

การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในฮีโมลิฟระหว่างการพัฒนาของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน *Helicoverpa armigera* (Hübner)

จิตติกาญจน์ เอี่ยมสอาด วชิราภรณ์ พูนัน วสุ ทัพพะรังสี
บุญเกื้อ วัชรเสถียร จินตาวรรณ สิริพันธุ์เนติ วิน เขยชมศรี และจตุพร ตั้งจิตวิทยากุล*
ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ *E-mail: fscijpt@ku.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในฮีโมลิฟของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันเพศผู้และเพศเมีย ในระยะตัวอ่อนวัย 5 จนถึงระยะดักแด้ พบว่าความเข้มข้นของโปรตีนในฮีโมลิฟของเพศผู้และเพศเมียมีความแตกต่างกัน ($p < 0.05$) โดยความเข้มข้นของโปรตีนในฮีโมลิฟเพิ่มขึ้นจนสูงสุดในตัวอ่อนระยะสุดท้าย จากนั้นจะลดลงทันทีก่อนการเข้าดักแด้ ในระยะดักแด้ความเข้มข้นของโปรตีนจะเพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อยแล้วค่อยๆ ลดลงจนสิ้นสุดระยะดักแด้ การศึกษารูปแบบของโปรตีนโดยวิธี SDS-PAGE พบว่าแถบโปรตีนที่มีความเข้มข้นมากที่สุดตั้งแต่ตัวอ่อนระยะสุดท้ายจนถึงดักแด้ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย มีน้ำหนักโมเลกุล 81.2 kDa และ 86.2 kDa คาดว่าเป็นโปรตีนสะสมซึ่งจะถูกนำไปใช้ในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจากตัวหนอนไปเป็นตัวเต็มวัย และพบแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 32.8 – 35.2 และ 41.1 – 46.3 kDa เฉพาะในเพศเมียเท่านั้น จากผลการทดลองสามารถกล่าวได้ว่าการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของโปรตีนและรูปแบบของแถบโปรตีนมีความสัมพันธ์กันและขึ้นกับระยะการเจริญของแมลง

คำสำคัญ หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน, โปรตีนในฮีโมลิฟ, การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของโปรตีน, รูปแบบของโปรตีน

1. บทนำ

หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน (*Helicoverpa armigera* Hübner) เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญของฝ้ายและเป็นปัจจัยสำคัญที่จำกัดปริมาณการผลิตฝ้ายในประเทศไทย การควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันอย่างมีประสิทธิภาพจึงจำเป็นต้องได้รับการศึกษา แม้จะมีการศึกษาวิธีการอื่น ๆ เพื่อใช้ควบคุม เช่น การศึกษาคุณสมบัติทาง antibiosis ของสายพันธุ์ฝ้าย (ประภารัตน์, 2529) และนิวเคลียร์โพลีอีโตรซิสไวรัส (นวลอนงค์, 2531) แต่หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันมีการพัฒนาตัวเองให้ดื้อต่อสารฆ่าแมลง การศึกษาในด้านสรีรวิทยาและชีวโมเลกุลเกี่ยวกับหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันในประเทศไทยมีน้อยมาก โดยเฉพาะการศึกษาเกี่ยวกับโปรตีนในฮีโมลิฟ (Hemolymph) ซึ่งเป็นแหล่งสำคัญในการลำเลียงสารอาหารและฮอร์โมน

ไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ และยังเป็นທີ່สะสมของโปรตีนสำคัญหลายชนิดเช่นโปรตีนสะสม (storage protein) (Fujiwara และ Yamashita, 1990) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ใช้ในการเจริญและพัฒนาของแมลง เช่น การสร้างคิวติเคิล ใช้ในกระบวนการสร้างไข่แดงของเพศเมีย นอกจากนี้ยังมีโปรตีนอีกหลายชนิดที่มีบทบาทสำคัญในระบบภูมิคุ้มกัน (Kanost, 1990) ดังนั้นเพื่อหาแนวทางใหม่ในการป้องกันและกำจัดหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับโปรตีนในฮีโมลิฟของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง

การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของโปรตีนและรูปแบบของโปรตีนในฮีโมลิฟของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันในระยะตัวอ่อนวัย 5 วันที่ 2 จนถึงระยะดักแด้ ในทั้งเพศผู้และ

เพศเมีย ซึ่งจะทำให้ทราบถึงการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในระหว่างการพัฒนาของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน ผลการศึกษานี้จะนำไปสู่การศึกษากระบวนการสร้างและนำโปรตีนไปใช้ ตลอดจนศึกษาปัจจัยหรือสารที่มีผลในการยับยั้งกระบวนการสร้างและการนำโปรตีนไปใช้ เพื่อให้ตัวอ่อนเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นดักแด้หรือตัวเต็มวัยที่ไม่สมบูรณ์ ไม่สามารถเจริญเติบโตและสืบพันธุ์ต่อไปได้ ซึ่งอาจนำไปใช้เป็นแนวทางใหม่ในการป้องกันและกำจัดหนอนเจาะสมอฝ้ายที่มีประสิทธิภาพต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

2.1 การเลี้ยงหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน

หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันที่ใช้ในการศึกษานำมาจากฝ้ายวินิจฉัยและกักกันศัตรูพืช ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน โดยเลี้ยงตัวอ่อนในขวดแก้วด้วยอาหารเทียมซึ่งดัดแปลงมาจากสูตรของ Shorey และ Hale (1965) (สูตรวรรณ, 2527, อ้างจาก โสธร และคณะ, 2514) ที่อุณหภูมิห้อง จนตัวอ่อนเข้าดักแด้ แล้วเป็นตัวเต็มวัย เลี้ยงตัวเต็มวัยในภาชนะรูปทรงกระบอกด้วยน้ำผึ้งเจือจาง จับคู่ตัวเต็มวัยผสมพันธุ์กัน เพื่อวางไข่และเมื่อไข่พัฒนาเป็นตัวอ่อน จึงนำตัวอ่อนที่ทราบวัยนี้มาใช้ในการทดลองต่อไป

2.2 การเก็บฮีโมลิฟท์ในระยะตัวอ่อน และดักแด้

ระยะตัวอ่อน เก็บฮีโมลิฟท์จากตัวอ่อนวัย 5 วันที่ 2 จนถึงระยะดักแด้ โดยเก็บทั้งเพศผู้และเพศเมีย การแยกเพศทำได้โดยการผ่าดูอวัยวะสืบพันธุ์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เก็บฮีโมลิฟท์ของตัวอ่อนโดยใช้กรรไกรขลิบที่ขาเทียมและบีบส่วนลำตัวเพื่อให้ฮีโมลิฟท์ไหลออกมาระยะดักแด้ เก็บฮีโมลิฟท์โดยใช้เข็มปักแมลงเจาะที่ปลายด้านหน้าสุดของดักแด้ ดูดฮีโมลิฟท์จากแต่ละตัวอย่างใส่ในสารละลาย Phosphate Buffer Saline (PBS): Phenylthiourea (PTU) อัตราส่วน 1: 1 นำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 7000 g อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 5 นาที เก็บสารละลายส่วนบน (Supernatant) ไว้ที่อุณหภูมิ -80 °C

เพื่อใช้ในการศึกษาโปรตีนในฮีโมลิฟท์ต่อไป

2.3 การหาความเข้มข้นของโปรตีนในฮีโมลิฟท์

หาความเข้มข้นของโปรตีนในฮีโมลิฟท์โดยวิธีของ Bradford (1976) (Bio-Rad Protein Assay) เตรียมสารละลายโปรตีนตัวอย่าง: dye reagent ในอัตราส่วน 1:500 ไมโครลิตรผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 595 นาโนเมตรด้วยเครื่อง Spectrophotometer Lambda 25 (Perkin Elmer instruments) หาความเข้มข้นของโปรตีนตัวอย่างโดยเปรียบเทียบกับกราฟโปรตีนมาตรฐาน BSA (Bovine Serum Albumin) เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของผลการทดลองที่ได้ด้วยวิธี Paired - Samples T test (SPSS 10.0)

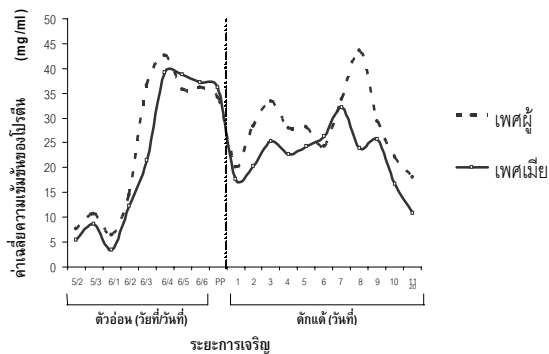
2.4 การศึกษารูปแบบของโปรตีนในฮีโมลิฟท์โดยวิธี SDS-PAGE

นำตัวอย่างฮีโมลิฟท์และสารละลายโปรตีนมาตรฐาน (Broad range Bio -Rad) มาผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ โดยต้มในน้ำเดือดอุณหภูมิ 100 °C นาน 3 นาที นำไปหารูปแบบของโปรตีนบน SDS-PAGE โดยใช้ความเข้มข้นของ separating gel 12.5 % โดยปริมาณโปรตีนที่นำไปใส่ในหลอดบนแผ่นเจลหลอดละ 10 ไมโครกรัม ทำการแยกโปรตีนด้วยกระแสไฟฟ้าที่ 20 มิลลิแอมป์ ประมาณ 1 ชั่วโมง จากนั้นย้อมเจลด้วย Coomassie Brilliant blue R 250 แล้วล้างสีส่วนเกินออก

3. ผลการทดลองและอภิปรายผล

3.1 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของโปรตีนในฮีโมลิฟท์

ความเข้มข้นของโปรตีนในฮีโมลิฟท์ของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันเพศผู้และเพศเมียมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีความเข้มข้นของโปรตีนในเพศผู้สูงกว่าเพศเมีย ความเข้มข้นของโปรตีนในฮีโมลิฟท์จะเพิ่มขึ้นตั้งแต่ตัวอ่อนวัย 6 วันที่ 2 และมีค่าสูงสุดในวัย 6 วันที่ 4 จากนั้นจะลดลงในระยะที่ตัวอ่อนเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ดักแด้ (prepupa)



ภาพที่ 1 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของโปรตีนในฮีมอลิมพ์ (mg/ml) ของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน ระยะตัวอ่อนและดักแด้เพคผู้และเพคเมีย (pp = ระยะก่อนเข้าดักแด้)

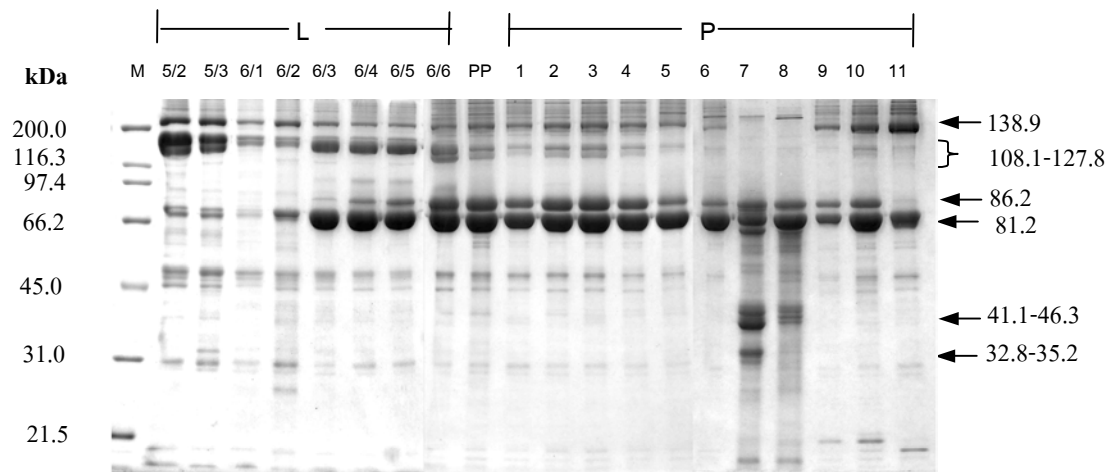
ในระยะดักแด้ความเข้มข้นของโปรตีนจะเพิ่มสูงขึ้น โดยมีค่าสูงสุดในดักแด้วันที่ 7 ในเพคเมียและวันที่ 8 ในเพคผู้ จากนั้นจะลดลงจนกระทั่งสิ้นสุดระยะดักแด้ (ภาพที่ 1) สำหรับในตัวเต็มวัยไม่สามารถเก็บฮีมอลิมพ์ได้เนื่องจากมีปริมาณน้อยมาก จากผลการทดลองนี้พบว่าการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของโปรตีนสัมพันธ์กับการเจริญของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน คือความเข้มข้นของฮีมอลิมพ์เพิ่มสูงขึ้นในระยะตัวอ่อนวัยสุดท้ายก่อนที่จะเข้าสู่ระยะดักแด้ และมีความเข้มข้นลดลงอย่างรวดเร็วในระยะท้ายของการพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย เป็นลักษณะที่เกิดขึ้นในแมลงที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างแบบสมบูรณ (Holometabolous insect) (Levenbook, 1985) Miller และ SilHacek (1982) ศึกษาพบว่าผีเสื้อกลางคืน *Galleria Mellonella* (L.) มีความเข้มข้นของโปรตีนในฮีมอลิมพ์มากในช่วงท้ายระยะตัวอ่อน (วัยที่ 7 วันที่ 2 - 9) และลดลงในระยะแรกหลังจากเข้าดักแด้ ในขณะที่ความเข้มข้นของโปรตีนในก้อนไขมัน (Fat body) ค่อนข้างคงที่ในระยะตัวอ่อนแต่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเข้าดักแด้ ซึ่งโปรตีนที่มีปริมาณมากในฮีมอลิมพ์ของตัวอ่อนแมลงโดยทั่วไป และมีการเปลี่ยนแปลงสัมพันธ์กับการเจริญของแมลง ได้แก่ โปรตีนที่แมลงใช้ในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจาก

ตัวอ่อนไปเป็นตัวเต็มวัย ส่วนโปรตีนในระบบอื่นๆ นั้น ไม่มีความสัมพันธ์ตามการพัฒนาของแมลง เหมือนกับโปรตีนสะสม (Fujiwara และ Yamashita, 1990) โดยในระยะวัยอ่อน โปรตีนสะสมถูกสังเคราะห์ขึ้นโดยก้อนไขมัน และสะสมในฮีมอลิมพ์ ซึ่งมีการนำกลับโดยก้อนไขมันในระยะดักแด้ แล้วสะสมในโปรตีนแกรนูล และหายไปเมื่อเป็นตัวเต็มวัย (Tojo และคณะ, 1980) ซึ่งสัมพันธ์กับผลการทดลองที่ได้คือ พบความเข้มข้นของโปรตีนสูงมากในฮีมอลิมพ์ตัวอ่อนระยะสุดท้าย จากนั้นจะลดลงเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้

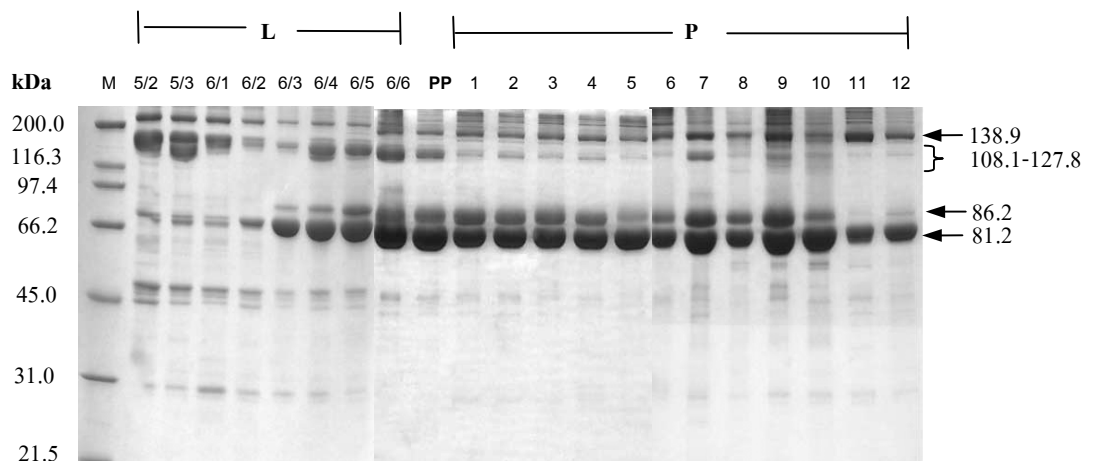
3.2 การศึกษารูปแบบของโปรตีนในฮีมอลิมพ์โดยวิธี SDS-PAGE

จากรูปแบบของโปรตีนในฮีมอลิมพ์ของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันเพคเมียและเพคผู้ (ภาพที่ 2 และ 3) ปรากฏว่าโปรตีนในฮีมอลิมพ์ของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันเพคผู้และเพคเมีย มีรูปแบบ จำนวนแถบและความเข้มของแถบโปรตีนคล้ายคลึงกันมาก แต่ก็พบแถบโปรตีนที่มีความแตกต่างกันอย่างเด่นชัดระหว่างเพคผู้และเพคเมีย

โปรตีนในฮีมอลิมพ์ของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันเพคเมีย มีแถบโปรตีนหลักในช่วงน้ำหนักโมเลกุล 32.8–35.2, 41.1–46.3, 52.0–57.0, 81.2–86.2, 108.1–127.8 และ 138.9 kDa ส่วนในเพคผู้มีน้ำหนักโมเลกุล 30.3, 52.0–57.0, 81.2, 86.2, 108.1–127.8 และ 138.9 kDa จะเห็นได้ว่ามีแถบโปรตีนที่ปรากฏเฉพาะในฮีมอลิมพ์ของเพคเมีย คือแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 32.8–35.2 kDa และ 41.1–46.3 kDa แถบโปรตีนสันนิษฐานว่าน่าจะเป็นโปรตีนที่มีความเกี่ยวข้องกับโปรตีนที่ใช้ในการสร้างไข่แดง (vitellogenin) (Kanost และคณะ, 1990)



ภาพที่ 2 รูปแบบโปรตีนในฮีโมลิมพ์ของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันเพศเมีย
M = Marker Protein, L = ตัวอ่อน (วัยที่/วันที่),
PP = ระยะก่อนเข้าดักแด้ (Prepupa), P = ดักแด้ (Pupa) (วันที่)



ภาพที่ 3 รูปแบบโปรตีนในฮีโมลิมพ์ของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันเพศผู้
M = Marker Protein, L = ตัวอ่อน (วัยที่/วันที่)
PP = ระยะก่อนเข้าดักแด้ (Prepupa), P = ดักแด้ (วันที่)

จาก SDS-PAGE จะเห็นว่าทั้งเพศผู้และเพศเมียมีแถบโปรตีนที่เข้มชัดเจน 2 แถบ คือ แถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 81.2 kDa และ 86.2 kDa ซึ่งพบเป็นปริมาณมากในอีโมลิฟต์ตั้งแต่ตัวอ่อนระยะสุดท้ายจนถึงดักแด้ โปรตีนทั้งสองแถบบ้างกล่าวนี้ คาดว่าเป็นโปรตีนสะสมซึ่งเป็นโปรตีนที่จะถูกนำไปใช้ในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจากตัวอ่อนไปเป็นตัวเต็มวัย (Levenbook, 1985) โปรตีนสะสมถูกสังเคราะห์โดยก่อนไข่ม้วนแล้วหลั่งออกสู่อีโมลิฟต์ ความเข้มข้นของโปรตีนสะสมในอีโมลิฟต์จะเพิ่มสูงขึ้นในตัวอ่อนระยะสุดท้าย จากนั้นโปรตีนสะสมบางส่วนหรือเกือบทั้งหมดจะถูกนำกลับเข้าไปในก้อนไข่ม้วนในช่วงที่ตัวอ่อนเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้

ผลการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของโปรตีนในอีโมลิฟต์สอดคล้องกับรูปแบบของโปรตีนในอีโมลิฟต์ทั้งเพศผู้และเพศเมีย คือในขณะที่ความเข้มข้นของโปรตีนในอีโมลิฟต์เพิ่มขึ้นในตัวอ่อนระยะสุดท้าย ความเข้มข้นของแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 81.2 kDa และ 86.2 kDa ก็เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน และเมื่อความเข้มข้นของโปรตีนในอีโมลิฟต์ลดลงในระยะดักแด้ ความเข้มข้นของแถบโปรตีนดังกล่าวก็ลดลงเช่นเดียวกัน ดังนั้นจะเห็นว่าความเข้มข้นของโปรตีนในอีโมลิฟต์สัมพันธ์กับรูปแบบของโปรตีนในทั้งเพศผู้และเพศเมีย

4. สรุปผลการทดลอง

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของโปรตีนและรูปแบบของโปรตีนในอีโมลิฟต์ของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันเพศผู้และเพศเมียขึ้นกับระยะการเจริญเติบโต กล่าวคือ ความเข้มข้นของโปรตีนมีค่าสูงในตัวอ่อนระยะสุดท้าย จากนั้นจะลดลงในระยะที่ตัวอ่อนเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ดักแด้ ในระยะดักแด้ความเข้มข้นของโปรตีนจะเพิ่มสูงขึ้น จากนั้นจะลดลงจนกระทั่งสิ้นสุดระยะดักแด้ และจากการศึกษารูปแบบโปรตีนในอีโมลิฟต์ของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกันเพศผู้และเพศผู้ โดยวิธี SDS-PAGE พบแถบโปรตีนบางแถบที่มีความจำเพาะต่อเพศของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน สันนิษฐานว่าแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 32.8-

35.2 kDa และ 41.1-46.3 kDa เป็นแถบโปรตีนที่พบเฉพาะในเพศเมีย (FSP) ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีความเกี่ยวข้องกับโปรตีนที่ใช้ในการสร้างไข่แดง (vitellogenin)

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ฝ่ายอุตสาหกรรม โครงการโครงงานอุตสาหกรรม สำหรับนักศึกษาปริญญาตรี ประจำปี 2546 และทุนนักวิจัยหน้าใหม่ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่มอบทุนอุดหนุนงานวิจัย และฝ่ายวินิจฉัยและกักกันศัตรูพืช ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่ให้ความอนุเคราะห์แมลงและอุปกรณ์ และสารเคมีในการเลี้ยงแมลง และภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่อำนวยความสะดวกทางห้องปฏิบัติการ

6. เอกสารอ้างอิง

- นวลอนงค์ กิจจำเริญ. การใช้เชื้อนิวเคลียร์โพลีอีโตรซัสไวรัสในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน *Heliothis armigera* (Hübner) บนต้นมะเขือเทศ. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชากีฏวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2531.
- ประภารัตน์ หอมจันทร์. การทดสอบคุณสมบัติทาง Antibiosis ของฝ้ายพันธุ์ที่มีแนวโน้มต้านทานต่อหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน. รายงานผลการวิจัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 2529.
- สุदारรณ อยู่จินดา. ผลในการทำให้เกิดโรคจากส่วนประกอบของเชื้อ *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* ต่อหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน *Helicoverpa armigera* (Hübner). ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชากีฏวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2527.

- Fujiwara, Y.; Yamashita, O. Purification, Characterization and Developmental Changes In the Titer of a New Larval Serum Protein of the Silkworm, *Bombyx Mori*, *Insect Biochem*, **1990**, 20 (7), 751-759.
- Kanost, M. R.; Kawooya, J. K.; Law, J. H.; Ryan, R. O.; Heusden, M. C. V.; Ziegler, R. Insect Hemolymph Proteins, *Advances in insect physiology*, Vol. 22, academic press, Ltd., **1990**.
- Levenbook, L. Insect storage proteins. *In Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, Vol 10. Kerkuit, G.A.; Gilbert L.I. Eds. Pergamon press, Oxford, 1985; pp 307-346.
- Miller, S. G.; Silhacek D. L. Identification and Purification of Storage Proteins in Tissues of the Greater Wax Moth *Galleria Mellonella* (L.). *Insect Biochem*, **1982**, 12 (3), 277-292.
- Tojo, S.; Nagata M.; Kobayashi M. Storage Proteins In the Silkworm, *Bombyx Mori*, *Insect Biochem*, **1980**, 10, 289-303.