

**ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์** การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของจูวีโนลฮอร์โมนเอสเทอร์และ การแสดงออกของยีน *OfJhe* ในระหว่างการเจริญของหนอนเชื้อไผ่, *Omphisa fuscidentalis*

**ผู้เขียน** นางสาวอรทัย คำสร้อย

**ปริญญา** วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

**อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์** รศ. ดร. ทิพวรรณ สิงห์ไตรภพ

### บทคัดย่อ

จูวีโนลฮอร์โมนเอสเทอร์ (JHE) เป็นเอนไซม์ที่ควบคุมปริมาณของฮอร์โมนจูวีโนลให้ อยู่ในระดับที่เหมาะสมซึ่งสำคัญต่อการเจริญเติบโตของแมลง จากการตรวจวัดการทำงานของ เอนไซม์ JHE ในฮีโมลิฟของหนอนเชื้อไผ่ ตั้งแต่ช่วงต้นของการเจริญ (ระยะอินสตาร์ที่ 3 และ 4), อินสตาร์ที่ 5 ก่อนเข้าสู่ระยะไคอะพอส, ระยะไคอะพอส (เดือนกันยายน-พฤษภาคม) และในระยะ ดักแด้ จากผลการวิจัยพบว่าการทำงานของเอนไซม์ JHE จะเพิ่มขึ้นเมื่อตัวหนอนมีการลอกคราบเข้า สู่ระยะอินสตาร์ที่ 5 ส่วนในระยะไคอะพอส การทำงานของเอนไซม์ JHE จะลดลงมาอยู่ในระดับ ใกล้เคียงกันกับระยะอินสตาร์ที่ 3 และ 4 หลังจากนั้นการทำงานของเอนไซม์ JHE จะเพิ่มสูงขึ้นอีก ครั้งเมื่อตัวหนอนเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ในเดือนพฤษภาคม ในการให้ juvenile hormone analogue (JHA) และ 20-hydroxyecdysone (20E) แก่หนอนเชื้อไผ่ระยะไคอะพอส มีผล ทำให้การทำงานของเอนไซม์ JHE ในฮีโมลิฟและเนื้อเยื่อไขมันเพิ่มสูงขึ้น โดยหลังจากการให้ ฮอร์โมนการทำงานของเอนไซม์ JHE ในฮีโมลิฟ จะมีระดับสูงสุดในช่วงก่อนเข้าดักแด้ แต่ใน เนื้อเยื่อไขมันกลับพบว่า ระดับการทำงานของเอนไซม์ JHE จะต่ำ และไม่พบ peak ของการทำงานของ เอนไซม์

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการโคลนยีน *Omphisa juvenile hormone esterase (OfJhe)* และ วิเคราะห์การแสดงออกของยีนในเนื้อเยื่อไขมัน ผลการวิจัยพบว่า ระดับการแสดงออกของ *OfJhe*

mRNA ในเนื้อเยื่อไขมัน มีความสัมพันธ์กับการทำงานของเอนไซม์ JHE ในฮีโมลิพม์ โดยการแสดงออกของยีนในเนื้อเยื่อไขมันจะเพิ่มสูงขึ้นในระยะอินสตาร์ที่ 5 ก่อนเข้าสู่ระยะไดอะพอส และลดต่ำลงเมื่อเข้าสู่ระยะไดอะพอส และการแสดงออกของ *OfJhe* จะเพิ่มขึ้นอีกครั้งในช่วงก่อนการลอกคราบเข้าสู่ระยะคักเต้ ในการให้ JHA แก่หนอนเยื่อไผ่ระยะไดอะพอส สามารถกระตุ้นการแสดงออกของ *OfJhe* ในเนื้อเยื่อไขมันให้เพิ่มสูงขึ้น ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 18 หลังจากได้รับฮอร์โมน และมีระดับการแสดงออกสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 โดยความเข้มข้นของ JHA ที่เหมาะสมต่อการชักนำการแสดงออกของ *OfJhe* คือ 0.1 ไมโครกรัม และหลังจาก 48 ชั่วโมง จะพบการแสดงออกของยีนสูงสุดในวันที่ 10 และระยะ G0

สำหรับการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีน *OfJhe* หลังจากได้รับ 20E พบว่า ระดับของ *OfJhe* mRNA เพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 18 หลังจากนั้นระดับการแสดงออกของยีนจะเพิ่มสูงสุดในวันที่ 2 และระยะ G0 โดยความเข้มข้นของ 20E ที่เหมาะสมในการกระตุ้นการแสดงออกของ *OfJhe* คือ 0.5 ไมโครกรัม นอกจากนี้ยังพบว่า การเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของ *OfJhe* ในเนื้อเยื่อไขมัน หลังจากได้รับ 20E จะสัมพันธ์กับการทำงานของเอนไซม์ JHE ในฮีโมลิพม์

<b>Thesis Title</b>	Changes of Juvenile Hormone Esterase Activity and <i>OfJhe</i> Gene Expression During Development of the Bamboo Borer, <i>Omphisa fuscidentalis</i>
<b>Author</b>	Ms. Orathai Kamsoi
<b>Degree</b>	Master of Science (Biology)
<b>Thesis Advisor</b>	Assoc. Prof. Dr. Tippawan Singtripop

### Abstract

Juvenile hormone esterase (JHE) is an enzyme that regulates JH titer to appropriate levels which is necessary for normal development in insects. JHE activity was measured in the hemolymph of the bamboo borer in the penultimate larval instar (3rd, 4th), 5th larval instar before entering diapause, diapause stage (September to May) and pupal stage. Results showed that JHE activity increased when the larvae molt to the 5th instar. During diapause stage, JHE activity decreased to the similar level to the 3rd and 4th larval instar. JHE activity increased again before larvae entering the pupal stage in May. An application of juvenile hormone analogue (JHA) or 20-hydroxyecdysone (20E) to diapause larvae increased JHE activities in hemolymph and fat body. After the hormonal treatment, the hemolymph JHE activity showed the highest level at prepupal period, whereas in the fat bodies, the levels of JHE activity were low and did not exhibit the peak of enzyme activity.

In this study the *Omphisa* juvenile hormone esterase gene (*OfJhe*) was cloned and examined the developmental profile of the gene expression in the fat body. Results showed that the expression of *OfJhe* mRNA levels in the fat body correlated positively with hemolymph JHE

activities: it increased in the fat body of 5th instar larvae before entering diapause and decreased to low levels after entering diapause. *OfJhe* expression increased again prior the molting to pupal stage. An application of JHA to diapause larvae stimulated *OfJhe* expression from 18 h and showed the maximum level at 48 h, and the optimal concentration of JHA for induction of *OfJhe* expression was 0.1 µg. After 48 h, two additional expression peaks were observed at day 10 and G0 stage.

The changes of *OfJhe* expression after 20E injection revealed that 20E increased the levels of *OfJhe* mRNA at 18 h, after which the expression level peaked twice at day 2 and G0 stage. The optimal concentration of 20E for stimulating of *OfJhe* expression was 0.5 µg. Moreover, the above-mentioned change of *OfJhe* expression in the fat body also correlated with the hemolymph JHE activities after 20E injection.