日陰の割合を表6に示した。X1が10%, X2が89%, X3が46%であった。次にチョウを目撃した地点でのそのときの照度の度数分布を測定してまとめた結果が表7である。特にX2で低い照度で確認された様子がはっきりしている。さらに、個体数と照度、調査日時の間を関数を図4に示した。X1では9月から10月の秋期に比較的高い照度で、X2では7月から8月の夏期に比較的低い照度で、X3では平均的な分布を示した。

6. 照度対数変換値 (ILI) の比較

それぞれの調査ルートでILIを算出し、グラフとして図5に示した。X1, X3ではともに6月を最低値として4.8付近に集中しているのに対し、

X2では6月から8月にかけて極端に小さい値になっており、2つのルートと明らかな違いを見せた。F検定でも、X1とX2, X2とX3でそれぞれで有意差が認められた(表8)。また、月毎では、6月、7月、8月の値が比較的低く、4月と6月、4月と9月、6月と10月に有意な差が見られ、X2では値の低さが顕著であった。

7. チョウの科別照度対数変換値 (ILI) の比較

チョウの科別にILIを比較してみたものが表9である。すべての科がすべてのルートで確認されているわけではないが、X1とX3で、アゲハチョウ科、シロチョウ科、シジミチョウ科、タテハチョウ科についての比較ができた。それによると、どの科でも4月の数値が比較的高く、6月、8月で低

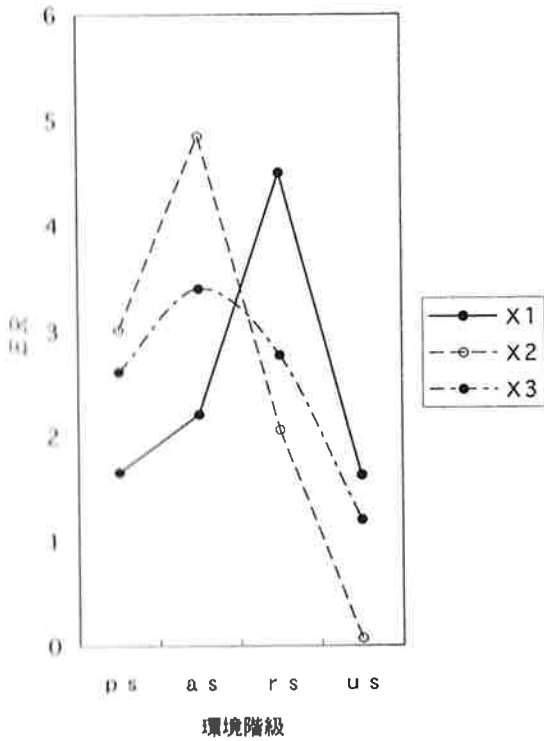


図2 ER.

表6 3つのルートの日陰の割合

調査ルート	日陰の割合 (%)	環境
X1	10	水田を中心とした農耕地帯
X2	89	照葉樹林の内部
X3	46	照葉樹林の林縁部

かった。

考 察

1. 調査ルートの特徴

先の報告(関谷, 2000)でも示したように、太山寺周辺は植生的には極相林である。周辺部は、道路の拡張工事、農地の開発等が進められ、自然環境保全地域ではあるが、太山寺周辺のごく一部しか照葉樹であるコジヤウバメガシの原生林が残されていない。今回の調査は、以前のルートをより細分化し、調査回数を増やして実施した。そ

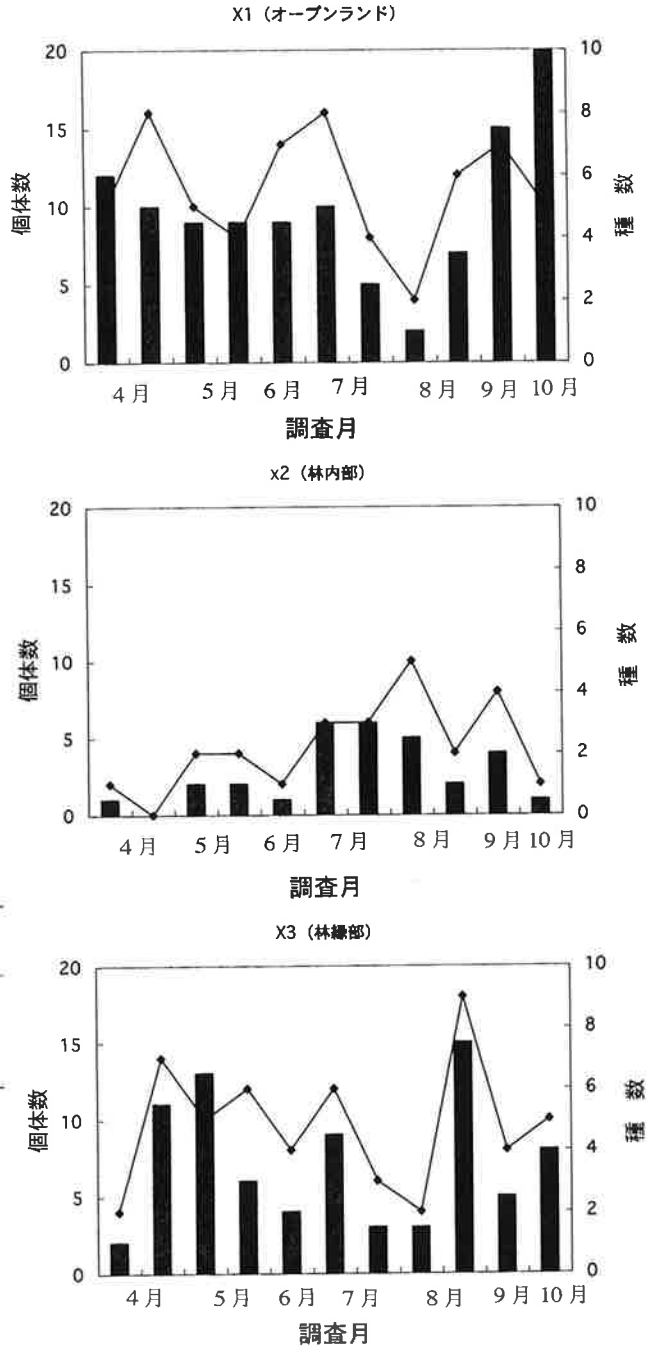


図3 個体数と種数の季節消長。

の結果、確認されたチョウ類の種数、個体数ともに増加し、環境別にデータ分析をより詳しく行うことができた。環境については、X1が農村地帯の

表7 チョウが観察された地点の照度 (lux) の度数分布

X1 (lux)	春期 (4~5)	夏期 (6~8)	秋期 (9~10)
0~5万	2	10	1
5~10万	11	16	34
10~15万	27	7	0

X2 (lux)	春期 (4~5)	夏期 (6~8)	秋期 (9~10)
0~5万	2	19	3
5~10万	2	1	2
10~15万	1	0	0

X3 (lux)	春期 (4~5)	夏期 (6~8)	秋期 (9~10)
0~5万	10	25	2
5~10万	16	7	11
10~15万	6	2	0

オープンランド, X2が原生林内部, X3が原生林の林縁部とはっきり区別した. 特に林内部のX2では, 種多様度の H' はX3より低いものの, ERでは日浦(1973)のいう自然段階で原始的自然(原始段階)に区別され, 原生林内では多様度は低いが自然度が高いという春日山原生林域(田中, 1988)と同じような結果となった. 確認されたチョウ類の種も比較的暗い環境を好むとされている(川副・若林, 1991) ジャノメチョウ科が上位5種のうち3種を占め, 他ルートとのチョウ類相のちがいがはっきりしていた. さらに, 農村地帯のオープンランドであるX1ではキャベツ畑由来のモンシロチョウが上位(33%)を占め, ERでも都市段階を示し, 著者が以前に報告したように(関谷, 1998)農村部ではチョウ類群集の単純化が進んでいるようである. また, X3では林縁部ということもあり, ERでこそ二次段階を示したが, 多様度は比較的高く, 里山周辺の先行調査(石井, 1996; 本田, 1997; 関谷, 1998, 1999)と同様の結果となった. このことより, チョウ類群集は, 森林の内部より林縁部の方が多様性に富むこと, 農村地帯では単純化が進んでいることがより, 明確になった. ただ, 環境の細分化のため, 調査ルー

トが短くなり, 確認個体数, 種数ともあまり多くなかった. その改善策として調査回数を増やすことは今後の課題である.

2. 照度とチョウ類の季節消長

調査ルートでの日陰の割合は, それぞれX1で10%, X2で89%, X3で46%であった. 図3の結果と照らし合わせると, X1の比較的明るい環境では4月や9月の春期と秋期に, チョウ類の個体数, 種数が多く, X2の比較的暗い環境では7月~8月の夏期に個体数, 種数が増加するという今までの傾向(関谷, 1998, 1999, 2000)と同様の結果を示した. さらに, 照度との比較では, 比較的暗い環境のX2ではX1とX3に比べ, 低い照度でチョウ類が観察され, 特に8月にその傾向が強まった(図4). つまり, チョウ類が夏期に比較的暗い, 照度の低い環境で活動しているということが分析結果より示唆された. さらに, ILIの比較検討(図6, 表8)でも, そのことが裏付けられた. 上で述べたチョウ類が林縁部で多く活動している理由は, 北原(2000)の指摘の通り成虫の餌資源が豊富であることも考えられるが, 林縁部が明るい環境と暗い環境の境界にあたり, そのいわゆるエコトーンでチョウ類の吸蜜資源である花が多く見

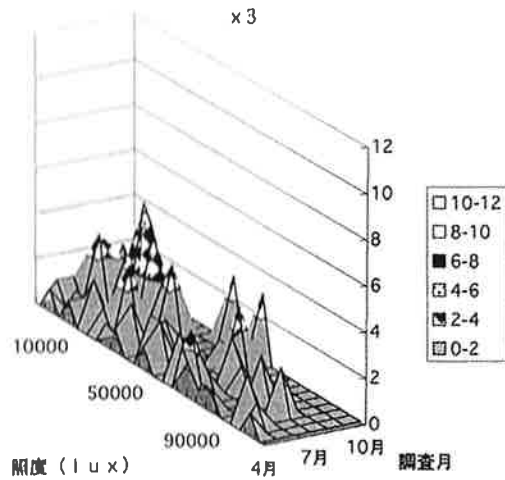
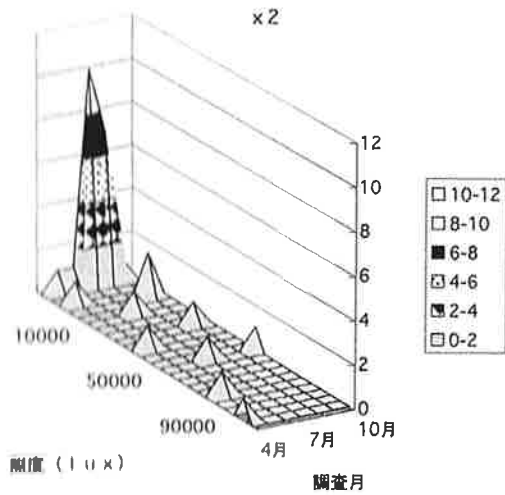
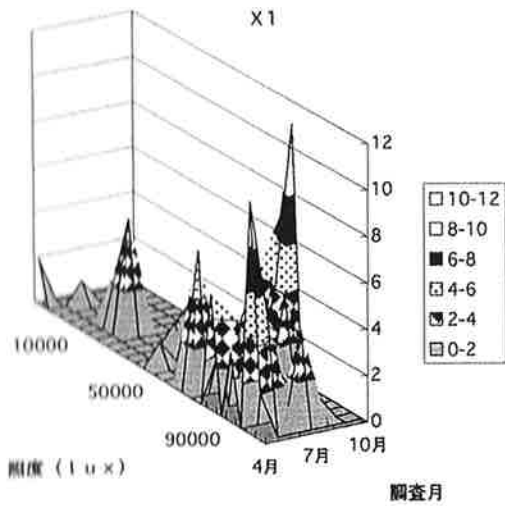


図4 個体数と照度、調査日の関係。

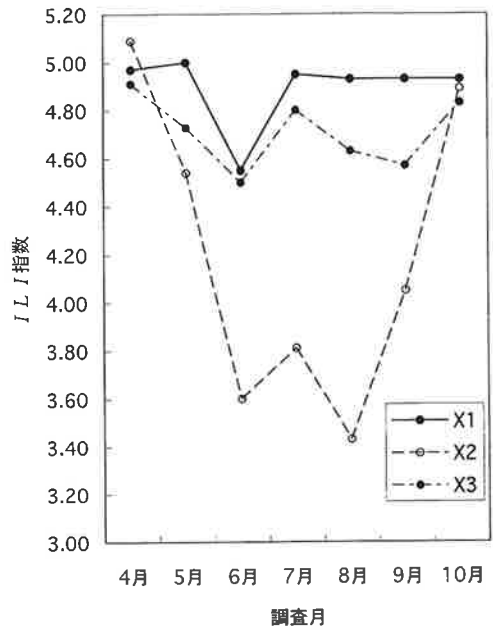


図5 ILI 指数の季節変化。

られることやチョウ類の活動が確認しやすいことも一つの要因と考えられる。また、8月にはアオスジアゲハなどのアゲハチョウ科を中心に、高い照度でも活動している種がいて、以前の報告（関谷, 2000）のように種によるばらつきが見られた。このことを考え合わせると、8月という高温、高い照度等の厳しい環境条件のもとでは、夏眠する種や発生そのものを春期と秋期にずらしたりする種があり、南方系由来、北方系由来というように種の遺伝的特性が関係しているのではないかと考えられ、興味深い。今回は照度を中心に考察しているが、照度に伴う温度変化も影響しているのではないかと考えられさらなる調査が必要である。次に、科別のILIの比較であるが、科別では、4月の春期に比較的高く6月や8月の夏期で低い傾向が見られ、先ほどの示唆を裏付けていたが、科の中でもアゲハチョウ科のようにアオスジアゲハは比較的高い照度でも見られたり、モンキアゲハやクロアゲハのように黒っぽいアゲハでは低い照度で見られるなど種によるちがいが見られ、また、

表8 各ルートにおける月別照度対数変換値 (ILI) 比較¹⁾

調査 ルート	4月			5月			6月		
	平均	S.D.	測定数	平均	S.D.	測定数	平均	S.D.	測定数
X1	4.97	0.293	22	5.00	0.072	18	4.55	0.131	9
X2	5.09	—	1	4.54	0.367	4	3.60	—	1.00
X3	4.87	0.256	13	4.73	0.257	19	4.50	0.200	4.00

調査 ルート	7月			8月			9月			10月		
	平均	S.D.	測定数	平均	S.D.	測定数	平均	S.D.	測定数	平均	S.D.	測定数
X1	4.92	0.122	15	4.93	0.136	9	4.93	0.074	15	4.93	0.056	20
X2	3.81	0.428	12	3.44	0.395	7	4.05	0.847	4	4.89	—	1
X3	4.79	0.618	4	4.64	0.167	18	4.57	0.377	5	4.83	0.048	8

1) $p < 0.05$ F検定 X1とX3, X2とX3において4月と6月, 4月と9月, 6月と10月で有意差あり.

表9 チョウの科別照度対数変換値 (ILI) の比較

X1	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月
アゲハチョウ科	5.06	4.99	4.49	4.49	5.01	4.84	4.91
シロチョウ科	4.91	5.00	4.60	4.60	4.92	4.70	—
シジミチョウ科	5.07	4.83	4.58	4.58	4.99	4.96	4.95
タテハチョウ科	5.08	—	4.59	4.59	4.83	—	—

X2	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月
アゲハチョウ科	—	4.89	3.60	4.73	4.73	3.30	—
ジャノメチョウ科	—	4.19	—	34.63	3.63	3.50	—

X3	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月
アゲハチョウ科	4.76	4.85	4.60	4.97	4.97	4.69	4.79
シロチョウ科	5.03	5.00	—	4.18	4.18	4.30	4.82
シジミチョウ科	5.00	4.48	4.60	4.63	4.63	4.58	4.83
タテハチョウ科	4.93	4.9	4.39	4.83	4.83	4.51	—

ジャノメチョウ科のように明らかに照度の低い環境でしか活動しない種もあり, さらなる調査が急がれる.

謝 辞

本論を締めくくるにあたり, データ分析等でご指導いただいた大阪府立大学農学部の石井 実教授に心より感謝申し上げますとともに貴重な資料を提供いただいた姫路工業大学自然環境科学研究所,

人と自然の博物館の服部 保教授に深く感謝申し上げます. なお, 本研究は文部省科学研究費 (奨励研究 (B), No, 08918023) によるものである.

引用文献

服部 保・藤井まゆみ・小館誓治・武田義明・石田弘明・竹田敦夫 (1996) 太山寺の自然. 兵庫自然研究会・神戸植生研究会, 兵庫.
服部 保・矢倉資喜・武田義明・石田弘明

- (1997) 蝶類群集による自然性評価の一方法. 人と自然 8:41-52.
- 日浦 勇 (1973) 海をわたる蝶. 蒼樹書房, 東京.
- 本田隆義 (1997) 大阪府和泉地方の自然環境の異なる3地域のチョウ類群集. 環動昆 8:129-138.
- 今井長兵衛・夏原由博・田中真一 (1996) 大阪湾岸のエコロジー緑化地域におけるチョウ類群集とトランセクト調査の精度. 環動昆 7:182-190.
- 石井 実 (1996) さまざまな森林環境における蝶類群集の多様性. 日本産蝶類の衰亡と保護 第4集 (田中 蕃・有田 豊編), pp. 63-75, 日本鱗翅学会, 大阪.
- 川副昭人・若林守男 (1991) 原色日本蝶類図鑑. 保育社, 大阪.
- 本元新作・武田博清 (1989) 群集生態学入門. 共立出版, 東京.
- 北原正彦 (1999) 富士山北麓の様々な森林環境におけるチョウ類群集の種多様性. 環動昆 10:11-29.
- 北原正彦 (2000) 富士山北麓森林地帯のチョウ類群集における成虫の食物資源利用様式. 環動昆 11:61-81.
- 北原正彦 (2001) 富士山北麓青木ヶ原樹海周辺におけるチョウ類群集の多様性と植生種数の関係. 環動昆 12:131-145.
- 前野昌弘・三国 彰 (2001) 図解でわかる統計解析. 日本実業出版社, 東京.
- 中村寛志 (2000) チョウ類群集の構造解析による環境評価に関する研究. 環動昆 11:109-123.
- 夏原由博・今井長兵衛・石井 実・桜谷保之・田中真一 (1996) チョウ類群集調査のためのトランセクト法の評価1. 都市公園における反復カウント. 環動昆 8:13-22.
- 関谷善行 (1998) 神戸市神出山田自転車道沿道のチョウ類群集の多様性. 環動昆 9:39-46.
- 関谷善行 (1999) 調査コースの日陰の割合から見た神戸周辺のチョウ類群集の季節消長. 環動昆 10:30-41.
- 関谷善行 (2000) 照度から見た神戸市内照葉樹林地帯のチョウ類群集の季節消長. 環動昆 11:99-108.
- 巢瀬 司 (1993) 蝶類群集研究の一方法. 日本産蝶類の衰亡と保護 第2集 pp. 83-90, 日本鱗翅学会・日本自然保護協会, 大阪.
- 田中 蕃 (1988) 蝶による環境評価の一方法. 日本鱗翅学会特別報告, pp. 191-210, 日本鱗翅学会, 大阪.
- 田下昌志・市村敏文 (1997) 標高の変化とチョウ類群集による環境評価. 環動昆 8:73-88.
- 吉田宗弘 (1997) チョウ類群集による大阪市近郊住宅地の環境評価. 環動昆 8:198-207.

Activity of Pyruvate Dehydrogenase Complex in Active and Inactive Forms in Mitochondria of the Lower Termite *Coptotermes formosanus* Shiraki¹⁾

Shuji Itakura, Hiromi Tanaka and Akio Enoki

Faculty of Agriculture, Kinki University, Nakamachi, Nara 631-8505, Japan

(Received : January 29, 2003 ; Accepted : March 15, 2003)

イエシロアリのミトコンドリアにおける活性型および不活性型ピルビン酸デヒドロゲナーゼ複合体の活性 板倉修司・田中裕美・榎 章郎 (近畿大学農学部)

ピルビン酸デヒドロゲナーゼ (PDH) キナーゼとPDHフォスファターゼにより促進されるPDH複合体の活性型-不活性型相互変換の阻害剤あるいは促進剤の存在下で、下等シロアリに属するイエシロアリからミトコンドリアを単離し、そのPDH複合体活性を測定した。全PDH複合体活性は 10.24 ± 2.21 nmol/termite/hであり、その約50%が活性型に保たれていた。イエシロアリの呼吸による二酸化炭素の放出速度は 45.0 ± 2.2 nmol/termite/hと報告されており、その呼吸を維持するために必要なピルビン酸塩の酸化速度は少なくとも 15.0 nmol/termite/h以上であると計算される。イエシロアリのミトコンドリアでは、活性型PDH複合体の活性 (4.83 ± 0.30 nmol/termite/h) が律速となり、ピルビン酸塩の酸化だけでは呼吸を維持するのに十分なエネルギーを獲得することができない。このためピルビン酸塩以外の基質を酸化することが必要となる。後腸内の共生微生物による嫌氣的発酵により供給される酢酸塩に由来するアセチル基がこのエネルギー不足を補っているのではないかと推測される。

The activity of pyruvate dehydrogenase (PDH) complex in mitochondria of the lower termite *Coptotermes formosanus* Shiraki was assayed. Mitochondria were prepared in the presence of an inhibitor or activator of the interconversion of the complex promoted by PDH kinase and PDH phosphatase. The total PDH-complex activity (\pm SEM) was 10.24 ± 2.21 nmol/termite per hour. For termite respiration, the rate of pyruvate oxidation was at least 15.0 nmol/termite per hour on the basis of the carbon

1) Parts of this report were presented at the 14th Annual Meeting of the Japanese Society of Environmental Entomology and Zoology in Osaka, November 2002.

dioxide release of 45.0 ± 2.2 nmol/termite per hour reported elsewhere for this species. The activity of the PDH-complex (4.83 ± 0.30 nmol/termite per hour) in the active form could be a rate-limiting factor, so the termite might need other substrates for oxidation. Acetyl groups from acetate provided by anaerobic fermentation by the hindgut symbionts could satisfy this energy shortage.

Key words: Termite, *Coptotermes formosanus*, Pyruvate dehydrogenase complex, Mitochondria

Introduction

Seven families of termites (order Isoptera) comprising 281 genera and more than 2600 species have been recognized (Kambhampati and Eggleton, 2000). Some 85% of the genera are in the same family, Termitidae, with no protozoa in the alimentary canal. These are called 'higher termites'. The six other families (Mastotermitidae, Kalotermitidae, Termopsidae, Hodotermitidae, Rhinotermitidae, and Serritermitidae) harbor large, diverse populations of protozoa (Koidzumi, 1921; Moriya *et al.*, 1998; Ohkuma *et al.*, 2000) in the hindgut and called 'lower termites'. Both the higher and lower termites have huge arrays of bacteria in the alimentary canal (Ohkuma *et al.*, 1999b, 1999c, 2002).

Termites and microorganisms in the hindgut contribute symbiotically to termite nutrition (O'Brien and Slaytor, 1982; Slaytor, 2000) including the digestion of cellulose (Cleveland, 1924; O'Brien *et al.*, 1979). Cleveland (1924) first showed that termites depend on protozoa to digest cellulose in wood, and that defaunated (with protozoa fauna removed) termites die in 10-20 days if fed only wood. It has since been believed that termites lack their own cellulases and use cellulolytic protozoa to digest cellulose. A gene encoding endo- β -1,4-glucanase of glycoside hydrolase family (GHF) 9 is expressed in the midgut of the higher termite

Nasutitermes takasagoensis (Tokuda *et al.*, 1999). In lower termites, genes coding endo- β -1,4-glucanase of GHF 9 are expressed in the salivary glands of *Reticulitermes speratus* (Watanabe *et al.*, 1998) and in both the salivary glands and midgut of *Coptotermes formosanus* (Nakashima *et al.*, 2002). Genes encoding cellulase homologues of GHF 45 are expressed in the symbiotic protozoa *Teranympha mirabilis* and *Trichonympha agilis* of *R. speratus* (Ohtoko *et al.*, 2000), and genes encoding endo- β -1,4-glucanase homologues of GHF 7 are expressed in the symbiotic protozoa *Pseudotriconympha grassii* and *Holomastigotoides mirabile* of *C. formosanus* (Watanabe *et al.*, 2002). Thus, both lower and higher termites can synthesize their own cellulases, as well as using those of their symbiotic protozoa. The hindgut bacteria once thought to be the source of all cellulolytic activity in higher termites (Cleveland, 1924) lack cellulase activity (Slaytor *et al.*, 1997; Slaytor, 2000). These findings suggest that lower termites produce cellulases that digest crystalline cellulose synergistically with protozoan cellulases, but that higher termites secrete their own cellulases and are not dependent on their gut symbionts for the digestion of cellulose.

Symbiotic protozoa are important not only for cellulose digestion but also for nutrition of termites and bacteria (Slaytor, 2000). Protozoa provide acetate, the major volatile fatty acid in the hindgut of both higher and lower termites (Odelson and

Breznak, 1983), for termites and also provide hydrogen for symbiotic spirochetes in the hindgut of the termites, used in acetogenesis (Ohkuma *et al.*, 1999a). The aerobic metabolism of acetate (O'Brien and Breznak, 1984) absorbed via the hindgut wall (Hogan *et al.*, 1985) may provide energy for termites (Slaytor *et al.*, 1997), because the pyruvate dehydrogenase (PDH, EC 1.2.4.1) complex is inactive in higher termites (O'Brien and Breznak, 1984) and slightly active in a lower termite (Itakura *et al.*, 1999) in spite of the presence of a fully functional glycolytic and pentose phosphate pathway in termite-tissue homogenates (O'Brien and Breznak, 1984; Slaytor *et al.*, 1997). Of all aerobic organisms with an abundance of glucose, only termites are known to maintain the PDH-complex in the inactive form or at a low level of activity, so that pyruvate derived from glucose via glycolysis cannot be directly converted to acetyl CoA for energy. Termites could instead provide pyruvate from glucose for bacterial metabolism in the hindgut and in return receive acetate, which could be used in the synthesis of acetyl CoA by the acetyl CoA synthetase in termite-tissue (Slaytor, 2000).

In eukaryotes, the activity of the PDH-complex is controlled by phosphorylation and dephosphorylation. Phosphorylation of the PDH component by a specific kinase switches off the activity of the complex (Stryer, 1997). Deactivation is reversed by the action of a specific phosphatase (Stryer, 1997). Increases in the ratio of NADH to NAD⁺, acetyl CoA to CoA, or ATP to ADP promotes phosphorylation and hence deactivation of the complex. Pyruvate activates the dehydrogenase by inhibiting kinase (Stryer, 1997). Therefore, a high concentration of acetyl CoA, which can be converted from acetate by the acetyl CoA synthetase, could explain the absence or low level of activity of the PDH-complex in termite-tissues. A similar situation is

likely in ruminants where the large amounts of acetate produced in the rumen could inactivate the PDH-complex. In termite tissues, it is not known whether the amount of PDH-complex is small, or whether the percentage of the PDH-complex in the active (dephosphorylated) form is low, or both. To find out, we isolated termite mitochondria in the presence of inhibitors of PDH-complex interconversion (phosphorylation and dephosphorylation) and assayed the PDH-complex activity. By use of interconversion inhibitors, it was possible to assess the proportion of active PDH-complex (PDH_{active}) in termite mitochondria at the time they were killed. To assay the maximum PDH-complex activity (PDH_{total}), the PDH-complex in freshly prepared mitochondria was activated by energy depletion with the uncoupler carbonyl cyanide *m*-chlorophenylhydrazone (CCCP). In this paper, we report the total amount of the PDH-complex in termite-tissue mitochondria of *C. formosanus* and the percentage of the complex in the active form. We describe how termite nutrition is dependent on symbiotic microorganisms in the hindgut.

Materials and Methods

Termites

Workers of the species *Coptotermes formosanus* Shiraki were collected from a nest maintained at 28 °C at the Faculty of Agriculture of Kinki University and dissected within 2 h of collection.

Preparation of mitochondria

All operations were done at 0–4 °C. One hundred termites were immobilized on ice and decapitated, and the entire gut was removed with fine-tipped forceps. The degutted bodies were combined with the heads in 10 ml of an isolation buffer (IB, pH 7.4) containing 1 mM ethyleneglycol-bis-(β -aminoethyl ether) N, N, N', N'-tetraacetic acid, 5 mM KH₂PO₄, 5 mM 3-morpholinopropanesulfonic acid,

300 mM sucrose, and 0.1% bovine serum albumin and homogenized in a loosely fitting Potter-Elvehjem homogenizer to strip away the exoskeleton. After the homogenizer was rinsed with 5 ml of IB, the extract was centrifuged at 10,000 x g for 10 min. Under these conditions, exoskeletal fragments remained in suspension. The pellet was retained, resuspended in 10 ml of IB, and homogenized in a Ten-Broeck homogenizer before differential centrifugation.

The tissue homogenate was centrifuged at 800 x g for 10 min, and the resulting supernatant was centrifuged at 10,000 x g for 10 min, giving a mitochondrial pellet. Mitochondria were resuspended by being gently swirled in IB at a concentration of approximately 0.6 mg protein/ml. The citrate synthase activity of the tissue homogenate and the mitochondrial homogenate was used to calculate the recovery of mitochondria for each preparation.

Preparation of enzyme extract

Tissue homogenates and mitochondria were prepared by the method outlined above. Mitochondrial suspensions in 0.5 ml of IB without bovine serum albumin were extracted for the assay of enzymes by being alternately frozen in liquid nitrogen and thawed at 30°C three times. The protein content of each mitochondrial suspension was measured by the method of Lowry *et al.* (1951) with bovine serum albumin as the standard.

Enzyme assays

All assays were done at 30°C. The activity of the PDH-complex in mitochondrial extracts and the tissue homogenate was assayed by monitoring of acetyl CoA production from pyruvate and CoA (Kerby *et al.*, 1976). Acetate kinase (EC 2.7.2.1), acetyl CoA synthetase (EC 6.2.1.1), citrate synthase (EC 4.1.3.7), and phosphotransacetylase (EC 2.3.1.8) activities of the mitochondrial extracts and tissue homogenate were assayed as described previ-

ously (Jones and Lipmann, 1955; Rose, 1955; Sreer, 1969; Kreuzberg *et al.*, 1985). One unit of PDH-complex activity is defined as the amount of enzyme that produces 1 μ mol of acetyl CoA per minute, and one unit of citrate synthase activity is defined as the amount of enzyme that produces 1 μ mol of citrate per minute.

Estimation of proportion of the PDH-complex in active form

Mitochondria used in the assessment of PDH activity were prepared in IB also containing 0.1 mM 2,2-dichloroacetophenone (Mann *et al.*, 2000) and 0.1 mM fluphenazine (Bak *et al.*, 1999) to inhibit PDH kinase and PDH phosphatase. This inhibitor mixture prevents interconversion of the PDH-complex in the termite mitochondria (Itakura *et al.*, 2003) and its use allows to estimation of PDH-complex activity in active form. The mitochondrial preparation was divided into three portions. One portion was assayed for PDH-complex activity at the time termites were killed or else for the proportion of PDH_{active}. The two other portions of mitochondria were twice washed of inhibitors by dilution in 10 ml of the IB followed by centrifugation at 10,000 x g for 10 min. These mitochondria were incubated at 30°C for 15 min in KCl medium (2 mM EDTA, 120 mM KCl, 20 mM Tris-HCl, and 5 mM KH₂PO₄, pH 7.4) containing either 10 μ M CCCP when PDH_{total} was to be assayed or 0.5 mM malate and 5 mM 2-oxoglutarate when the minimum PDH activity (PDH_{min}) was to be assayed.

Results

Isolation of mitochondria

The mean proportion of mitochondria recovered from termite-tissue (\pm SEM) (31.1% \pm 3.0%, $n = 34$) was satisfactory, although preparation had been difficult and consistent with that generally observed for mammalian sources (Rickwood *et al.*, 1987).