

รหัสโครงการ RSA/03/2544
โครงการ บทบาทของฮอร์โมนจูวีไนล์ต่อการเจริญของหนอนเยื่อไผ่ระยะไคอะพอส
ชื่อนักวิจัย รองศาสตราจารย์ ดร. ทิพวรรณ สิงห์ไตรภพ
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
E-mail Address : scboi020@chiangmai.ac.th
ระยะเวลาโครงการ 1 ธันวาคม 2543-30 พฤศจิกายน 2546

ในช่วงระยะไคอะพอสของหนอนเยื่อไผ่พบว่า มีปริมาณฮอร์โมนเอกไดโซนในฮีโมลิมฟ์น้อยมาก แสดงว่าต่อมโปรทอแรกซิกมีกิจกรรมการหลั่งฮอร์โมน (secretory activity) ต่ำ งานวิจัยก่อนหน้านี้รายงานว่า การให้ฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์ (JHA) แก่หนอนเยื่อไผ่ระยะไคอะพอส สามารถชักนำให้เกิดการเข้าดักแด้ได้โดยเกิดการกระตุ้นต่อมโปรทอแรกซิกและไม่เกี่ยวข้องกับสมอง โดยหลังจากการให้ JHA พบว่ากิจกรรมการหลั่งฮอร์โมนของต่อมเพิ่มขึ้น จนเป็นผลให้ปริมาณฮอร์โมนเอกไดโซนเพิ่มขึ้นภายใน 2 สัปดาห์ ซึ่งชี้ให้เห็นว่า JHA อาจไม่ได้กระตุ้นต่อมโปรทอแรกซิกให้สังเคราะห์ฮอร์โมนเอกไดโซนได้โดยตรง ดังนั้นเพื่ออธิบายกลไกของ JHA ในการกระตุ้นต่อมโปรทอแรกซิก จึงได้ทำการศึกษาถึงปริมาณ JHA ที่น้อยที่สุดที่สามารถกระตุ้นต่อมโปรทอแรกซิกได้ โดยการให้ JHA ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.25, 0.5 และ 1.0 ไมโครกรัม/5 ไมโครลิตรในอะซิโตน แล้วทำการปลูกถ่ายต่อมโปรทอแรกซิก (transplantation) ของ donor larvae ให้กับหนอนที่ไม่ได้รับฮอร์โมน (recipient larvae) ในวันที่ 1, 2 และ 3 หลังจากการให้ฮอร์โมน แล้วสังเกตดูการเปลี่ยนแปลงของ recipient larvae จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ระยะเวลาการกระตุ้นของ JHA สำหรับการชักนำการเข้าดักแด้ ใช้เวลาอย่างน้อย 1 วัน และปริมาณ JHA ที่ให้ผลดีที่สุด คือ 1 ไมโครกรัม นอกจากนี้ยังพบว่าการทำงานของต่อมโปรทอแรกซิก จะเพิ่มขึ้นในวันที่ 16 หลังจากการปลูกถ่ายต่อมโปรทอแรกซิก เป็นผลให้ปริมาณฮอร์โมนเอกไดโซนในฮีโมลิมฟ์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่งผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่า JHA กระตุ้นต่อมโปรทอแรกซิกของ donor larvae และปริมาณฮอร์โมนจากต่อมของ donor larvae มีผลไปกระตุ้นต่อมโปรทอแรกซิกของ recipient larvae (recipient PG) ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของปริมาณฮอร์โมนเอกไดโซนในฮีโมลิมฟ์ ดังนั้น recipient PG ถูกกระตุ้นด้วยฮอร์โมนเอกไดโซนที่หลั่งออกมา โดยผ่านกลไก positive feedback activation เมื่อปริมาณฮอร์โมนเอกไดโซนเหนือระดับ threshold หรือถึงระดับ suprathreshold ในการศึกษาการแสดงออกของ EcR mRNA ของหนอนเยื่อไผ่ และการทำ cloning EcR พบว่า *Omphisa EcR* มีขนาด 973 คู่เบส (กรดอะมิโน 324 ตัว) และมีความเหมือน (homology) ของ nucleotide สูงเมื่อเทียบกับ EcR ของ common buckeye, *Junonia coenia* และ tobacco hornworm, *Manduca sexta* คือมีค่า 81.1% และ 80.9% ตามลำดับ และจากการเปรียบเทียบการแสดงออกของ EcR mRNA ของต่อมโปรทอแรกซิกของหนอนที่ได้รับและไม่ได้รับ JHA พบว่า มีการเพิ่มการแสดงออกของ *Omphisa EcR* mRNA ในต่อมโปรทอแรกซิกของหนอนที่ได้รับการกระตุ้นด้วย JHA สูงกว่าหนอนในกลุ่มที่ไม่ได้รับฮอร์โมน

จากผลการทดลองดังกล่าวนี้แสดงให้เห็นว่า JHA เกี่ยวข้องกับการสิ้นสุดของระยะลาร์วัลไคอะพอสในหนอนเยื่อไผ่ โดยการเพิ่มระดับของฮอร์โมนเอคไคโซนในฮีโมลิมฟ์และเพิ่มการแสดงออกของ EcR mRNA ในต่อมโปรโทแรกซิก

นอกจากนั้นการวิจัยครั้งนี้ยังศึกษาการตอบสนองต่อฮอร์โมนจูวีไนล์ของหนอนเยื่อไผ่ที่อุณหภูมิที่แตกต่างกันคือ 13, 20, 25 และ 30°C ซึ่งกลไกการทำงานของฮอร์โมนจูวีไนล์ที่ชักนำให้หนอนเข้าสู่ดักแด้ได้นั้นเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นการทำงานของต่อมโปรโทแรกซิกในการหลั่งฮอร์โมนเอคไคโซนหลังจาก gut purge เพื่อกระตุ้นให้หนอนเกิดการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ดักแด้ ผลการศึกษาพบว่าอุณหภูมิที่ให้ผลดีที่สุดในการทดลองนี้คือที่อุณหภูมิ 25°C และ 20°C ตามลำดับ แต่การตอบสนองต่อฮอร์โมนไม่ได้ผลดีที่สุดที่อุณหภูมิที่ต่ำที่ 13°C หรือสูงเกินไปที่ 30°C ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าอุณหภูมิอาจเกี่ยวข้องกับการสิ้นสุดของระยะลาร์วัลไคอะพอสของหนอนเยื่อไผ่และอุณหภูมิสูงหรือต่ำเกินไปสามารถยับยั้งการสิ้นสุดของระยะไคอะพอส

Project Code: RSA/03/2544
Project Title: Roles of juvenile hormone on the development of the larval diapause of the bamboo borer, *Omphisa* sp.
Investigator : Associated Dr. Tippawan Singtripop
E-mail Address: scboi020@chiangmai.ac.th
Project Period: 1 December 2000 - 30 November 2003

Bamboo borer is a moth, *Omphisa fuscidentalis* Hampson (Lepidoptera, Pyralidae) found in northern Thailand, Laos and Myanmar which have annual life cycle. Larval diapause period of the bamboo borer is the longest stage of the life cycle. During the diapause of the bamboo borer larvae, the ecdysteroid titer is very low and prothoracic glands (PG) exhibit low secretory activity.(Singtripop *et al* . 1999) An application of JH analogue (JHA) induce pupation with an activation of the PG. Previous result shows that the brain is not involve in the PG activation by JHA. After JHA treatment, the PG activity increases several days and hemolymph ecdysteroid increases in two weeks, indicating that JHA may not act directly simulate the PG.(Singtripop *et al*. 2000) To elucidate the hormonal mechanisms of the PG stimulation by JHA, we first examined the minimum JHA-stimulation to activate the diapause PG. PG of JHA-treated (donor) larvae were transplanted to non-treated (receptient) larvae on successive day after JHA treatment, and the receptients were observed. Results showed that one-day stimulation was enough to induce pupation. The PG's activity of the receptients increased transiently 16 days after the transplantation after which hemolymph ecdysteroid increased gradually. These results indicate that JHA stimulates the donor PG, and the minute amount of ecdysteroid produce by the slightly activated by PG may in turn stimulates the receptient PG which results the increase in hemolymph ecdysteroid. Thus the receptient PG is activated by ecdysone itself through a positive feedback. Since both the PG activity and hemolymph ecdysteroid are low but detectable, and enough for positive-feedback activation of PG with low activity, we suggest that the diapause of the bamboo borer is maintained by suppressing the PG not to be activated by the positive-feedback mechanisms and JHA release the glands from such suppression.

On the other hand, we examined the effect of juvenile hormone analogue(JHA) at different temperatures (13, 20, 25 and 30 °C). JHA has been known to stimulate larval prothoracic glands after gut purge as well as pupa one. In the bamboo borer, JHA also break the diapause due to activation of larval prothoracic glands. JHA application was low effective at 13 °C and 30 °C, while it was effective at 25 °C and 20 °C. This indicates that the temperature might be involved in the break of larval diapause but highest and lowest temperature may suppress the break.