

บทที่ 1

บทนำ

หนอนเยื่อไผ่เป็นระยะตัวหนอนของผีเสื้อกลางคืน มีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Omphisa fuscidentalis* Hampson จัดอยู่ในวงศ์ Pylaridae อันดับ Lepidoptera ซึ่งพบมากบริเวณป่าในภาคเหนือของประเทศไทย ลาว และพม่า หนอนเยื่อไผ่จะอาศัยการเจาะรูเข้าไปอยู่ในหน่อไผ่และเจริญภายในต้นไผ่ ระยะตัวหนอนที่อาศัยอยู่ในลำต้นไผ่ใช้เวลาประมาณ 280-304 วัน หลังจากนั้นจะเข้าดักแด้ภายในกระบอกไผ่และใช้เวลาอีกประมาณ 40-60 วันจึงออกเป็นตัวเต็มวัยของผีเสื้อกลางคืน ซึ่งมีลักษณะคือตัวเมียจะมีสีน้ำตาลส้ม ปีกคู่บนมีลวดลายหยักเป็นเส้นโค้งสีดำ ตัวผู้มีขนาดประมาณ 2 เซนติเมตร ตัวเมียจะใหญ่กว่าตัวผู้ (เดชา, 2535 และ ไพฑูรย์, 2538)

จะเห็นได้ว่า หนอนเยื่อไผ่มีวงจรชีวิตยาวนานถึง 1 ปี ระยะที่นานที่สุดคือช่วงเดือนกันยายนถึงพฤษภาคมของปีถัดไป ซึ่งเป็นระยะตัวหนอนที่เรียกว่า larval diapause โดยทั่วไปแล้วในฮิโมลิพท์ของแมลงในอันดับ Lepidoptera ระยะตัวหนอนจะประกอบด้วยโปรตีนสะสม ซึ่งจะพบน้อยชนิดและพบเฉพาะในช่วงที่เป็นตัวหนอน โปรตีนสะสมถูกสังเคราะห์โดย fat body ของระยะตัวหนอน แล้วหลั่งออกมาสะสมไว้ในฮิโมลิพท์ ความเข้มข้นของโปรตีนสะสมในฮิโมลิพท์จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในตัวหนอนระยะสุดท้าย หลังจากนั้นจะถูกเปลี่ยนแปลงและดึงกลับคืนเข้าไปสะสมใน fat body ในช่วงต้นของระยะตัวเต็มวัยเพื่อใช้ในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและสร้างผนังลำตัวของตัวเต็มวัยและโปรตีนสะสมนี้จะหายไปในพื้นที่หลังจากแมลงเจริญเป็นตัวเต็มวัยโดยสมบูรณ์ (Levenbook, 1985) ในหนอนเยื่อไผ่ระยะที่ยาวนานที่สุด คือ larval diapause ซึ่งใช้เวลานานถึง 9 เดือน เป็นระยะที่มีการสะสมของโปรตีนสะสมในฮิโมลิพท์ จึงถือเป็นช่วงที่เหมาะสมเป็นอย่างยิ่งในการศึกษาเกี่ยวกับโปรตีนดังกล่าว และมีรายงานวิจัยที่พบว่าระดับและชนิดของโปรตีนในฮิโมลิพท์ของหนอนเยื่อไผ่มีการเปลี่ยนแปลงในแต่ละระยะของการเจริญ (อัญชลี, 2542) อาจเป็นไปได้ว่าหลังจากสิ้นสุดระยะตัวหนอน และกำลังจะเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ ตัวหนอนอาจใช้โปรตีนสะสมที่มีอยู่ในฮิโมลิพท์ในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจากตัวหนอนเป็นดักแด้และจากดักแด้เป็นตัวเต็มวัย จะเห็นได้ว่าโปรตีนสะสมนั้นมีบทบาทสำคัญเป็นอย่างยิ่งต่อการเจริญและเปลี่ยนแปลงรูปร่างของหนอนเยื่อไผ่ ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจเป็นอย่างยิ่งในการศึกษาชนิดและคุณสมบัติรวมทั้งรูปแบบของโปรตีนสะสมในแต่ละขั้นของการเจริญ

หนอนเชื้อไผ่มีโปรตีนสะสม 2 ชนิด คือ โปรตีนสะสมชนิดที่ 1 (storage protein 1, SP1) และโปรตีนสะสมชนิดที่ 2 (storage protein 2, SP2) รวมกันอยู่ในฮีโมกลิมพ์และ fat body ดังนั้นในการศึกษาโปรตีนดังกล่าวจึงต้องทำการแยก SP1 และ SP2 ออกจากกัน โดยอาศัยกระบวนการแยกบริสุทธิ์ด้วย column chromatography โปรตีนที่ถูกทำให้บริสุทธิ์แล้วนี้จะถูกนำมาใช้ในการศึกษาคุณสมบัติของโปรตีนสะสม ซึ่งโปรตีนสะสมส่วนใหญ่มี native molecular weight ประมาณ 500 kDa และประกอบด้วยหน่วยย่อย 6 หน่วยย่อยโปรตีน ที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 80 kDa มีโครงสร้างเป็น hexamers (Levenbook, 1985) จากนั้นนำโปรตีนสะสมดังกล่าวไปวิเคราะห์ลำดับกรดอะมิโนแล้วนำลำดับกรดอะมิโนที่ได้ไปเปรียบเทียบกับโปรตีนสะสมของแมลงชนิดอื่นเพื่อหาเปอร์เซ็นต์ intensity ค่า intensity ที่ได้จะแสดงถึงความถูกต้องของลำดับกรดอะมิโนที่วิเคราะห์ได้ และทำให้ทราบชนิดของโปรตีนสะสม

รูปแบบของโปรตีนสะสมจะแตกต่างกันในแต่ละขั้นของการเจริญ โดยทั่วไปแล้วโปรตีนสะสมในฮีโมกลิมพ์จะมีปริมาณสูงที่สุดในตัวหนอนระยะสุดท้าย จากนั้นระดับโปรตีนในฮีโมกลิมพ์ของตัวหนอนจะลดลงแต่จะเพิ่มสูงขึ้นใน fat body ของดักแด้ และจะหายไปจากฮีโมกลิมพ์และ fat body ภายหลังจากการเปลี่ยนแปลงจากดักแด้เข้าสู่ตัวเต็มวัยโดยสมบูรณ์ การผลิตและการนำกลับของโปรตีนสะสมนี้จะเกิดขึ้นในระยะเวลาเดียวกันหรือใกล้เคียงกันในแมลงทุกรุ่น ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจว่าฮอร์โมนจะเป็นปัจจัยสำคัญที่มีบทบาทในการควบคุมการผลิตและการนำกลับของโปรตีนสะสมของหนอนเชื้อไผ่ มีรายงานการศึกษา (อัญชลี, 2542 ; Singtripop and others, 1999) พบว่าฮอร์โมนจูวีไนล์ชักนำให้ตัวหนอนเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ได้ โดยฮอร์โมนจูวีไนล์มีผลทำให้ฮอร์โมนเอกไโคโซนในฮีโมกลิมพ์เพิ่มสูงขึ้นในช่วง prepupal ส่งผลให้ตัวหนอนเกิดการเข้าดักแด้และอาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของโปรตีนสะสม ในการทดลองนี้ทำการศึกษาผลของฮอร์โมนจูวีไนล์ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับโปรตีนสะสมที่ระยะต่างๆ นอกจากนั้นยังเป็นที่น่าสนใจเป็นอย่างยิ่งในการศึกษาแหล่งสร้างและเก็บสะสมโปรตีนสะสมในระยะตัวหนอนและดักแด้

จากที่ได้กล่าวมาทั้งหมดจะเห็นว่า ผู้ทดลองได้ทดลองแยกชนิดและศึกษาคุณสมบัติรวมทั้งรูปแบบของโปรตีนสะสม ซึ่งหากการทดลองนี้ประสบผลสำเร็จจะสามารถนำไปประยุกต์เพื่อใช้ในการศึกษาระดับโมเลกุลต่อไป นอกจากนี้ยังจะเป็นข้อมูลใหม่ทางวิทยาศาสตร์ที่สำคัญของแมลงและแสดงถึงบทบาทของฮอร์โมนต่อการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนสะสมซึ่งสัมพันธ์กับกระบวนการเมตามอร์โฟซิสของหนอนเชื้อไผ่ เพื่อนำไปสู่การวิจัยและค้นคว้าขั้นสูงต่อไป

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อแยกโปรตีนสะสมในหนอนเชื้อไผ่และทำให้อยู่ในรูปที่บริสุทธิ์
2. เพื่อหาน้ำหนักโมเลกุลและลำดับกรดอะมิโนบางส่วนของโปรตีนสะสมในหนอนเชื้อไผ่
3. เพื่อผลิต rabbit anti-storage protein antiserum เพื่อใช้ในการตรวจหาแหล่งผลิตโปรตีนสะสมทั้งสองชนิด
4. ศึกษาระดับการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนสะสมในหนอนเชื้อไผ่ระยะต่างๆ
5. ศึกษาผลของจุลินทรีย์ในลำห่อต่อการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนสะสมในหนอนเชื้อไผ่