



# Formosan Entomologist

Journal Homepage: [entsocjournal.yabee.com.tw](http://entsocjournal.yabee.com.tw)

## Circadian Rhythm of Heart Rate and Electroretinogram in the Taiwan Giant Cricket, *Brachytrupes portentosus* Lichtenstein 【Research report】

### 臺灣大蟋蟀心速率、視細胞網膜電圖之日週律動【研究報告】

Bo-Hong Lee, Jin-Tun Lin and Chin-Yih Wu\*  
李柏宏、林金盾、吳京一\*

\*通訊作者E-mail :

Received:    Accepted: 1995/08/20    Available online: 1995/09/01

#### Abstract

Continuous recordings were made of the heart rates (HRs) and electroretin-ograms (ERGs) of male Taiwan giant crickets *Brachytrupes portentosus* under a constant temperature of 25°C and after adapting to total darkness. Results show that HRs and ERGs had the same circadian rhythms during the day (06 : 00-18 : 00) as well as at night (18 : 00-06 : 00). Changes in light and temperature greatly affected on HRs and ERGs. If the insect's bilateral optic stalks were removed, then the circadian rhythm of HRs disappeared, whereas that ERGs remained.

#### 摘要

在暗適應、25°C恆溫之條件下，持續記錄雄性成熟臺灣大蟋蟀之心速率及網膜電圖。結果顯示，此二者晝間(6 : 00-18 : 00)及夜間(18 : 00-6 : 00)之日週律動皆相同。光線和溫度的改變對心速率和網膜電圖會造成影響。若將昆蟲之兩側視神經索切斷，其網膜電圖之日週律動仍存在，但心速率的韻律則消失。

**Key words:** Circadian rhythm, ERGs, HRs, Taiwan giant cricket.

**關鍵詞:** 日週律動、網膜電圖、心電圖、臺灣大蟋蟀。

Full Text:  [PDF\( 10.08 MB\)](#)

下載其它卷期全文 Browse all articles in archive: <http://entsocjournal.yabee.com.tw>

# 臺灣大蟋蟀心速率、視細胞網膜電圖之日週律動

李柏宏、林金盾、吳京一\* 國立臺灣師範大學生物系 臺北市汀州路四段88號

## 摘要

在暗適應，25°C 恆溫之條件下，持續記錄雄性成熟臺灣大蟋蟀之心速率及網膜電圖。結果顯示，此二者晝間(6:00~18:00)及夜間(18:00~6:00)之日週律動皆相同。光線和溫度的改變對心速率和網膜電圖會造成影響。若將昆蟲之兩側視神經索切斷，其網膜電圖之日週律動仍存在，但心速率的韻律則消失。

**關鍵詞：**日週律動、網膜電圖、心電圖、臺灣大蟋蟀

## 前言

日週律動(circadian rhythm)普遍存在於昆蟲。例如：活動性，鳴叫(Loher, 1972; Sokolove, 1975)，產卵(Loher and Chandrashekarn, 1970)，精苞形成(Loher, 1974)，精子釋放，卵孵化(Tomioka *et al.*, 1991)皆有日週律動。當昆蟲處於自然或人為之光暗週期或溫度變化週期下，其行為或生理上之活動會引起改變。學者認為昆蟲日週律動與環境光線之有無及溫度高低或其本身之生殖週期有關(Lee, 1973, 1986; Okada *et al.*, 1991)。

昆蟲之網膜電圖(electroretinogram ERG)的電壓高度(amplitude)具有日週律動(Okada *et al.*, 1991; Tomioka and Chiba 1992)，其形成原因有二：(1)由於視覺細胞對光之感受性變化所引起，(2)由於網膜細胞結構之晝夜週期性改變所造成(Bernhard *et al.*,

1963; Menzi, 1987)。

Heinrich (1970; 1971)首先以煙草天蛾(*Manduca sexta*)為對象，用電生理方法記錄心跳，本人等則欲明瞭心跳、心速率有無日週律動，它是否與光之有無有關？會不會與ERG同步？至今不明，本人等以臺灣大蟋蟀為材料，欲解明這些問題。

## 材料與方法

自野外採集成熟、雄性臺灣大蟋蟀(*Brachytrupes portentosus* Lichtenstein)後，飼養於本學系生長箱中(25°C，相對濕度85±2%，D:L=12:12小時)至少15日以上。然後供用於本實驗。

將雄蟋蟀施以低溫麻醉後，用蜂蠟將頭、胸部保定於固定板上。以兩根不鏽鋼電極插入蟋蟀後胸背血管左右兩側，記錄其心電圖(electrocardiogram, ECG)(Heinrich,

1970; 1971)。另以不鏽鋼針插入胸部，做為參考電極。除溫度實驗外，所有實驗均於25°C定溫下進行。另在解剖顯微鏡下，以微動儀將不鏽鋼針記錄電極插入右側複眼內，記錄其複眼視細胞網膜電圖(ERG)之用。本實驗所用之不鏽鋼電極，直徑0.3mm，除先端外，其他皆有絕緣漆絕緣之。實驗可分兩大部份，一為有關光刺激部份，另一為溫度的刺激。

每隻蟋蟀於第一日之16:00以前固定，經過2小時以上之適應固定後，當天18:00開始記錄其ECG及ERG。將一天之時間分為晝間(06:00-18:00)及夜間(18:00-06:00)。連續記錄蟋蟀之心電圖3至5天。在連續記錄時，以浸有3%果糖水之棉花，置於口器上，使蟋蟀可以啣口，以維持體力。

蟋蟀之ECG，即經電極傳入輸入箱(input box)，經過微電極放大器顯示在示波儀上。每隔10分鐘至50分鐘，時間不定，每次連續記錄10秒鐘，與ERG同時記錄於記錄紙上，以便計算其每分鐘之心速率(次/分鐘)。

ERG即以綠色(570nm)之二極體(diode)為刺激光源，置於距右複眼1.5公分處，並調整光源強度使ERG在最低及最高反應的範圍內。每隔10分鐘光刺激一次，刺激持續其間500 ms，將所得之ERG經微電極放大器顯示在示波器上，並在記錄儀(TA 4000, Gould)上記錄。

### 一、光刺激的影響

#### (1)環境明暗的變化

蟋蟀分別適應於兩種光暗條件下，即：全暗(0明：24暗)及明暗(12明：12暗)。在全暗之下，記錄ECG及ERG，如在適應明暗條件時，僅記錄ECG。明時的亮度，即離大蟋蟀高度100cm處，使用兩個100W普通燈泡照亮之(兩個燈泡距離80cm)。

#### (2)視神經索(optic stalk)之切斷

蟋蟀頭部兩複眼間作一長方形開口，將該長方形頭殼片取下，在解剖顯微鏡下，切斷兩側複眼之視神經索，使得複眼視葉板-視髓複合部(lamina-medulla Complex)與中樞神經分離。手術完成後，將頭殼片蓋回，以蜂蠟封好後保定，然後置於黑暗的情況下記錄ERG及ECG。

#### (3)光譜感光度(spectral sensitivity)之測定

測定裝置如前(Wu, 1989)，昆蟲在暗房內，僅測知其ERG。光源為氙燈(xenon arc lamp)，照射在右複眼上。光波波長自360至740nm，每隔20nm利用濾鏡取一波長，且每一波長以四種光強度刺激，刺激持續時間(duration)為300ms，每次之刺激間隔為20秒。蟋蟀於第一日上午10:00保定。其後於第三日12:00及第四日0:00以各波長色光及四種光強度刺激複眼。將所得之ERG計算並畫出複眼光譜感光度曲線(Wu, 1989)。

### 二、溫度刺激的影響

室溫之調整有兩種：即到12:00至16:00由正常室溫25°C即時提高至30°C，維持4小時，而16:00以後即回復至正常室溫，然後在0:00至4:00由正常室溫(25°C)急劇下降至20°C，而維持4小時，4:00以後回復至25°C的正常室溫，觀察溫度變化前後之ECG及ERG之變化。

## 結 果

在晝間(06:00~18:00)，於25°C之室溫下，於後背血管兩側所得之ECG，其圖形先有尖形電位，緊接著有銳波(sharp wave)(其維持時間為600~650ms)。尖形電位電壓有 $24 \pm 3\mu\text{V}$ ，銳波有 $42 \pm 2.5\mu\text{V}$ ，心跳間隔 $0.75 \pm 0.2\text{sec}$ ，心跳數為 $75 \pm 9/\text{min}(n=10)$ 。本實驗所得之ERG為雙峰性，皆有明顯的on

反應 ( $1.5 \pm 0.3\text{mV}$ ) 及 off 反應 ( $0.8 \pm 0.3\text{mV}$ ,  $n=14$ )。計算 ERG 電壓即含 on 及 off 二部份的電壓 (Tomioka and Chiba, 1982)。在第一天保定後, ECG、ERG 至第二天中午後才開始相當穩定, 日週律動亦開始出現。

## 一、全暗適應 ECG 及 ERG

### (1) ECG 及 ERG

動物置於全暗條件下, 連續記錄其 ECG 及 ERG。動物被固定 2 天後至第 5 天, 其晝間 (6:00~18:00) 和夜間 (18:00~6:00) ECG 並無顯著差異出現, 但若以一分鐘內的 ECG 來判斷, 心跳間隔 (heart beat interval), 以 T-test 判斷, 是夜間顯著小於日間 (圖一、二)。

由心跳間隔來計算蟋蟀之心速率 (heart rate, H.R.), 發現在日、夜之間, 具有律動性。在 18:00 以後, 其 H.R. 漸漸增加, 至午夜, 心速率最大 ( $65 \pm 3$  次/分), 然後開始減少, 至第二日的晝間達最低點 ( $58.6 \pm 2$  次/分,  $p < 0.05$ ,  $n=14$ ), 它隨著 ERG 振幅之增減而增減。

ERG 在第二日後發現有律動性的變化,

即午夜 00:00 後, ERG 漸漸減少其振幅, 至日間中午 12:00 為最小 ( $2.7 \pm 0.7\text{mV}$ ), 而後漸次增加振幅, 至午夜 0:00 時為最大 ( $3.5 \pm 0.7\text{mV}$ ,  $n=15$ ), 以 0 時與 12 時之 ERG 振幅比較, 具有顯著的差異 ( $p < 0.01$ ,  $n=15$ ) (圖一、二)。

### (2) 臺灣大蟋蟀在全暗適應中之光譜感光度

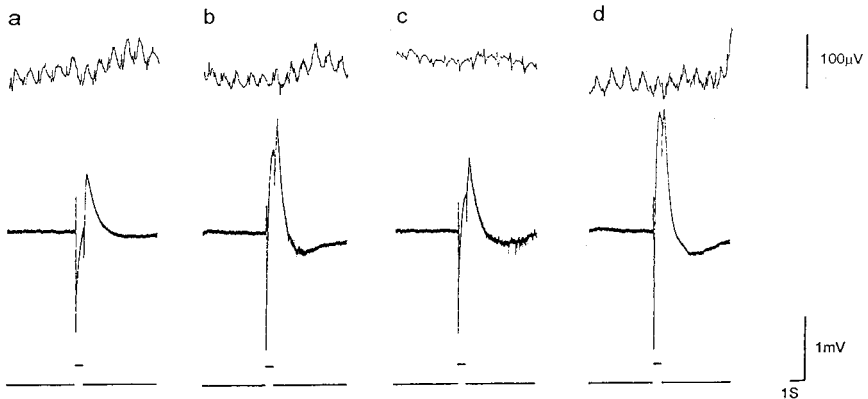
在紫外光區 (360nm) 及藍光區 (460nm) 各有吸收高峰 ( $\lambda_{\text{max}}$ ) (圖三)。在 580nm 以上的橙色光區並沒有晝夜之區別, 但自 360nm 至 580nm 間之感光度夜間都高於晝間。

### (3) 切斷視神經索對 ERG 及 H.R. 日週韻律之影響

將視神經索切斷後, 在全暗適應的條件下記錄其 ERG 及 ECG, 其 ERG 之日週律動尚顯著存在 ( $p < 0.05$ ), 但其心速率則失去其原有之日週律動 ( $p < 0.05$ ,  $n=6$ ) (圖四)。

### (4) 溫度之變化對 ERG 及 H.R. 日週韻律之影響

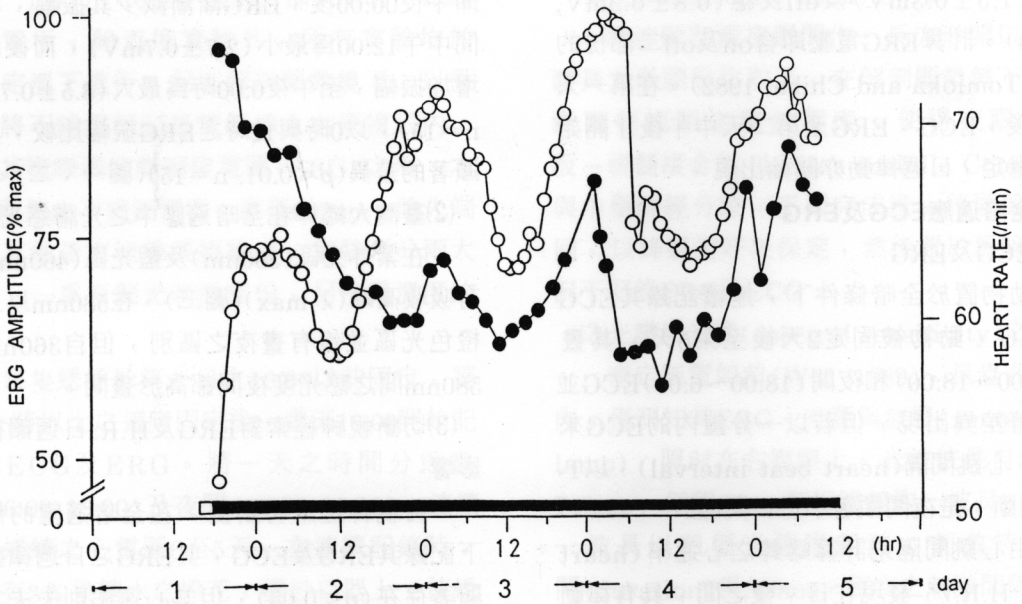
在黑暗之條件下, ERG 及 H.R. 之日週律動對溫度改變亦有明顯的影響。在晝間, 此時之 ERG 振幅及 H.R. 達最低點, 於此時升高



圖一 在暗適應下晝間及夜間之 ERG 及 ECG 記錄由上而下: ECG, ERG 及刺激時間。a: 記錄開始第 2 日 12:00; b: 記錄開始第 2 日 24:00; c: 記錄開始第 3 日 12:00; d: 記錄開始第 3 日 24:00; 校正:  $100\mu\text{V}$  (ECG)  $1\text{mV}$  (ERG) 刺激時間 500 ms (同一大蟋蟀)

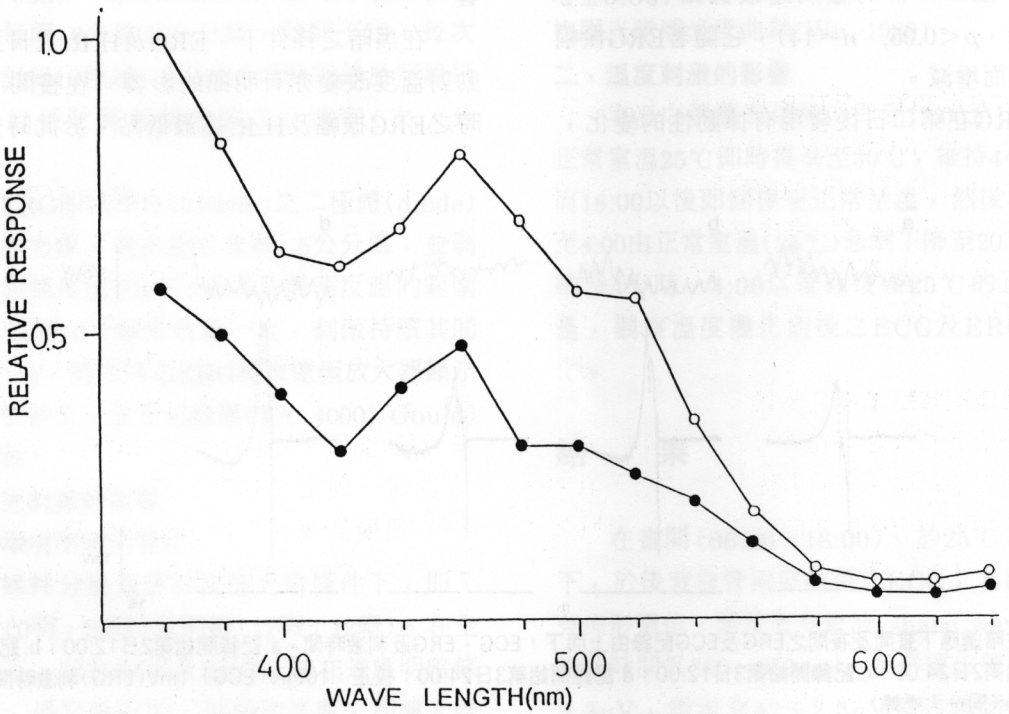
Fig. 1 ECG and ERG. a: noon (12:00; 2nd day); b: midnight (24:00; 2nd day); c: noon (12:00; 3rd day); d: midnight (24:00; 3rd day). Traces from upper to bottom: ECG, ERG, Stimulating duration. Calibrations:  $100\mu\text{V}$  (ECG),  $1\text{mV}$ ,  $1\text{sec}$  (ERG and stimulating duration).





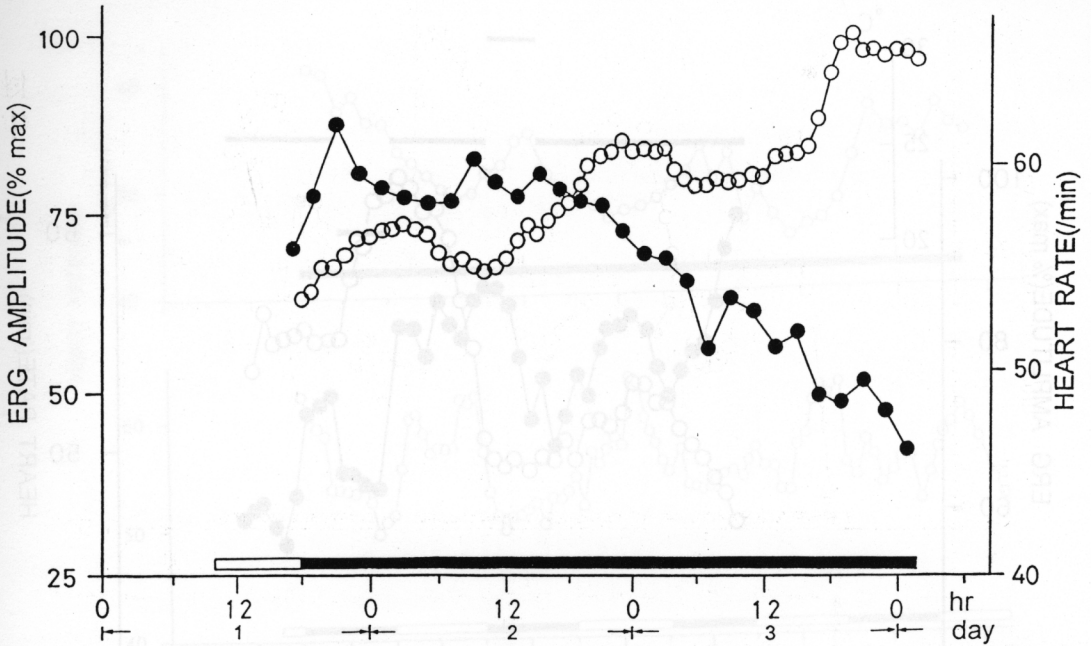
圖二 在暗適應下之ERG及H.R. □光照■暗適應○ERG●H.R.

Fig. 2 ERG and H.R. under dark adaptation. □:light adaptation; ■: dark adaptation; ○: ERG; ●: H.R.



圖三 在暗適應下晝間(12:00)及夜間(24:00)之光譜感光度曲線○夜間●晝間

Fig. 3 Spectrosensitive curve during day and night. ●: noon (12:00); ○: midnight (24:00)



圖四 切斷視神經索後的ERG及H.R. □光照■暗適應○ERG●H.R.

Fig. 4 ERG and H.R. after severing of the bilateral optic stalk, ●: H.R.; ○: ERG; □: Day time; ■: dark adaptation.

溫度 $25^{\circ}\text{C}$ 至 $30^{\circ}\text{C}$ ，其H.R.顯著增加( $p < 0.05$ ,  $n = 3$ )，但ERG振幅並無影響( $p > 0.05$ )。ERG及H.R.之日週律動在夜間的0:00-4:00達到最高點，若在此時(室內溫度 $25^{\circ}\text{C}$ )降低為 $20^{\circ}\text{C}$ ，其H.R.顯著降低，( $p < 0.01$ ,  $n = 3$ )，但對ERG振幅並無顯著影響( $p > 0.05$ ) (圖五)。

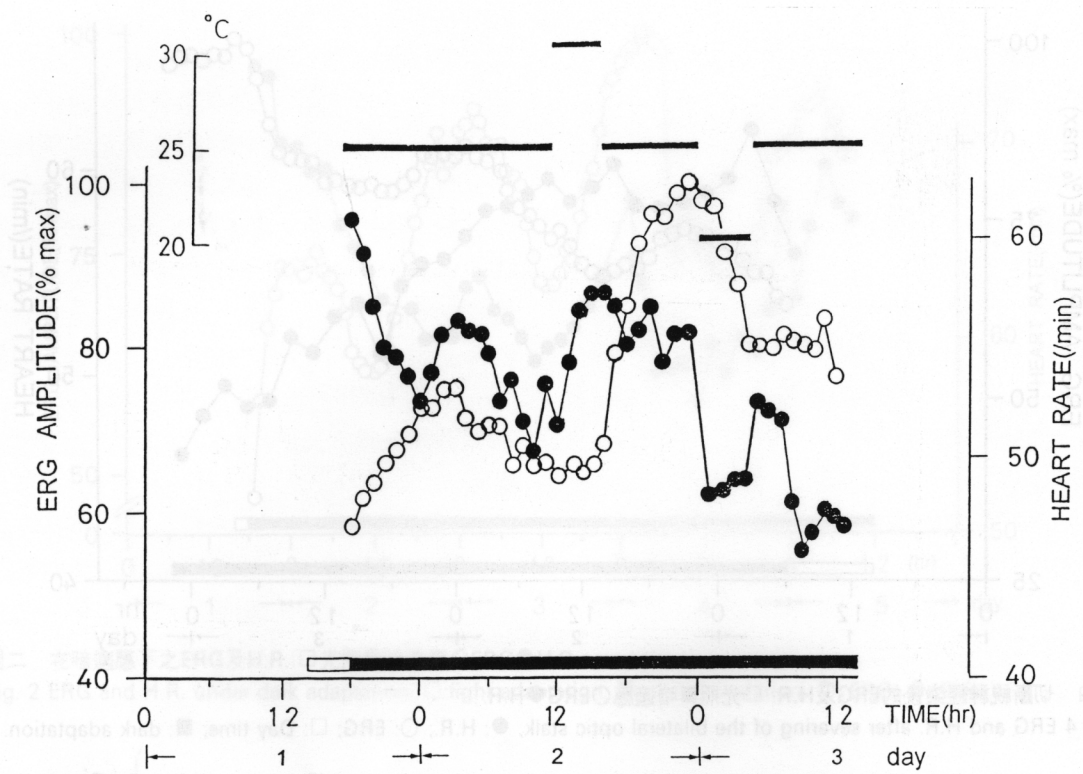
## 二、明暗適應對H.R.之影響

記錄臺灣大蟋蟀在不同的光暗週期(DD, LD)下之心速率。在24小時黑暗(DD)的條件下，心速率具有夜間快於日間之日週律動(夜間為 $83.54 \pm 4.4$ 次/分，日間為 $58.6 \pm 4.8$ 次/分， $p < 0.01$ ,  $n = 14$ ) (圖六)。而在光暗週期(L:D=12:12)之條件下，日間光照時之心速率顯著快於夜間黑暗時之心速率(日間為 $58.6 \pm 2.7$ 次/分，夜間為 $52.5 \pm 1.1$ 次/分， $p < 0.01$ ,  $n = 6$ ) (圖六)。

## 討 論

本研究以Heinrich (1979; 1971)的方法，使動物以蜂蠟固定於板上，記錄其心电图，並計算心速率。固定方法的不同，影響心跳速率甚巨，以家蟋蟀*Gryllus bimaculatus*為例，以與吾人同一方法，其心速率有50~80次/分，若給以自由行動時，其心速率可達150次/分(Jones, 1974)。本研究始終以同一固定方式來測知，應可確信其資料。溫度與光線之因素影響昆蟲心跳甚顯著。美洲蟑螂在 $5^{\circ}\text{C}$ 至 $40^{\circ}\text{C}$ 之間，每升高 $5^{\circ}\text{C}$ 平均增加11.1至28.3次/分(Jones, 1974)。而本實驗，因其昇降幅度較小( $+5^{\circ}\text{C}$ 與 $-5^{\circ}\text{C}$ )，未能指出每昇降 $1^{\circ}\text{C}$ 所引起之變化，僅可看出心跳數目增減之趨勢。

果蠅接受人工照明，如果果蠅的心跳在



圖五 改變室內溫度對ERG及H.R.之影響 □光照 ■暗適應 ○ERG ●H.R. 溫度變化用粗黑線表示(最上面)  
 Fig. 5 Effects of room temperature on the ERG and H.R., □: Day time; ■: dark adaptation; ○: ERG; ●: H.R.

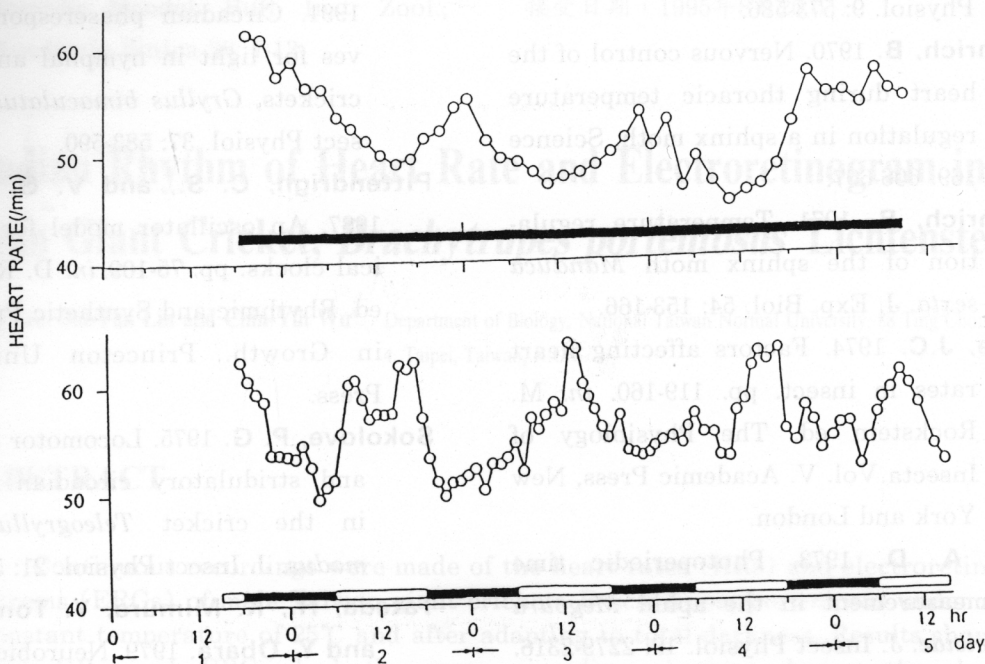
快速期(fast-phase beating)被照光時，會升高至335次/分，然後心跳變慢至167次/分；相反的，金鈴(*Nemobius sylvestris*)被照光反而引起心跳變慢，而在黑暗裡，心跳就增加(Jones, 1974)。臺灣大蟋蟀是夜行動物，在正常狀態下，白天蟄伏在洞穴，可避免太陽之直接照射，但在本實驗中，即受12小時明，12小時暗之人工方法所造成之明暗狀態，而複眼直接受200W之照光引起H.R.的增加，是否如此，這將俟今後之再進一步的研究。若切斷蝗蟲腹索(ventral nerve cord)後照光，心跳率照樣增加，證明光刺激不通過腹索，而引起心跳的增加(Jones, 1974)。

在全暗適應之條件下，臺灣大蟋蟀複眼所得之ERG日週律動與蟋蟀*Gryllus bimacu-*

*latus*所得之韻律(Tomioka and Chiba, 1982)頗相似。

由ECG電壓及其心跳數目之變化見之，臺灣大蟋蟀持有明顯的日週律動，而ERG之電壓亦與ECG電壓變化而改變。臺灣大蟋蟀複眼網膜電位在夜間達到最高。由其ERG之光譜感光度曲線來看，有明顯的晝夜之別。由上可知，臺灣大蟋蟀視細胞生理活性表現出夜行性動物之日週律動。

蟋蟀*Gryllus bimaculatus*之視葉板—視髓複合部(lamina-medulla complex)，分出之神經具有oscillator，由此oscillator所發出之視神經上，輸出了具有多單位活動(multiple unit activity)的日夜週期性變化(Pittendrigh and Bruce, 1987; Tomioka and



圖六 在暗適應及光照週期下(光:暗=12:12小時)之H.R. □光照 ■暗適應 ○H.R. 上圖為全暗, 下圖為明暗週期  
 Fig. 6 Effects of light and dark adaptation on the H.R., Upper: dark adaptation; Bottom: day and night; □: Day time; ■: Dark adaptation.

Chiba, 1992)。於臺灣大蟋蟀之實驗中, 切斷兩複眼之視神經索後, ERG之週期律動還存在, 惟H.R.之律動性卻消失。ERG日週期變化之成因, 是視細胞感稍 (rhabdom) 構造上之變化, 或視物質 (visual pigment) 之移動皆有關連 (Tateda *et al.*, 1979; Menez 1987)。切斷視神經索後, 視葉之神經衝動應無法傳至中樞神經系統或其他內分泌系統, 而此時之H.R. 卻失去其原有之日週律動, 由此可知, H.R. 會受到視葉興奮性之影響。複眼受光之後興奮, 再把這興奮經視神經索傳導至視葉, 視葉之興奮即將靠神經性或透過內分泌傳導至心臟, 改變其H.R.。惟哪一項是影響H.R.之因素? 這將由繼續研究才能了解。

H.R. 之增加或減少並不影響ERG振幅之

增減。溫度為影響心速率之因素之一 (Heinrich, 1970)。臺灣大蟋蟀的實驗中, 提高室內溫度很明顯的使其心速率變快; 而降低溫度使其心速率變慢。但是這對於ERG振幅並無影響。此結果顯示溫度對於心速率之影響途徑 (pathway) 異於光照對心速率之影響途徑。而ECG與ERG晝夜之日週律動之變化, 其成因之間似沒有關連, 各自為政。

### 參考文獻

- Bernhard, C. G., G. Hoglund, and D. Ottoson. 1963. On the relation between pigment position and light sensitivity of the compound eye in

- different nocturnal insect. *J. Insect Physiol.* 9: 573-586.
- Heinrich, B.** 1970. Nervous control of the heart during thoracic temperature regulation in a sphinx moth. *Science* 169: 606-607.
- Heinrich, B.** 1971. Temperature regulation of the sphinx moth *Manduca sexta*. *J. Exp. Biol.* 54: 153-166.
- Jone, J.C.** 1974. Factors affecting heart rates in insect. pp. 119-160. *in*: M. Rockstein ed. *The Physiology of Insecta*. Vol. V. Academic Press, New York and London.
- Lee, A. D.** 1973. Photoperiodic time measurement in the aphid *Megoura viciae*. *J. Insect Physiol.* 19: 2279-2316.
- Lee, A. D.** 1986. Some effects of temperature on the hour glass photoperiod timer in the aphid *Megoura viciae*. *J. Insect Physiol.* 32: 79-89.
- Loher, W.** 1972. Circadian control of stridulation in the cricket *Teleogryllus commodus* Walker. *J. Comp. Physiol.* 79: 173-179.
- Loher, W.** 1974. Circadian control of spermatophore formation in the *Teleogryllus commodus* Walker. *J. Insect Physiol.* 20: 1155-1172.
- Loher, W., and M. K. Chandrashekarn.** 1970. Circadian rhythmicity in the ovioposition of the grasshopper *Chorthippus curtipennis*. *J. Insect Physiol.* 16: 1677-1688.
- Menzi, U.** 1987. Visual adaptation in nocturnal and diurnal ants. *J. Comp. Physiol. A* 160: 11-21.
- Okada, Y., K. Tomioka, and Y. Chiba.** 1991. Circadian phaseresponse curves for light in nymphal and adult crickets, *Gryllus bimaculatus*. *J. Insect Physiol.* 37: 583-590.
- Pittendrigh, C. S., and V. G. Bruce.** 1987. An oscillator model for biological clocks. pp. 75-109. *in*: D. Rudnick, ed. *Rhythmic and Synthetic Processes in Growth*. Princeton University Press.
- Sokolove, P. G.** 1975. Locomotor activity and stridulatory circadian rhythm in the cricket *Teleogryllus commodus*. *J. Insect Physiol.* 21: 537-558.
- Tateda, H., K. Mimura, Y. Tominaga, and Y. Obara.** 1979. *Neurobiology in Insects*. Baifukan, Tokyo (In Japanese)
- Tomioka, K., and Y. Chiba.** 1982. Persistence of circadian ERG rhythm in the crickets with optic tract severed. *Naturwissenschaften* 69: 395-396.
- Tomioka, H., T. Wakatsuki, K. Shimonono, and Y. Chiba.** 1991. Circadian control of hatching in the crickets *Gryllus bimaculatus*. *J. Insect Physiol.* 37: 365-371.
- Tomioka, K., and Y. Chiba.** 1992. Characterization of an optic lobe circadian pacemaker by in situ and in vitro recording of neural activity in the cricket *Gryllus bimaculatus*. *J. Comp. Physiol.* 171: 1-7.
- Wu, C. Y.** 1989. Receptor in insect II. Electroretinogram of the compound



eye in the oriental fruit fly *Dacus dorsalis* Hendel. Bull. Inst. Zool., Academia Sinica 28: 7-13.

收件日期：1995年5月27日

接受日期：1995年8月20日

# Circadian Rhythm of Heart Rate and Electroretinogram in the Taiwan Giant Cricket, *Brachytrupes portentosus* Lichtenstein

Bo-Hong Lee, Jin-Tun Lin and Chin-Yih Wu\* Department of Biology, National Taiwan Normal University, 88 Ting Chou Rd, Sec 4, Taipei, Taiwan, R.O.C.

## ABSTRACT

Continuous recordings were made of the heart rates (HRs) and electroretinograms (ERGs) of male Taiwan giant crickets *Brachytrupes portentosus* under a constant temperature of 25°C and after adapting to total darkness. Results show that HRs and ERGs had the same circadian rhythms during the day (06:00–18:00) as well as at night (18:00–06:00). Changes in light and temperature greatly affected on HRs and ERGs. If the insect's bilateral optic stalks were removed, then the circadian rhythm of HRs disappeared, whereas that ERGs remained.

**Key words:** Circadian rhythm, ERGs, HRs, Taiwan giant cricket