บทคัดย่อ

T144638

หนอนเยื่อไผ่ *Omphisa fuscidentalis* Hampson เป็นระยะตัวหนอนของผีเสื้อกลางคืน (moth) ในวงศ์ Pyralidae อันดับ Lepidoptera จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์ (JHA, S-methoprene) มีผลชักนำให้หนอนเยื่อไผ่เข้าสู่ระยะดักแด้และทำให้ปริมาณน้ำตาล trehalose ในฮีโมลิมพ์ลดลง และมีรายงานว่าฮอร์โมนจูวีไนล์มีผลเพิ่มอัตราเมตาบอลิซึมและอัตราการใช้ออกซิเจนใน *Dermestes vulpinus* ในระยะลาร์วาขั้นสุดท้าย, *Blatella germanica*, *Spilostetus pandurus* และ *Oncopeltus fasciatus* ในลาร์วาระยะที่ 5 และตัวเต็มวัย ในการวิจัยครั้งนี้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการใช้ออกซิเจน และการทำงานของเอนไซม์ cytochrome C oxidase ซึ่งในกระบวนการหายใจระดับเซลล์นั้นออกซิเจนจะทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเลคตรอนซึ่งส่งต่อมาจากเอนไซม์ cytochrome C oxidase เพื่อสร้างพลังงานในรูปของ ATP และเพื่อควบคุมสมดุลกรด-ด่างภายในเซลล์ ผลการศึกษาพบว่าอัตราการใช้ออกซิเจนของหนอนเยื่อไผ่ระยะลาร์วัล-ไดอะพอสที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นแบบ supradian cycle คือเกิดขึ้นเป็นจังหวะทุก 12 ชั่วโมง หนอนมีอัตราการใช้ออกซิเจนสูงสุดในช่วงเวลา 9.00-11.00 และ 21.00-23.00 น. และต่ำที่สุดในช่วงเวลา 1.00-3.00 และ 13.00-15.00 น.และเมื่อทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงอัตราการใช้ออกซิเจนตั้งแต่เดือนตุลาคม - มีนาคม พบว่าในเดือนมีนาคมหนอนมีอัตราการใช้ออกซิเจนสูงกว่าเดือนตุลาคมถึงเดือนมกราคมอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เมื่อทำการให้ JHA ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัม พบว่าอัตราการใช้ออกซิเจนเพิ่มสูงขึ้นหลังจากได้รับฮอร์โมนเป็นเวลา 7 วัน และลดต่ำลงเล็กน้อยในระยะ G0 หลังจากนั้นกลับมาเพิ่มสูงขึ้นในระยะ G1 และ G2 และเพิ่มสูงสุดเมื่อเข้าสู่ระยะ G3-G5 หลังจากนั้นทำการวัดอัตราการทำงานของเอนไซม์ cytochrome C oxidase หลังจากได้รับ JHA ความเข้มข้น 0.1, 0.5 และ 1 ไมโครกรัม พบว่าอัตราการทำงานของเอนไซม์เพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องหลังจากได้รับ JHA เป็นเวลา 1 วัน และเพิ่มสูงที่สุดเมื่อเข้าสู่ระยะ G3-G5 อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) และความเข้มข้นของฮอร์โมนที่แตกต่างกันไม่มีผลต่ออัตราการทำงานของเอนไซม์ ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการสิ้นสุดระยะไดอะพอสตามธรรมชาติ หรือการกระตุ้นโดย JHA ทำให้อัตราการใช้ออกซิเจนเพิ่มสูงขึ้นและอัตราการทำงานของเอนไซม์ cytochrome C oxidase เพิ่มสูงขึ้นเช่นเดียวกัน แสดงให้เห็นว่าในระหว่างการเกิด larval-pupal transformation ซึ่งชักนำโดย JHA จะทำให้มีการเพิ่มอัตราเมตาบอลิซึมของร่างกาย ซึ่งสัมพันธ์กับการทำงานของเอนไซม์ cytochrome C oxidase และอัตราการใช้ออกซิเจน

เมื่อทำการหาลำดับเบสของยีน cytochrome C oxidase subunit I (CO-I) ได้ fragment ขนาด 369 คู่เบส (กรดอะมิโน 123 ตัว) และมีความเหมือน (homology) สูงเมื่อเทียบกับ *Ostrinia nubilalis* (90%), *Desmia funeralis* (89%) และ *Drepana falcataria* (88%) ซึ่งเป็นแมลงในอันดับ Lepidoptera เช่นเดียวกันแสดงให้เห็นว่ายีน CO-I ของหนอนเยื่อไผ่เป็นยีนที่มีการ conserved ไว้ในสายวิวัฒนาการ ซึ่ง ลำดับเบสที่ได้มานี้สามารถนำไปใช้ในการศึกษาการแสดงออกของยีน CO-I หลังจากได้รับการกระตุ้นโดย JHA ในการศึกษาขั้นต่อไป

ABSTRACT

TE144638

Bamboo borer is a larva of the moth, *Omphisa fuscidentalis* Hampson (Lepidoptera, Pyralidae). Previous study shows that juvenile hormone analogue (JHA, S-methoprene) induced pupation of the diapause larvae and decreased trehalose level in the hemolymph. Juvenile hormone application increases the rate of oxygen consumption and metabolism in the last instar larvae of *Dermestes vulpinus,* and in fifth instar larvae and adults of *Blatella germanica, Spilostetus pandurus* and *Oncopeltus fasciatus*. It is of interest to study whether the oxygen consumption rate changes with the correlation to cytochrome C oxidase activity. In cellular respiration, oxygen acts as an electron receptor from cytochrome C oxidase to form ATP, which plays a significant role in the regulation of acid-base balance. The results indicated that oxygen consumption rate of bamboo borer larvae shows a supradian rhythm, at about 12 hrs. cycles at 25 °C during diapause. The oxygen consumption reached maximum at 9.00-11.00 AM./PM. and reached minimum at 1.00-3.00 AM./PM. During the 6-month larval diapause, from October to March, oxygen consumption rate was significantly higher in March than in October to January ($P<0.05$). When 1 μg JHA were topically applied to diapause larvae, the rate of oxygen consumption increased 7 days after the application of JHA. The rate decreased slightly in G0, increased in G1-G2 and then reached a maximum in G3-G5. Subsequently, we studied how the cytochrome C oxidase activity changes after application of 0.1, 0.5 and 1 μg JHA. Cytochrome C oxidase activity increased gradually after 1 day of JHA application and reached the maximum level in G3-G5 ($P<0.05$). Cytochrome C oxidase activity did not show dose-dependent response to JHA ranging 0.1-1 μg. These results indicate that termination of diapause, either it occurs naturally or induced artificially by JHA, associated with increments of oxygen consumption rate and cytochrome C oxidase activity. It may be that, JHA elicits the high metabolic activity that is correlated with the increment of cytochrome C oxidase activity and oxygen consumption rate in the larval-pupal transformation.

Nucleotide sequence of cytochrome C oxidase subunit I gene (CO-I) was obtained from skin of the larvae and amplified by the polymerase chain reaction (PCR). The amplified region CO-I gene was 369 basepairs (123 amino acids) fragment showing high homology with the nucleotides of *Ostrinia nubilalis* (90%), *Desmia funeralis* (89%) and *Drepana falcataria* (88%) (Lepidoptera). This result indicate that *Omphisa fuscidentalis* CO-I is a conserved gene in phylogeny. This partial sequence can be useful to the further study about the gene expression following the JHA application.