

ในช่วงระยะไคอะพอสของหนอนเยื่อไผ่พบว่า มีปริมาณฮอร์โมนเอกไดโซนในฮีโมลิฟฟ์ น้อยมาก แสดงว่าต่อมโปรทอแรกซิกมีกิจกรรมการหลั่งฮอร์โมน (secretory activity) ต่ำ งานวิจัย ก่อนหน้านี้รายงานว่า การให้ฮอร์โมนจูวีโนลล์สังเคราะห์ (JHA) แก่หนอนเยื่อไผ่ระยะไคอะพอส สามารถชักนำให้เกิดการเข้าดักแด้ได้โดยเกิดการกระตุ้นต่อมโปรทอแรกซิกและไม่เกี่ยวข้อง กับสมอง โดยหลังจากการให้ JHA พบว่ากิจกรรมการหลั่งฮอร์โมนของต่อมเพิ่มขึ้น จนเป็นผลให้ ปริมาณฮอร์โมนเอกไดโซนเพิ่มขึ้นภายใน 2 สัปดาห์ ซึ่งชี้ให้เห็นว่า JHA อาจไม่ได้กระตุ้นต่อม โปรทอแรกซิกให้สังเคราะห์ฮอร์โมนเอกไดโซนได้โดยตรง ดังนั้นเพื่ออธิบายกลไกของ JHA ใน การกระตุ้นต่อมโปรทอแรกซิก จึงได้ทำการศึกษาดังปริมาณ JHA ที่น้อยที่สุดที่สามารถกระตุ้น ต่อมโปรทอแรกซิกได้ 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 ระยะเวลา การกระตุ้นของ JHA สำหรับการชักนำการเข้าดักแด้ ใช้เวลาอย่างน้อย 1 วัน และปริมาณ JHA ที่ ให้ผลดีที่สุด คือ 1 ไมโครกรัม นอกจากนี้ยังพบว่าการทำงานของต่อมโปรทอแรกซิก จะเพิ่มขึ้นใน วันที่ 16 หลังจากการปลูกถ่ายต่อมโปรทอแรกซิก เป็นผลให้ปริมาณฮอร์โมนเอกไดโซนใน ฮีโมลิฟฟ์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่งผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่า JHA กระตุ้นต่อมโปรทอแรกซิก ของ donor larvae และปริมาณฮอร์โมนจากต่อมของ donor larvae มีผลไปกระตุ้นต่อมโปรทอแรกซิกของ recipient larvae (recipient PG) ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของปริมาณฮอร์โมนเอกไดโซนใน ฮีโมลิฟฟ์ 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 เกี่ยวข้องกับการสิ้นสุดของระยะดาร์วัล ไคอะพอสในหนอนเยื่อไผ่ โดยการเพิ่มระดับของฮอร์โมนเอกไดโซนในฮีโมลิฟฟ์และเพิ่มการแสดงออกของ EcR mRNA ในต่อมโปรทอแรกซิก

During the diapause of the bamboo borer larvae, the ecdysteroid titer is very low and prothoracic glands (PG) exhibit low secretory activity. 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 simulate the ecdysteroid biosynthesis in PG directly. To elucidate the hormonal mechanisms of the PG stimulation by JHA, we first examined the minimum JHA-stimulation to activate the diapause PG. Donor larvae were treated with various doses of JHA (0.1, 0.25, 0.5 and 1.0 $\mu\text{g}/5 \mu\text{l}$ acetone) then the PG of JHA-treated (donor) larvae were transplanted to non-treated (receptient) larvae on successive day (day1, day2 and day3) after JHA treatment, and the receptients were observed. The results showed that one-day stimulation was enough to induce pupation and the 1 μg JHA was the most effective. The PG's activity of the receptients increased transiently 16 days after the transplantation after which hemolymph ecdysteroid increased gradually. These results indicated that JHA stimulates the donor PG, and the minute amount of ecdysteroid produced 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 if the level of ecdysone is above its threshold or suprathreshold. In order to study the EcR mRNA expression, *EcR* of the bamboo borer (*Omphisa EcR*) was cloned. The amplified region of *Omphisa EcR* was 973 base pair (324 amino acids) with high homology of the nucleotide of common buckeye, *Junonia EcR* (81.1%) and tobacco hornworm, *Manduca EcR* (80.9%). Quantitative PCR was analysed in order to compare the EcR mRNA levels between JHA-treated PG and non-treated PG. The results showed that the expression of *Omphisa EcR* mRNA in JHA-treated PG was higher than in non-treated PG.

From these results, it is suggested that JHA is tightly involved in the termination of the larval diapause in the bamboo borer by increasing the ecdysteroid titer and EcR mRNA expression in the prothoracic glands.