

# コオロギの産卵行動における律動運動の パターン・ジェネレーター

小橋良子\*<sup>1</sup> 山口恒夫\*<sup>2</sup>

## 要 約

コオロギの産卵管弁駆動筋から筋電図を誘導記録し、産卵行動の発現と関連する律動性バーストのサイクル・ピリオド、バースト持続時間、バースト開始時間を定量的に解析した。非束縛条件下の標本では、律動性バーストの時間パターンは産卵行動を構成する一連のステップ（探索、位置決め、産卵管の刺入、産卵管の持ち上げ、静止、卵産下）の順序に従って変動した。正常標本での神経索切断（第4腹部神経節と最終腹部神経節の間）や、神経索切断標本での産卵管の圧迫刺激によって、産卵管の持ち上げ時または卵産下時の律動性バーストが現れた。ムスカリン性コリン作動性薬である  $2 \times 10^{-3} \text{M}$  pilocarpine を神経索切断した標本に投与すると、上記2種類の律動性バーストが交互に繰り返して現れた。これらの結果は、産卵運動プログラムのうちの卵産下に関わるプログラムのパターン・ジェネレーターが、最終腹部神経節に存在することを示唆している。

## 序 文

一般に、哺乳類を含む多くの動物において、律動運動の発現は中枢パターン・ジェネレーター（central pattern generator; CPG）によって駆動されると考えられている。このCPGの神経機構に関しては、脊椎動物に比べ神経細胞の数が少なく解析しやすい節足動物において多くの研究が行われている。昆虫の産卵行動に関してもCPGによって駆動され、中枢が腹部神経節に存在することを示す例がいくつか報告されている<sup>1-3)</sup>。

雌コオロギの一連の産卵行動は、探索（searching）→位置決め（positioning）→産卵管の刺入（penetration）→産卵管の持ち上げ（short lift）→静止（quiescent）→卵産下（deposition）→産卵管の引き抜き（withdrawal）というステップから構成されている<sup>3-5)</sup>（図1A）。すなわち、サブストレート（地面）の上に置かれた交尾後の雌コオロギは、まずサブストレートが湿って産卵可能であるかを探索する<sup>6)</sup>。探索後、コオロギは肢を伸ばし、体を持ち上げ、産卵管をサブストレートに突き立てる（位置決め）。次に、肢位置は動かさずに、体を後ろ方向に移動させて、産卵管を徐々にサブストレートに刺入し

たのち、卵一個分の長さだけ産卵管を持ち上げ、その状態で短期間静止する。この静止期間中に生殖小室（産室）内で受精が行われたのち、腹部を弓なりに伸展させるとともに、生殖小室から出た卵を産卵管に沿って移動させ、サブストレートに産下する<sup>5)</sup>。通常、卵の移動に伴って産卵管がふたたびサブストレートに入れられると、卵産下→産卵管の持ち上げ→静止というステップが、数回繰り返して現れる。

コオロギの産卵管は、背側弁と腹側弁からなる左右1対4本の弁で構成され、背側弁の隆起は腹側弁の溝の中を自由にスライドすることができる構造となっている。このような、産卵管がサブストレートに突き刺さった状態で運動している間、産卵管弁には律動運動（スライド運動）が現れる。

本研究では、フタホシコオロギ（*Gryllus bimaculatus*）を用いて、1）産卵管弁の律動運動が、いわゆる中枢神経系内のCPGによって駆動されている可能性の有無、2）律動運動の発現に対する上位中枢からの影響、3）歩行のような律動運動を駆動すると考えられているpilocarpine（ムスカリン性コリン作動性薬）の産卵行動発現系に対する効果を、それぞれ明らかにすることを試みた。なお、本研究の大部分は1994年から1996年にかけて岡山大学理学部生物学教室で行われたことを付

\*1 川崎医療福祉大学 医療技術学部 感覚矯正学科 \*2 川崎医療短期大学 第一看護科  
（連絡先）小橋良子 〒701-0193 倉敷市松島288 川崎医療福祉大学

記する。

## 材料と方法

### 1. 実験材料

実験材料として、28°C、12時間明暗周期の条件下で、岡山大学理学部生物学教室で飼育しているフタホシコオロギのうち、肢、産卵管に欠損のない、性的に成熟した（成虫脱皮後11～16日）交尾後の雌個体を用いた。

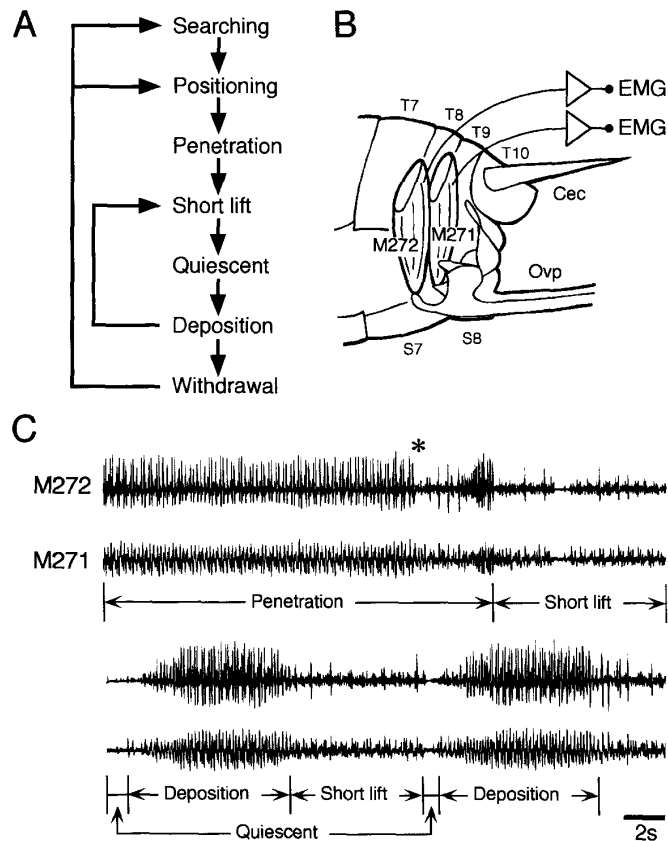


図1 (A) 雌コオロギの一連の産卵行動。(B) 筋電図記録法の模式図。エナメルコートされた銅線を、第8, 9背板に開けた穴からM272, M271に挿入して、産卵行動中の筋電図を同時記録した。この図では、背板の内側に付着している内突起は、省略されている。(C) 得られた筋電図。上下のトレースは連続記録で、産卵管の刺入の途中から、3度目の産卵管の持ち上げまでの電気的活動が記録されている。産卵管の刺入のとき、しばしば休息や、入れ直しが起こる。図では、\*のところで産卵管の入れ直しをしている。Cec; 尾葉, EMG; 筋電図, Ovp; 産卵管, S7, 8; 第7, 8腹板, T7~10; 第7~10背板。

### 2. 産卵行動中の非束縛標本からの筋電図記録

コオロギの第8, 9背板側面に、虫ピンでクチクラに小さな穴を開け、そこから記録電極（エナメルコートされた銅線；直径100 $\mu$ m）を腹側産卵管弁駆動筋M272, 背側産卵管弁駆動筋M271に挿入し、ワックスを用いて背板に固定した（図1B）。また、腹部背板の心臓を避けた位置に、記録電極と同材料で作った不関電極を挿入、固定した。電極を装

着したコオロギを、湿ったきめの細かい土を入れた産卵場所（サブストレート；幅4 $\times$ 奥行き1 $\times$ 深さ1.5 cm）のある透明アクリルケース（幅7 $\times$ 奥行き4 $\times$ 高さ4.5 cm）に入れた。このケースの中でコオロギは自由に動き産卵することが可能であり、正常な産卵行動中の一連の筋電図の記録を得ることができた（図1C）。

### 3. 解剖および開腹標本からの筋電図記録

翅と肢を切断後、背側を上にして、産卵管弁駆動筋が反り返らないように窪みを作ったパラフィン台に、虫ピンとホチキスの歯を用いて動物を固定した。その後、背側正中線に沿って腹部クチクラを切開し、消化管、卵巣、付属腺、脂肪を取り除いて、産卵管弁駆動筋を露出させた。次に、露出した産卵管弁駆動筋などが乾燥しないように、腹部をコオロギ用生理塩類溶液（NaCl 150 mM; KCl 9 mM; CaCl<sub>2</sub> 5 mM; NaHCO<sub>3</sub> 2 mM; dextrose 40 mM; pH 7.2）で満たした。

直径50 $\mu$ mのタンゲステン線を電解研磨したのち、スチレンで絶縁し、先端だけタンゲステンを露出させたものを記録電極として用いた。産卵管弁駆動筋上に、マニピュレーターを用いて記録電極を押し当てることにより、筋電図を記録した。この状態で、後述の神経索の切断実験や pilocarpine の投与実験を行った。

pilocarpine (pilocarpine hydrochloride; Sigma製) は、生理塩類溶液で10<sup>-1</sup>Mに希釈し、-20°Cで保存した。使用前に、種々の濃度（1 $\times$ 10<sup>-4</sup>～5 $\times$ 10<sup>-2</sup>M）に希釈し、同一個体に低濃度から順に投与した。

pilocarpine は、背側が切り開かれている腹部に、ピペットで滴下した。この場合、乾燥を防ぐ目的で、あらかじめ腹部内に満たされた生理塩類溶液は、pilocarpine の滴下と連動させ、キムワイプの細片による毛細管現象を利用して排出した。pilocarpine を排出する場合には、生理塩類溶液の滴下と連動させた。

### 4. 断頭標本への pilocarpine 注入

コオロギを断頭し、体液の漏出を防ぐために切断面にワセリンを塗布した。実験には断頭後20分以上経った個体を用いた。断頭により、産卵管弁にスライド運動が起こる個体が若干観察されたが、その個体は実験に用いなかった。断頭刺激によって、産卵行動が生じた標本は認められなかった。pilocarpine は、1 mlのシリンジを用いて、コオロギ腹部左側面から一定量（0.05 ml）腹腔内へ注入した。注入後直ちにコオロギを、ポリプロピレンケース（幅23 $\times$ 奥行き17 $\times$ 高さ8 cm）に移し、行動を観察した。産

卵用のサブストレートには、湿ったきめの細かな土をポリプロピレンケースの底に敷いたもの（深さ2 cm）を用いた。

## 結 果

### 1. 非束縛条件下での産卵管弁の律動運動

自由に行動可能な標本（非束縛標本）における産卵行動中の産卵管弁駆動筋からの筋電図記録は、Ogawa<sup>3)</sup>がM271ですで行っているが、本実験では、M272とM271の同時記録を行った。Ogawaの報告と同様に、M272でも、産卵管の刺入、卵産下、産卵管の持ち上げの間、安定した律動運動パターンが得られた（図1C）。また、M272とM271は互いに拮抗して収縮しているのが認められた。しかし、産卵管の刺入時、M272にはM271の収縮と異なり、ダブルレット様の律動的なバーストが現れた（図2A, 上段の記録）。このダブルレット様のバーストのうち、周期の短いバーストのサイクル・ピリオドは $120 \pm 13.0$ ミリ秒（平均 $\pm$ 標準偏差）、バースト持続時間は $43 \pm 4.9$ ミリ秒であるのに対し、周期の長いバーストのサイクル・ピリオドは $243 \pm 26.9$ ミリ秒、バースト持続時間が $50 \pm 5.9$ ミリ秒であった（両周期とも  $n=50$ ）。また、卵産下時では、産卵管の刺入時に見られたものと同様、ダブルレット様のバーストが連続的に現れたほか、トリプレット様のバーストも連続的に現れた（図2A, 中段の記録）。卵産下時のサイクル・ピリオドは $161 \pm 54.5$ ミリ秒、バースト持続時間は $49 \pm 7.6$ ミリ秒であった（ $n=100$ ）。産卵管の刺入時と卵産下時の収縮パターンは非常によく似ていて、回帰直線も似た傾きを示した（図2B）。卵産下時のバースト・パターンでは、バースト持続時間は60ミリ秒以下と短く、サイクル・ピリオドが変化しても、バースト持続時間に余り変化は見られなかった。

これに対し、産卵管の持ち上げ時では、サイクル・ピリオド、バースト持続時間ともにはばらつきが大きかった（それぞれ $357 \pm 99.5$ ミリ秒と $162 \pm 43.8$ ミリ秒、 $n=100$ ）（図2B）。また、産卵管の持ち上げ時のバースト持続時間は70ミリ秒以上となり、サイクル・ピリオドが長くなるのに比例してバースト持続時間も長くなり、回帰直線の傾きも卵産下時とは明らかに異なっていた。

### 2. 神経索の切断による律動活動の発現

腹部の切開をしたのち、産卵管弁へ圧迫刺激を加えたところ、100%の標本で、刺激中何らかの電気的活動がM272に発生した（ $n=21$ ）。刺激を停止するとこの電気的活動も停止した。次に、第4腹部神経節と最終腹部神経節の間で神経索を切断すると、

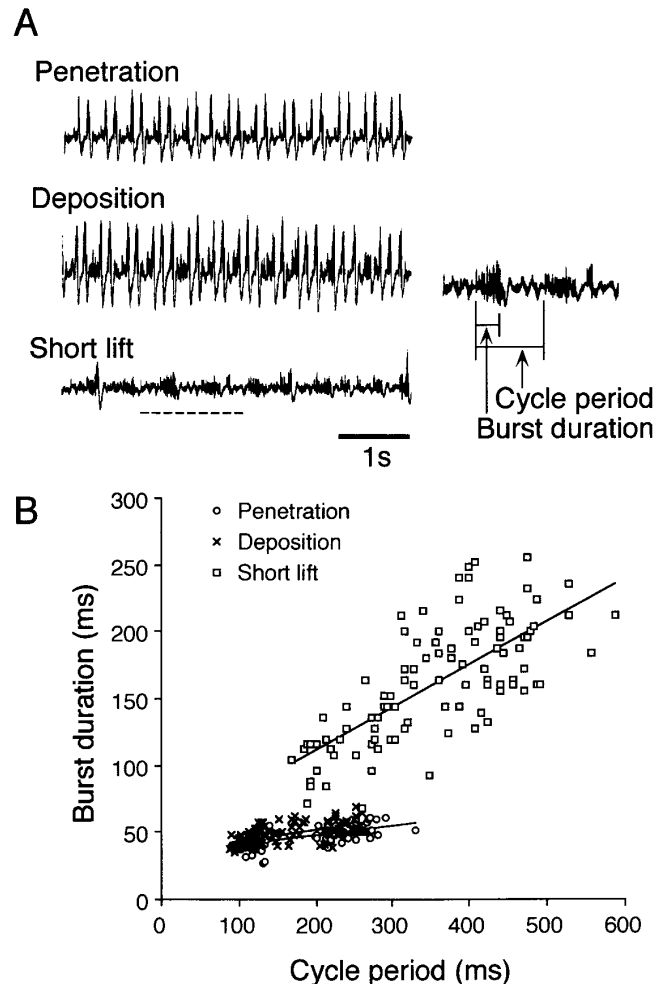


図2 (A) 非束縛条件下で産卵行動中の個体から得られたM272の筋電図。左のトレースは上から順にそれぞれ産卵管の刺入時、卵産下時、産卵管の持ち上げ時に誘導されたもの。右のトレースは、左に示されている産卵管の持ち上げ時の記録の一部（点線部）について、時間軸を引き伸ばしたもの。(B) 一連の産卵行動中に得られたサイクル・ピリオドとバースト持続時間との関係。各直線は、100回のバースト・サイクルからプロットされた回帰直線。

85.7%の標本で自発的に電気的活動が現れるが、圧迫刺激を加えると100%の標本でM272に電気的活動が発生した。さらにその81.0%の標本では、刺激停止後も電気的活動が持続した。このうち、48.4%の標本には安定した律動運動が現れた。安定した律動活動のうち、約60%がバースト持続時間が短く、サイクル・ピリオドが変化してもバースト持続時間は余り変化しない活動パターン（卵産下様活動パターン）を示し、約40%がバースト持続時間が長く、サイクル・ピリオドに応じてバースト持続時間が長くなる活動パターン（産卵管の持ち上げ様活動パターン）を示した（図3）。神経索切断標本に現れる電気的活動パターンは、一般に、卵産下様活動パターンまたは産卵管の持ち上げ様活動パターンのどちらかであって、一方の活動パターンから他方の活動パターンに変わることはなかった。神経索の切断により現れた卵産下様活動パターンは、非束縛条件下で

の卵産下活動パターンに比べて、サイクル・ピリオドは長くなり、バースト持続時間は短くなる傾向があった。また、非束縛条件下で観察されたダブルレット様またはトリプレット様の活動パターンは、明瞭ではなかった。産卵管の持ち上げ様活動パターンは標本差が大きく、非束縛条件下での活動パターンに比べると、サイクル・ピリオド、バースト持続時間ともに、ばらつきが大きかった。切断後に産卵管弁を圧迫刺激している最中には、52.4%で安定した律動活動が現れ、そのうち、産卵管の持ち上げ様活動パターンが90%を占めた。

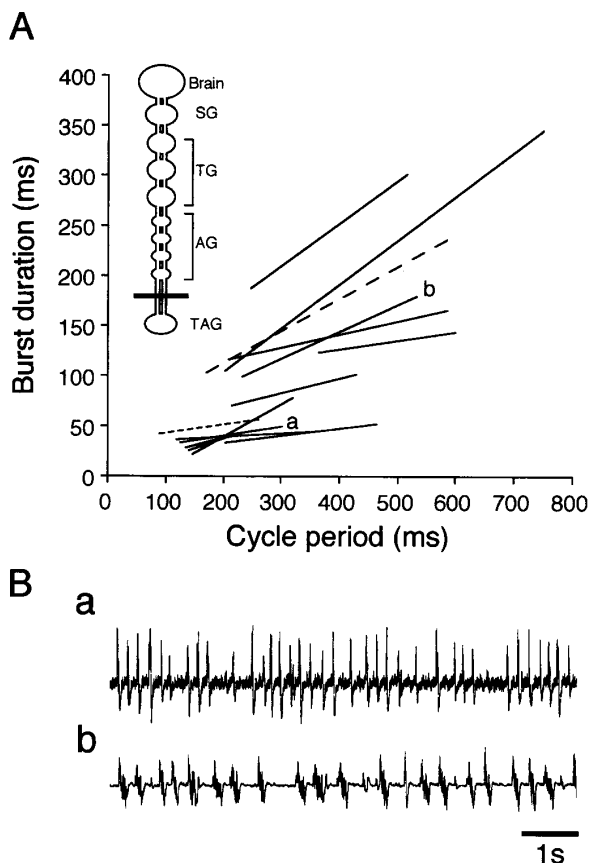


図3 神経索切断がM272のサイクル・ピリオドとバースト持続時間へ与える影響。(A) 神経索切断により発現する律動活動のサイクル・ピリオドとバースト持続時間との関係。実線は12標本、各50回のバースト・サイクルからプロットされた回帰直線。点線と破線はそれぞれ非束縛条件下での卵産下時と産卵管の持ち上げ時に得られた回帰直線。挿入図は神経索の切断部位を示す。(B) aは卵産下様活動パターンを示す標本から、bは産卵管の持ち上げ様活動パターンを示す個体から記録された筋電図。SG; 食道下神経節, TG; 胸部神経節, AG; 腹部神経節, TAG; 最終腹部神経節。

### 3. pilocarpine の投与による律動活動の発現

神経系が正常な開腹標本に pilocarpine を投与すると、M272に筋収縮が現れた。pilocarpine の閾値は、 $2 \times 10^{-4} \sim 2 \times 10^{-3} \text{M}$  で、標本によって異なるとともに、M272の活動パターンも一様ではなかった。例えば、 $2 \times 10^{-3} \text{M}$  の pilocarpine を投与する

と、まず、産卵管の持ち上げ様活動パターンを示すが、時間が経過すると、卵産下様活動パターンと産卵管の持ち上げ様活動パターンが交互に繰り返し現れた。 $5 \times 10^{-3} \text{M}$  では、前述のパターンの繰り返しだが、投与後直ちに現れ、産卵管弁のスライド運動が観察された。 $10^{-2} \text{M}$  を投与すると、投与後しばらくの間、上記の二つの活動パターンの繰り返しが見られるものの、時間の経過とともに、筋肉は激しく収縮するようになった。この状態では、律動性の有無を認めにくく、また、産卵管弁のスライド運動も観察できなかった。

pilocarpine による卵産下様活動パターンと、産卵管の持ち上げ様活動パターンの交互の繰り返しは、多くの標本で  $2 \times 10^{-3} \text{M}$  で安定して出現した。このような pilocarpine の効果は、開腹標本を生理塩類溶液で洗浄すると直ちに消失した。また高濃度の  $10^{-2} \text{M}$  では、多くの標本で産卵管弁の動きが阻害された。このような状態では、洗浄しても、pilocarpine の影響が消失するのに10分以上必要であった。

非束縛条件下での、卵産下活動パターンと産卵管の持ち上げ活動パターンの繰り返し(図4Aa)と、pilocarpine によって引き起こされた収縮の両活動パターンの繰り返し(図4Ab)は、極めて近似している。すなわち、卵産下様活動パターンは、バースト持続時間が少し短くなっているものの、非束縛条件下での卵産下活動パターンとほぼ同じ回帰直線を示す(図4B)。また、産卵管の持ち上げ様活動パターンは、非束縛条件下での活動パターンと比べ、サイクル・ピリオドが約1.5倍、バースト持続時間が約2倍になっているものの、やはり、回帰直線の傾きは似ているといえる(図4C)。1回の卵産下(もしくは卵産下様活動パターン)にかかる時間を  $T_1$ 、1回の卵産下から次の卵産下までの時間を  $T_2$  としたとき、非束縛条件下では、 $T_1$  は  $T_2$  の値が変わっても  $6.5 \pm 0.5$  秒でほぼ一定しているのに対し、pilocarpine で誘発された活動パターンの繰り返しでは、 $T_1$ 、 $T_2$  ともに短くなり、また、 $T_2$  に比例して  $T_1$  が長くなっている(図4D)。

卵産下様活動パターンと産卵管の持ち上げ様活動パターンの繰り返しを制御している部位を特定するために、 $2 \times 10^{-3} \text{M}$  の pilocarpine によって繰り返しのリズムが出ている標本で、断頭、第4腹部神経節と最終腹部神経節の間での神経索の切断を行ったところ、どちらの切断後でも活動パターンの繰り返しが現れた(図5)。

### 4. 断頭標本での pilocarpine の影響

pilocarpine によって引き起こされた活動パターンが、実際の卵産下と産卵管の持ち上げに対応して

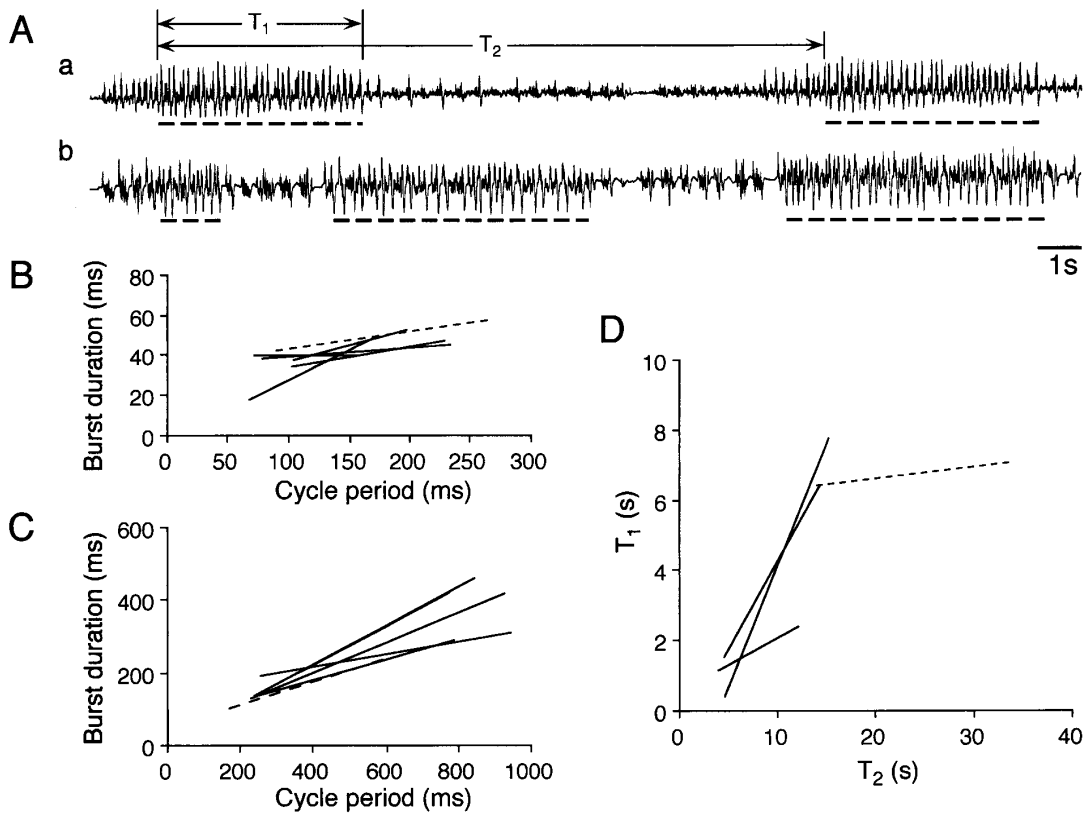


図4 非束縛条件下で生じた M272の周期活動と pilocarpine ( $2 \times 10^{-3}M$ ) により引き起こされた M272の周期活動との比較。(A) a; 非束縛条件下で産卵行動中の標本から得られた筋電図. b; 開腹標本への pilocarpine 投与により得られた筋電図. それぞれの点線部は卵産下または卵産下様活動パターンの時点を示す。(B) 卵産下様活動パターン時のサイクル・ピリオドとバースト持続時間との関係。(C) 産卵管の持ち上げ様活動パターン時のサイクル・ピリオドとバースト持続時間との関係. B, Cとも実線は, 5 標本, 各30回のバースト・サイクルからプロットされた回帰直線. 点線は, 非束縛条件下で得られた回帰直線。(D) 卵産下の時間 ( $T_1$ ) と次の卵産下までの時間 ( $T_2$ ) との関係. 点線は22サイクルからプロットされた回帰直線. 実線は, pilocarpine 投与の3 標本, 各12サイクルからプロットされた回帰直線.  $T_1$  と  $T_2$  は A を参照のこと.

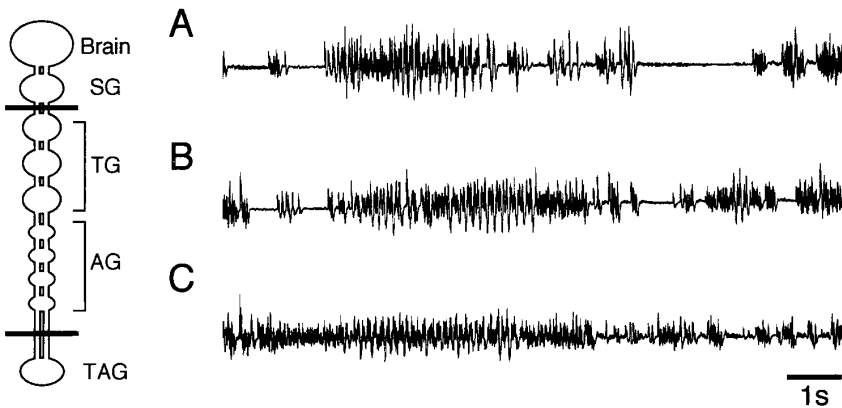


図5 pilocarpine ( $2 \times 10^{-3}M$ ) で引き起こされる産卵活動パターンに対する断頭および神経索切断の影響。(A) pilocarpine で引き起こされた M272の筋電図。(B) A の記録後, 断頭した標本からの筋電図。(C) B の記録後, 神経索を切断した標本からの筋電図. 挿入図は切断部位を示す. 他の説明は図3 参照.

いるかどうかを確かめるため, 断頭標本の腹腔内に種々の濃度 ( $1 \times 10^{-4} \sim 5 \times 10^{-2}M$ ) の pilocarpine を注入し, 反応を観察した.

$10^{-2}M$  以下の濃度の pilocarpine を断頭標本に注入すると, 姿勢を維持することができないほどの強い肢の伸展と屈曲, 産卵管弁のスライド運動, そして肢の強い屈伸に引き続いた産卵様行動 — すなわち, 位置決め様行動 (体を持ち上げ, 産卵管を下向きにし, 位置決めをするような行動) もしくは卵産

下様行動と産卵管の持ち上げ様行動の繰り返し (産卵管がサブストレートの中にあるなしに関わらず, 肢位置を動かさずに体を後方に移動させ, 腹部を弓なりに伸展させることを繰り返す行動) — が現れた. 注入した pilocarpine が高濃度 ( $10^{-2}M$ ) の場合 ( $n=22$ ), これらの運動や行動の出現率は最高値を示し, 肢の屈伸は100%, 産卵管のスライド運動は100%, 肢の屈伸に引き続いた産卵様行動は50%であった. なお, 肢の強い屈伸は半数が注入後10秒以

内に生じ、平均6分27秒間持続した。また、産卵管弁のスライド運動は半数が注入後16秒以内に生じたが、このスライド運動は、いったん停止したのち、再び始まることが多く、持続時間は測定できなかった。平均14分5秒で産卵様行動に切り替わり、短い標本では2分2秒間、長い標本では1時間以上産卵様行動は持続した。非束縛条件下では、産卵管の刺入後でないで産卵管弁にスライド運動は生じないが、断頭標本に pilocarpine を注入した場合、産卵様行動より先に産卵管弁にスライド運動が生ずるのが特徴的であった。

pilocarpine の投与により産卵様行動が引き起こされた標本 ( $10^{-2}M$  の場合は50%) のうち、位置決め様行動および卵産下様行動と産卵管の持ち上げ様行動の繰り返しを示したものは36.4%、位置決め様行動のみ示したものは9.1%、卵産下様行動と産卵管の持ち上げ様行動の繰り返しのみ示したものは4.5%であった。産卵様行動を示した全42標本のうち、4標本で卵の移動が観察されたが、卵はサブストレート上に産みつけられたり、産卵管弁の途中で外れたりして、正常にサブストレート中に産下されることはなかった。卵の移動を伴わない点を除けば、非束縛条件下と変わらない行動をする標本も多数認められた。また、産卵管弁のスライド運動はするものの、産卵様行動をとらない標本でも、卵の移動が4標本で観察された。

## 考 察

コオロギの産卵行動の発現に関しては、Carrowら<sup>1)</sup>が *Acheta domesticus* を用いて報告している。彼らは産卵管の下方向への引き下げを産卵行動と定義し、腹部の単離や神経索切断実験の結果と、産卵行動が交尾後の成熟成虫のみならず、処女成虫でも発現されることから、産卵行動の中樞は腹部神経節に存在するものと考えている。Dambach と Igelmund<sup>4)</sup> は3種のコオロギ (*Phaeophilacris spectrum*, *Oecanthus pellucens*, *Gryllus bimaculatus*) の、産卵行動時における産卵管弁の動きをフィルム解析し、産卵管の刺入、卵産下、産卵管の引き上げの各ステップで産卵管弁の動きが異なることを報告している。また、これらの産卵管弁の律動運動は、神経索を切断しても続くことを述べている。Sugawara と Loher<sup>5)</sup> はコオロギ *Teleogryllus commodus* を用いて、一連の産卵行動のステップとそれに関連して体内で生じることについて詳細に調べ、産卵管の持ち上げ時に卵は生殖小室に移動し、静止しているときに受精が行われることを報告している。一方、Ogawa<sup>3)</sup> はフタホシコオロギを用いて、産卵行動中

の背側産卵管弁駆動筋 M271から筋電図を記録し、産卵行動の各ステップにおける律動活動の違いを明白にした。さらに Ogawa は、M271に卵産下様活動パターンを開始させる介在ニューロンが、最終腹部神経節内に存在していることを明らかにし、また、卵産下様活動パターンと産卵管の刺入様活動パターンの両者に対応した二相性脱分極を示す介在ニューロンの存在も明らかにした。しかしながら、神経索の切断により誘導された律動運動のパターンについての詳しい解析は行っていない。

フタホシコオロギの背側産卵管弁は4対の筋肉で支配されているのに対し、腹側産卵管弁は2対の筋肉で支配されている。このため、本研究ではより解析しやすいと思われる腹側産卵管弁駆動筋 M272を、非束縛条件下で筋電図記録し、これをもとに、神経索の切断や、律動運動を駆動するといわれる pilocarpine<sup>7-14)</sup> の M272に与える影響を調べた。

非束縛条件下において、産卵管の刺入のとき、M272は背側産卵管弁駆動筋 M271ではみられないダブルレット様のバーストから成る活動リズムを示した。このようなリズムは、複数標本で安定して記録されたため、アーティファクトではないと考えられる。M272では、サイクル・ピリオドとバースト持続時間のプロットで求められた回帰直線には、産卵管の刺入時と卵産下時で、はっきりとした違いがみられなかった。しかし、産卵管の刺入では安定したダブルレット様のリズムをとるのに対し、卵産下では、ダブルレット様のリズムからトリプレット様のリズムに移行することが多く観察された。Ogawa<sup>3)</sup> は卵産下と産卵管の刺入それぞれに対応する介在ニューロンが存在し、それぞれの介在ニューロンを含む別個のニューロン回路は、互いに完全に独立しているのではなく、機能的に一部が重なって動作するということを提案している。非束縛条件下で M272から観察された律動活動の特徴は、この提案を支持するものと考えられる。

中枢神経系内には、一般に、律動運動を駆動するCPGが存在するといわれている。事実、多くの動物において、上位中枢や末梢からの入力がない状態でも歩行、飛翔といった律動運動を発現することができる<sup>15)</sup>。例えば、バッタの一種 *Schistocerca americana* では、胸部神経節と腹部神経節の間で神経索を切断しても、腹側開筋に安定した律動的な産卵穴掘り行動が現れる<sup>16)</sup>。フタホシコオロギにおいては、第4腹部神経節と最終腹部神経節の間での神経索切断標本の85.7%に、産卵管弁駆動筋の電気的活動が、さらにその48.4%には、安定した律動的活動が現れた。神経索の切断により現れる律動的活動

は、卵産下様活動パターンまたは産卵管の持ち上げ様活動パターンのどちらかであり、記録中に活動パターンが別のタイプの活動パターンに変わることはなかった。このことは、最終腹部神経節内に、卵産下と産卵管の持ち上げそれぞれの律動活動を駆動するオシレーターが存在することを示唆する。また、神経索の切断後に産卵管弁を指で押さえ、軽く圧迫すると、100%の標本に電気的活動が誘導されるが、このうちの52.4%に安定した律動運動が現れ、そのほとんどが産卵管の持ち上げ様活動パターンを示した。これは指による圧迫刺激がサブストレート中で産卵管弁に与えられる機械刺激に近似しているためと考えられる。このことから、神経索の切断後に生じる卵産下様活動パターンもしくは産卵管の持ち上げ様活動パターンの発現の選択には、感覚情報が関与している可能性がある。感覚フィードバックが律動運動のパターン形成に寄与していることは、トノサマバッタにおける飛翔<sup>17)</sup>や歩行<sup>18)</sup>、産卵穴掘り行動<sup>19)</sup>、ナナフシにおける歩行<sup>20)</sup>で報告されている。

産卵行動に影響を与える物質として、コオロギ *Acheta domesticus* では prostaglandin E<sub>2</sub><sup>6)</sup> が、トノサマバッタでは proctolin<sup>21,22)</sup> や octopamine<sup>23)</sup> が知られている。また、これらとは別に、ザリガニ<sup>7,8)</sup>、トノサマバッタ<sup>9,10)</sup>、ナナフシ<sup>11-13)</sup>、ガの幼虫<sup>14)</sup> において、歩行などの律動運動を誘導する物質として、ムスカリン性コリン作動性薬である pilocarpine が知られている。

本研究では、pilocarpine がフタホシコオロギの産卵行動発現系に与える影響を調べる目的で、開腹標本を用いて M272 の電気的活動への影響を解析した。その結果、まず pilocarpine の作用閾値は  $2 \times 10^{-4}$  ~  $2 \times 10^{-3}$  M であるが、 $10^{-2}$  M 以上の高濃度では、かえって多くの標本では律動活動が阻害されることが明らかになった。安定した律動活動を引き起こすには、 $2 \times 10^{-3}$  M が最も有効であったが、この濃度はナナフシの歩行運動発現系において有効な濃度 ( $2 \times 10^{-3}$  ~  $5 \times 10^{-3}$  M)<sup>12)</sup> と同じであった。興味深いことに、コオロギでは、pilocarpine により卵産下様活動パターンと産卵管の持ち上げ様活動パターンが交互に繰り返して現れた。pilocarpine により引き起こされた卵産下様活動パターンと産卵管の持ち上げ様活動パターンは、非束縛条件下で記録された卵産下と産卵管の持ち上げのパターンとその特徴

がよく似ていた。ただし、これらの交互の繰り返しのリズムの時間的なパラメーター自体は、ばらついていて、非束縛条件下よりも卵産下様活動パターンの持続時間が長くなるものもあったが、ほとんどの標本ではより短くなる傾向が明瞭であった。この交互の繰り返しは、第4腹部神経節と最終腹部神経節間での神経索切断によっても失われることがなかった。このことは前述のように、最終腹部神経節内に卵産下と産卵管の持ち上げを駆動するオシレーターが存在することを示唆している。

以上の実験は、固定し、開腹した標本から得られた結果である。このような標本で現れた律動活動は fictive なものである。このため、pilocarpine により誘発された律動活動が、正常な産卵行動に対応するものであることを確かめるために、断頭標本の腹腔内に pilocarpine を直接注入して、現れる行動を観察した。pilocarpine 注入後、まず、肢の強い屈伸が現れ、これとほぼ同時に、産卵管弁のスライド運動が観察された。この後、肢の屈伸は止まり、産卵様行動が発現した。

このような pilocarpine により現れる産卵様行動は、卵の移動を伴わない点を除けば、ほぼ自然状態で観察されるものと同じような行動と考えられる。卵の移動を伴わない理由として、卵巣から生殖小室への卵の移動や受精等、体内で産卵のために必要な反応が行われていないことが一因と考えられる。さらに、pilocarpine により引き起こされる律動活動では、卵産下様活動パターンと産卵管の持ち上げ様活動パターンの交互の繰り返しのリズムが、非束縛条件下でみられたリズムよりもかなり短くなることから、正常に卵産下が行えなくなっていることが考えられる。また、産卵管弁のスライド運動は示すが、産卵様行動を行わない個体においても、卵の移動が生じたことから、産卵管弁のスライド運動は、卵産下様活動パターンを示している可能性が示唆される。pilocarpine の断頭標本への注入実験から、pilocarpine は直接もしくは間接的に産卵行動の中核パターン・ジェネレーターに作用し、産卵様行動を発現している可能性が推察される。

本論文の公表に当たり、種々ご配慮賜った喜多弘教授(川崎医療福祉大学医療技術学部感覚矯正学科)に厚くお礼申し上げます。

## 文 献

- 1) Carrow GM, de Jesus Cabeza R and Flores G (1982) Isolation of the abdomen releases oviposition behaviour in females of the cricket, *Acheta domesticus*. *Journal of Insect Physiology*, **28**, 401-404.
- 2) Thompson KJ (1986a) Oviposition digging in the grasshopper. I Functional anatomy and the motor programme. *Journal of Experimental Biology*, **122**, 387-411.
- 3) Ogawa H (1992) Neural basis of rhythmic movement in insects. Chapter IV. Control of the rhythmic movements of ovipositor valves in the cricket, *Gryllus bimaculatus*. *Ph.D. Dissertation for Okayama University*.
- 4) Dambach M and Igelmund H (1983) Das Ei-Ablageverhalten von Grillen (Saltatoria: Grylloidea). *Entomologia Generalis*, **8**, 267-281.
- 5) Sugawara T and Loher W (1986) Oviposition behavior of the cricket *Teleogryllus commodus*: observation of external and internal events. *Journal of Insect Physiology*, **32**, 179-188.
- 6) Destephano DB, Brady UE and Farr CA (1982) Factors influencing oviposition behavior in the cricket, *Acheta domesticus*. *Annals of the Entomological Society of America*, **75**, 111-114.
- 7) Chrachri A and Clarac F (1987) Induction of rhythmic activity in motoneurons of crayfish thoracic ganglia by cholinergic agonists. *Neuroscience Letters*, **77**, 49-54.
- 8) Braun G and Mulloney B (1993) Cholinergic modulation of the swimmeret motor system in crayfish. *Journal of Neurophysiology*, **70**, 2391-2398.
- 9) Ryckebusch S and Laurent G (1993) Rhythmic patterns evoked in locust leg motor neurons by the muscarinic agonist pilocarpine. *Journal of Neurophysiology*, **69**, 1583-1595.
- 10) Baudoux S, Duch C and Morris OT (1998) Coupling of efferent neuromodulatory neurons to rhythmical leg motor activity in the locust. *Journal of Neurophysiology*, **79**, 361-370.
- 11) Büschges A (1995) Role of local nonspiking interneurons in the generation of rhythmic motor activity in the stick insect. *Journal of Neurobiology*, **27**, 488-512.
- 12) Büschges A, Schmitz J and Bässler U (1995) Rhythmic patterns in the thoracic nerve cord of the stick insect induced by pilocarpine. *Journal of Experimental Biology*, **198**, 435-456.
- 13) Büschges A (1998) Inhibitory synaptic drive patterns motoneuronal activity in rhythmic preparations of isolated thoracic ganglia in the stick insect. *Brain Research*, **783**, 262-271.
- 14) Johnston RM and Levine RB (1996) Crawling motor patterns induced by pilocarpine in isolated larval nerve cords of *Manduca sexta*. *Journal of Neurophysiology*, **76**, 3178-3195.
- 15) Delcomyn F (1980) Neural basis of rhythmic behavior in animals. *Science*, **210**, 492-498.
- 16) Thompson KJ (1986b) Oviposition digging in the grasshopper. II Descending neural control. *Journal of Experimental Biology*, **122**, 413-425.
- 17) Pearson KG and Wolf H (1987) Comparison of motor patterns in the intact and deafferented flight system of the locust. I Electromyographic analysis. *Journal of Comparative Physiology A*, **160**, 259-268.
- 18) Wolf H and Burrows M (1995) Proprioceptive sensory neurons of a locust leg receive rhythmic presynaptic inhibition during walking. *Journal of Neuroscience*, **15**, 5623-5636.
- 19) Belanger JH and Orchard I (1992) The role of sensory input in maintaining output from the locust oviposition digging central pattern generator. *Journal of Comparative Physiology A*, **171**, 495-503.
- 20) Hess D and Büschges A (1999) Role of proprioceptive signals from an insect femur-tibia joint in patterning motoneuronal activity of an adjacent leg joint. *Journal of Neurophysiology*, **81**, 1856-1865.
- 21) Belanger JH and Orchard I (1993a) The locust ovipositor opener muscle: properties of the neuromuscular system. *Journal of Experimental Biology*, **174**, 321-342.
- 22) Belanger JH and Orchard I (1993b) The locust ovipositor opener muscle: proctolinergic central and peripheral neuromodulation in a centrally driven motor system. *Journal of Experimental Biology*, **174**, 343-362.
- 23) Sombati S and Hoyle G (1984) Generation of specific behaviors in a locust by local release into neuropile of the natural neuromodulator octopamine. *Journal of Neurobiology*, **15**, 481-506.



# Pattern Generator for Rhythmical Movements during Oviposition Behavior in the Cricket

Yoshiko KOBASHI and Tsuneo YAMAGUCHI

(Accepted Jun. 7, 2000)

Key words : PATTERN GENERATION, RHYTHMIC ACTIVITY, PILOCARPINE, OVIPOSITION BEHAVIOR

## Abstract

A quantitative analysis of electromyograms recorded from the cricket ovipositor valve muscles was done in terms of the cycle period, burst duration, and relative burst onset times of rhythmic bursts associated with oviposition behavior. In a freely moving animal, the temporal pattern of rhythmic bursts changed in the following sequential order during oviposition behavior: searching, positioning, penetration of ovipositor, short lift of ovipositor, rest phase, egg deposition and withdrawal of ovipositor. Two types of rhythmic bursts, one occurring during short lift of the ovipositor-step and the other during the egg deposition-step, were produced by transection of the ventral nerve cord between the fourth and terminal abdominal ganglia in an intact animal or by pinching the ovipositor in a transected animal. In a transected animal,  $2 \times 10^{-3}$ M pilocarpine (muscarinic cholinergic agonist) applied to the ganglia evoked repeatedly in turn the two types of rhythmic bursts. These facts showed the presence of a pattern generator for the egg-laying portion of the oviposition motor program in the terminal abdominal ganglion.

Correspondence to : Yoshiko KOBASHI

Department of Sensory Science, Faculty of Medical Professions  
Kawasaki University of Medical Welfare  
Kurashiki, 701-0193, Japan  
(Kawasaki Journal of Medical Welfare Vol.10, No.1, 2000 115–123)