

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

โปรแกรมการตายของเซลล์ของเนื้อเยื่อตัวอ่อนชักนำ  
โดยฮอร์โมนจูวีไนล์และเอกไดโซนในหนอนเชื้อไฟ  
(*Omphisa fuscidentalis*)

ผู้เขียน

นางสาวทิพวรรณ ยะสง่า

ปริญญา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ. ดร. ทิพวรรณ สิงห์ไตรภพ

บทคัดย่อ

programmed cell death (PCD) มีบทบาทสำคัญระหว่างการเจริญของสัตว์โดยทำหน้าที่ในการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อที่ไม่ต้องการอีกต่อไป ซึ่งในแมลง ต่อมโปรทอแรกซิก ต่อมสร้างใหม่ ส่วนต้นและต่อมน้ำลายเป็นเนื้อเยื่อจำเพาะของตัวอ่อนแมลงที่จะถูกกำจัดโดย PCD หลังจากเข้าสู่ระยะดักแด้ ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาผลของฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์ (JHA) และ 20-hydroxyecdysone (20E) ต่อการเกิด PCD ของต่อมโปรทอแรกซิก ต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นและต่อมน้ำลายของหนอนเชื้อไฟทั้งในสถานะ *in vivo* และ *in vitro* ผลการศึกษาพบว่า การให้ JHA 1 ไมโครกรัมจะกระตุ้นการเกิด PCD ของต่อมโปรทอแรกซิก ต่อมสร้างใหม่ส่วนต้น และต่อมน้ำลายเมื่อหนอนเข้าสู่ระยะ G0 ส่วนกลุ่มที่ฉีด 20E 1 ไมโครกรัมพบว่าจะกระตุ้นการเกิด PCD ของต่อมสร้างใหม่ส่วนต้นและต่อมน้ำลายเมื่อหนอนเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะ G0-G1 ยกเว้นในต่อมโปรทอแรกซิกที่จะเกิด PCD ขึ้นในวันที่ 1 การที่ JHA สามารถชักนำให้เกิด PCD ในต่อมทั้ง 3 เป็นผลมาจาก JHA ไปกระตุ้นต่อมโปรทอแรกซิกทำให้ปริมาณฮอร์โมนเอกไดโซนในฮีโมลิมพ์เพิ่มขึ้น และระดับฮอร์โมนเอกไดโซนที่เพิ่มขึ้นนี้จะไปกระตุ้นการเกิด PCD นอกจากนี้การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเนื้อเยื่อวิทยาของการเกิด PCD แสดงถึงการหดตัวของเซลล์ การอัดแน่นของนิวเคลียส และการแตกหักของ DNA ซึ่งเป็นลักษณะการตายแบบ apoptosis

การเพาะเลี้ยงต่อมโปรทอแรกซิก ต่อมสร้างไทม์ส่วนต้นและต่อมน้ำลายใน Grace's insect medium ที่มี 20E ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า 20E จะกระตุ้นการเกิด programmed cell death ของต่อมโปรทอแรกซิก ต่อมสร้างไทม์ส่วนต้นและต่อมน้ำลายหลังจาก 24 ชั่วโมงของการเพาะเลี้ยง แสดงให้เห็นว่าต่อมโปรทอแรกซิก ต่อมสร้างไทม์ส่วนต้นและต่อมน้ำลายเป็นเนื้อเยื่อเป้าหมายของ 20E นอกจากนี้พบว่า การเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนเอกไดโซนในฮีโมลิมพ์หลังจากได้รับ JHA 1 ไมโครกรัม จะชักนำให้มีการแสดงออกของ EcR-A และ EcR-B1 mRNA ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับการเกิด programmed cell death ของต่อมโปรทอแรกซิก ต่อมสร้างไทม์ส่วนต้น และต่อมน้ำลาย

ผลงานวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า JHA และ 20E มีผลชักนำให้เกิด programmed cell death ในต่อมโปรทอแรกซิก ต่อมสร้างไทม์ส่วนต้น และต่อมน้ำลายทั้งในสภาวะ *in vivo* และ *in vitro*

**Thesis Title** Programmed Cell Death of Larval Tissues Induced by Juvenile Hormone and Ecdysone in the Bamboo Borer  
(*Omphisa fuscidentalis*)

**Author** Ms. Tippawan Yasanga

**Degree** Master of Science (Biology)

**Thesis Advisor** Assoc. Prof. Tippawan Singtripop

### Abstract

Programmed cell death (PCD) plays a critical role during animal development by functioning in the destruction of unneeded cells and tissues. In insects, the prothoracic glands, anterior silk glands and salivary glands are larval specific tissues which are eliminated by PCD after pupation. The present studies focus on the effect of juvenile hormone (JHA) and 20-hydroxyecdysone (20E) on the PCD of prothoracic glands, anterior silk glands and salivary glands both in vivo and in vitro. Results showed that 1  $\mu$ g JHA application induced PCD of prothoracic glands, anterior silk glands and salivary glands at G0 stage. Injection of 1  $\mu$ g 20E triggered the PCD of anterior silk glands and salivary glands when the larvae expressed G0-G1 morphology, except the prothoracic glands showing PCD on day 1. JHA induced the PCD in prothoracic glands, anterior silk glands and salivary glands because JHA stimulated the prothoracic gland so as to increase the ecdysteroids in hemolymph, and this ecdysteroids triggered the programmed cell death. Morphological and histological observation showed that PCD proceeded via cell shrinkage, nuclear condensation and DNA fragmentation which are the characteristics of apoptotic cell death.

The prothoracic glands, anterior silk glands and salivary glands were cultured in Grace's insect medium with various concentration of 20E. Results showed that 20E stimulated the PCD of prothoracic glands, anterior silk glands and salivary glands after 24 hr of the culture, indicating that the prothoracic glands, anterior silk glands and salivary glands are a target tissue of 20E. Furthermore, the increase in the ecdysteroids in hemolymph after 1  $\mu$ g JHA application altered the expression levels of EcR-A and EcR-B1 mRNA, which may be involved in the programmed cell death of prothoracic glands, anterior silk glands and salivary glands.

The present results indicate that JHA and 20E induce the PCD of the prothoracic glands, anterior silk glands and salivary glands of the bamboo borer both in vivo and in vitro conditions.