ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	บทบาทของฮอร์โมนจูวีไนล์และ 20-ไฮดรอกซีเอคไดโซน ต่อการเจริญของปุ่มปีกในระยะลาร์วัลไดอะพอสของ หนอนเยื่อไผ่ (*Omphisa fuscidentalis* Hampson)
ผู้เขียน	นายกิตติ ตันเมืองปัก
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ. ดร. ทิพวรรณ สิงห์ไตรภพ

บทคัดย่อ

หนอนเยื่อไผ่ในระยะตัวหนอนอินสตาร์สุดท้าย อยู่ในระยะพักการเจริญเรียกว่า ลาร์วัลไดอะพอส เป็นระยะเวลานาน 9 เดือน จากเดือนกันยายนถึงเดือนพฤษภาคมของปีถัดไป ลำตัวหนอนเยื่อไผ่มีทั้งหมด 13 ปล้องแบ่งได้เป็น 3 ส่วนคือ ส่วนหัว ส่วนอก และส่วนท้อง ปุ่มปีกคู่หน้าจะอยู่ภายในปล้องทั้งสองข้างของ mesothorax ปุ่มปีกคู่หลังจะอยู่ในปล้อง metathorax ปุ่มปีกเจริญมาจากกลุ่มเซลล์ที่เรียกว่า imaginal discs และพัฒนากลายเป็นปีกสมบูรณ์หลังจากเข้าสู่ระยะดักแด้ จากการศึกษาการเจริญเปลี่ยนแปลงของปุ่มปีกโดยการวัดขนาดปุ่มปีกของหนอนเยื่อไผ่ในช่วงระยะตัวหนอนอินสตาร์สุดท้ายตั้งแต่เดือนกันยายนถึงเดือนเมษายนของปีถัดไป พบว่าปุ่มปีกคู่หน้าและคู่หลังมีขนาดเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่เดือนกันยายนถึงเดือนเมษายน จากผลการตรวจวัดปริมาณโปรตีนในปุ่มปีกแสดงให้เห็นว่าปุ่มปีกมีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่เดือนพฤศจิกายนและมีค่าสูงสุดในเดือนเมษายน ซึ่งการเจริญเปลี่ยนแปลงนี้สัมพันธ์กับปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนซึ่งเพิ่มขึ้นในช่วงปลายระยะไดอะพอสก่อนจะมีการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้

จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าการให้ฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์ (JHA) และ 20-ไฮดรอกซีเอคไดโซน (20E) สามารถชักนำให้หนอนเยื่อไผ่เข้าสู่ระยะดักแด้ได้ ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาผลของ JHA ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดของปุ่มปีกและปริมาณของโปรตีนในแต่ละปุ่มปีก ผลการทดลองพบว่า JHA กระตุ้นการเจริญเปลี่ยนแปลงของปุ่มปีกโดยการเพิ่มการสร้างและการขยายตัวของท่อลมในปุ่มปีก JHA มีผลทำให้ปุ่มปีกขยายขนาดใหญ่ขึ้นซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีน โดย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของฮอร์โมน JHA ชักนำการเข้าดักแด้โดยกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนเอคไดโซนจากต่อมโปรทอแรกซิค (PG) ซึ่งกระตุ้นการแบ่งเซลล์และเปลี่ยนแปลงของปุ่มปีกในช่วงเมตามอร์โฟซิส การฉีด 20E ความเข้มข้น 0.1, 0.5 และ 1.0 ไมโครกรัม แก่หนอนเยื่อไผ่อินสตาร์สุดท้ายทำให้ปุ่มปีกมีการเจริญเปลี่ยนแปลงทั้งขนาดและเพิ่มปริมาณโปรตีนโดยขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของฮอร์โมนคล้ายกับการให้ JHA และเมื่อนำปุ่มปีกมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม 20E (0.05, 0.1, 0.25 และ 0.5 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร) พบว่า 20E มีผลทำให้ปุ่มปีกมีการเจริญเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยา จึงสรุปได้ว่า 20E สามารถชักนำให้เกิดการเจริญของปุ่มปีกได้ทั้งในสภาวะ in vivo และ in vitro

JHA เกี่ยวข้องกับการทำให้ระยะไดอะพอสของหนอนเยื่อไผ่สิ้นสุดลง โดย JHA จะกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนเอคไดโซนเพิ่มขึ้นและมีผลทำให้ปุ่มปีกมีการเจริญและการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้น ในการศึกษาการแสดงออกของ ecdysone receptor (EcR) mRNA ในปุ่มปีกหลังจากให้ JHA พบว่า JHA สามารถกระตุ้นการแสดงออกของ OfEcR-A และ OfEcR-B1 isoforms โดยการแสดงออกของ OfEcR mRNA ของทั้ง 2 isoforms จะเพิ่มขึ้นในวันที่ 5 หลังจากที่ได้รับฮอร์โมนและสูงสุดในวันที่ 10 จากนั้นจะลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อเข้าสู่ระยะ G0 ถึง G2 ผลการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นถึงการควบคุมการแสดงออกของ EcR gene โดยฮอร์โมนเอคไดโซน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title Roles of Juvenile Hormone and 20-Hydroxyecdysone on the Development of Wing Imaginal Disks in Larval Diapause of Bamboo Borer (*Omphisa fuscidentalis* Hampson)

Author Mr. Kitti Tanmuangpak

Degree Master of Science (Biology)

Thesis Advisor Assoc. Prof. Dr. Tippawan Singtripop

Abstract

The final instar larvae of the bamboo borer are in a period of developmental arrest called larval diapause that lasts for nine months from September to the following May. The body of bamboo borer is consisted of 13 segments and divided into 3 parts, head, thorax and abdomen. A pair of fore wing imaginal disks locates on the either side of mesothorax and the hind wing imaginal disks in metathorax. The disks develop from the imaginal disk cells and into the complete wing after pupation. The investigation of growth and differentiation of the wing imaginal disks was carried out during the last larval instar of the bamboo borer from September to the following April. Results showed that the size measurement of both fore and hind wing disks increased gradually from November to April. The protein assay revealed that the continuous increase in the protein content was observed from November and highest in April. Disk growth and differentiation were correlated with ecdysteroid titer that increased in the late of larval diapause period but before entering the pupal stage.

The previous studies showed that topically applied juvenile hormone analogue (JHA) and 20-hydroxyecdysone (20E) induced pupation of the diapause larvae. Accordingly, we determined the effects of the application of JHA on the size of the wing disks and protein amounts in individual disks. It was found that JHA stimulated the growth and differentiation of disks, an

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

increased trachea formation and expansion within the disks. JHA caused disks enlargement, which was correlated with the protein content in a dose-dependent manner. JHA induces pupation by increasing the ecdysteroid titer through the prothoracic glands (PG) activation, which stimulates cell proliferation and differentiation of the disks during metamorphosis. An injection of 20E into the final instar larvae at concentrations of 0.1, 0.5 and 1.0 μg showed that both the size and protein content increased in a dose-dependent manner, similar to the effects of JHA application. Culture of the disks in Grace's medium containing various amounts of 20E (0.05, 0.1, 0.25 and 0.5 μg/ 1 ml) revealed that 20E induced morphological changes of the disks. In conclusion, 20E is capable of inducing the development of disks both in vivo and in vitro.

JHA is tightly involved in the termination of the larval diapause in the bamboo borer. JHA induces an increase in the ecdysteroid titer and thereby stimulates the growth and differentiation of the disks. Changes in the expression levels of ecdysone receptor (EcR) mRNA in the larval wing disks was investigated after JHA treatment. Results showed that JHA upregulated the expression levels of both OfEcR-A and OfEcR-B1 isoforms, mRNA levels of both isoforms were observed to increase 5 days after JHA application and attained the peak on day 10 followed by a rapid decrease to a low level after entering G0-G2. These results indicate the regulation of EcR gene expression by ecdysteroid titer.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved