ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

กลไกของฮอร์ โมนต่อการสิ้นสุดของลาร์วัลไดอะพอสใน

หนอนเยื่อใผ่ (Omphisa fuscidentalis Hampson)

ชื่อผู้เขียน

นางสาวมนพร มานะบุญ

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาชีววิทยา

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รศ. คร. ทิพวรรณ สิงห์ไตรภพ ประธานกรรมการ

Prof. Dr. Sho Sakurai กรรมการ

รศ. สมศักดิ์ วนิชาชีวะ กรรมการ

รศ. คร. สมบูรณ์ อนันตลาโภชัย กรรมการ

ผศ. คร. คำริห์ รุ่งสุข กรรมการ

บทคัดย่อ

ในช่วงระยะใดอะพอสของหนอนเยื่อใผ่พบว่า มีปริมาณฮอร์โมนเอกใคโซนในฮีโมลิมพ์ น้อยมาก แสดงว่าต่อมโปรทอแรกซิกมีกิจกรรมการหลั่งฮอร์โมน (secretory activity) ต่ำ งานวิจัย ก่อนหน้านี้รายงานว่าการให้ฮอร์โมนจูวีในส์สังเคราะห์ (JHA) แก่หนอนเยื่อใผ่ระยะใดอะพอส สามารถชักนำให้เกิดการเข้าดักแค้ได้โดยเกิดการกระตุ้นต่อมโปรทอแรกซิกและไม่เกี่ยวข้องกับ สมอง โดยหลังจากการให้ JHA พบว่ากิจกรรมการหลั่งฮอร์โมนของต่อมเพิ่มขึ้น จนเป็นผลให้ ปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนเพิ่มขึ้นภายใน 2 สัปดาห์ ซึ่งชี้ให้เห็นว่า JHA อาจไม่ได้กระคุ้นต่อมโปรทอแรกซิกให้สังเคราะห์ฮอร์โมนเอคไดโซนได้โดยตรง ดังนั้นเพื่ออธิบายกลไกของ JHA ใน การกระตุ้นต่อมโปรทอแรกซิก จึงได้ทำการศึกษาถึงปริมาณ JHA ที่น้อยที่สุดที่สามารถกระคุ้น ต่อมโปรทอแรกซิกใค้ โดยการให้ JHA ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.25, 0.5 และ 1.0 ไมโครกรัม/5 ไมโครลิตรในอะซิโตน แล้วทำการปลูกถ่ายต่อมโปรทอแรกซิก (transplantation) ของ donor larvae ให้กับหนอนที่ไม่ได้รับฮอร์โมน (recepient larvae) ในวันที่ 1, 2 และ 3 หลังจากการให้ฮอร์โมน แล้วสังเกตดูการเปลี่ยนแปลงของ recepient larvae จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ระยะเวลา การกระตุ้นของ JHA สำหรับการชักนำการเข้าดักแค้ ใช้เวลาอย่างน้อย 1 วัน และปริมาณ JHA ที่

ให้ผลดีที่สุด คือ 1 ไมโครกรัม นอกจากนี้ยังพบว่าการทำงานของต่อมโปรทอแรกซิก จะเพิ่มขึ้นใน วันที่ 16 หลังจากการปลูกถ่ายต่อมโปรทอแรกซิก เป็นผลให้ปริมาณฮอร์โมนเอกไคโซนใน ฮีโมลิมพ์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่งผลการทคลองนี้ชี้ให้เห็นว่า JHA กระตุ้นต่อมโปรทอแรกซิก ของ donor larvae และปริมาณฮอร์โมนจากต่อมของ donor larvae มีผลไปกระตุ้นต่อมโปรทอแรก-ซิกของ recepient larvae (recepient PG) ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของปริมาณฮอร์โมนเอคไคโซนใน ฮีโมลิมพ์ คังนั้น recepient PG ถูกกระตุ้นคัวยฮอร์โมนเอคไคโซนที่หลั่งออกมา โดยผ่านกลไก positive feedback activation เมื่อปริมาณฮอร์โมนเอคไคโซนเหนือระดับ threshold หรือถึงระดับ suprathreshold

ในการศึกษาการแสดงออกของ EcR mRNA ของหนอนเชื่อไผ่ 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 มีการเพิ่มการ แสดงออกของ Omphisa EcR mRNA ในต่อมโปรทอแรกซิกของหนอนที่ได้รับการกระตุ้นด้วย JHA สูงกว่าหนอนในกลุ่มที่ไม่ได้รับฮอร์โมน

จากผลการทดลองดังกล่าวนี้แสดงให้เห็นว่า JHA เกี่ยวข้องกับการสิ้นสุดของระยะลาร์วัล ใดอะพอสในหนอนเยื่อไผ่ โดยการเพิ่มระดับของฮอร์โมนเอกไดโซนในฮีโมลิมพ์และเพิ่มการ แสดงออกของ EcR mRNA ในต่อมโปรทอแรกซิก Thesis Title

Endocrine Mechanisms on the Termination of Larval Diapause

in the Bamboo Borer (Omphisa fuscidentalis Hampson)

Author

Ms. Manaporn Manaboon

M.S.

Biology

Examining Committee Assoc. Prof. Dr. Tippawan Singtripop

Chairperson

Prof.

Dr. Sho Sakurai

Member

Assoc, Prof. Somsak Wanichacheewa

Member

Assoc. Prof. Dr. Somboon Anuntalabhochai

Member

Assist, Prof. Dr. Dumre Roongsook

Member

ABSTRACT

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 μ g/5 μ l acetone) then the PG of JHA-treated (donor) larvae were transplanted to non-treated (recepient) larvae on successive day (day1, day2 and day3) after JHA treatment, and the recepients 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 recepients 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 recepient PG which results the increase in hemolymph ecdysteroid. Thus the recepient 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.