ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ผลของฮอร์โมนต่อการเจริญของปุ่มปีกในหนอนเยื่อไผ่ (*Omphisa fuscidentalis*) และหนอนไหม (*Bombyx mori*)

ผู้เขียน นางสาวพิมลพรรณ เสรีวัฒนาชัย

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ. ดร. ทิพวรรณ สิงห์ไตรภพ

บทคัดย่อ

ฮอร์โมนเอคไดโซน (20E) และจูวีไนล์สังเคราะห์ (JHA) สามารถชักนำหนอนเยื่อไผ่ให้เข้าสู่ระยะดักแด้ได้ โดยสังเกตได้จากการเปลี่ยนสีผิวลำตัวหนอนซึ่งแบ่งเกรด (Grade, G) เป็นระดับต่างๆ คือ G0, G1, G2, G3, G4 และ G5 ตามความเข้มของสีผิวลำตัวหนอน ดังนั้นฮอร์โมนน่าจะเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อการเจริญเปลี่ยนแปลงของปุ่มปีก โดยการศึกษาครั้งนี้ได้ตรวจวัดปริมาณโปรตีนของปุ่มปีกหลังจากที่หนอนเยื่อไผ่ระยะลาร์วัลไดอะพอสได้รับ 20E หรือ JHA ความเข้มข้นต่างๆ ผลการทดลองพบว่าการเจริญเปลี่ยนแปลงของปุ่มปีกจะเกิดขึ้นเมื่อหนอนเข้าสู่ระยะ G0 โดยมีค่าปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.01$) โดยในกลุ่มที่ได้รับ 20E ความเข้มข้นสูง (1 ไมโครกรัมต่อตัวหนอน) จะมีการเจริญเปลี่ยนแปลงของท่อลมเกิดขึ้นมากกว่าการแบ่งเซลล์เพื่อขยายขนาดของปุ่มปีก ส่วนในกลุ่มที่ได้รับ 20E ความเข้มข้นต่ำหรือ JHA ทุกความเข้มข้น พบทั้งการเจริญเปลี่ยนแปลงของท่อลมและการขยายขนาดของปุ่มปีก แต่เมื่อทำการเพาะเลี้ยงปุ่มปีกในอาหารที่เติม 20E พบว่า 20E ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัม มีผลกระตุ้นการเจริญเปลี่ยนแปลงของปุ่มปีกได้เร็วกว่ากลุ่มที่ให้ 20E ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 ไมโครกรัม นอกจากนี้การตรวจสอบเซลล์ที่อยู่ในระยะ S และ M phase โดยใช้เทคนิค immunocytochemistry พบว่า 20E มีผลกระตุ้นการเจริญของปุ่มปีกทั้งในหนอนเยื่อไผ่และหนอนไหม แต่บอมบิกซินไม่มีผลในการเพิ่มจำนวนเซลล์ในหนอนเยื่อไผ่ แต่สามารถเพิ่มจำนวนเซลล์ในระยะ S phase ในหนอนไหมในสภาวะที่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เหมาะสมคือมีการเติมทั้ง 20E บอมบิกซินและ FBS โดยเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจน 95% เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นอกจากนั้นจากการศึกษาระดับการแสดงออกของยีน *OfEcR* ในปุ่มปีกของหนอนเยื่อไผ่ โดยใช้เทคนิค RT-PCR พบว่าในหนอนเยื่อไผ่กลุ่มที่ได้รับ JHA 1.0 ไมโครกรัม กระตุ้นการแสดงออกของ *OfEcR-A* mRNA สูงที่สุดเมื่อหนอนเข้าสู่ระยะ G1 และปริมาณ *OfEcR-B1* mRNA เพิ่มสูงขึ้น 2 ช่วงคือ ในวันที่ 8 และในระยะ G1 เช่นกัน ส่วนหนอนเยื่อไผ่ที่ได้รับ 20E 1.0 ไมโครกรัม จะเข้าสู่ระยะ G0 ในวันที่ 2 หลังจากที่ได้รับฮอร์โมน และปริมาณ *OfEcR-A* mRNA เพิ่มสูงสุดในระยะ G0 ส่วนระดับ *OfEcR-B1* mRNA เพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 2 และในระยะ G1 และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงปุ่มปีกในอาหารที่เติม 20E 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าปริมาณ *OfEcR-A* และ *OfEcR-B1* mRNAs เพิ่มสูงขึ้นในกลุ่มที่ได้รับ 20E โดยมีปริมาณของ *OfEcR-B1* mRNA มากกว่า *OfEcR-A* mRNA ประมาณ 2 เท่า

จากผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า 20E และ JHA มีผลต่อการเจริญเปลี่ยนแปลงของปุ่มปีกของหนอนเยื่อไผ่และหนอนไหม ทั้งในระดับของการเพิ่มปริมาณโปรตีนและจำนวนเซลล์ที่อยู่ในระยะ S phase และ M phase อีกทั้งกระตุ้นการแสดงออกของ *OfEcR-A* และ *OfEcR-B1* mRNAs ในปุ่มปีกของหนอนเยื่อไผ่ ทั้งในสภาวะ *in vivo* และ *in vitro* อีกด้วย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title Hormonal Effects on the Development of Wing Imaginal Disc in the Bamboo Borer (*Omphisa fuscidentalis*) and Silkworm (*Bombyx mori*)

Author Ms. Pimonphan Sereewattanachai

Degree Master of Science (Biology)

Thesis Advisor Assoc. Prof. Dr. Tippawan Singtripop

Abstract

20-hydroxyecdysone (20E) and juvenile hormone analogue (JHA) induce pupation of diapausing larvae of the bamboo borer. Pupation process was noticed by the change in skin color of larvae, dividing in to 5 grades, G0, G1, G2, G3, G4 and G5. Hormone is the main factor which affects wing imaginal disc differentiation. In the present study, protein contents in wing discs were measured in larvae treated with 20E or JHA at various concentrations. Results showed that the protein contents increased significantly ($P<0.01$) when they entered to G0 stage and simultaneously the development of wing discs occurred. Injection of large amount of 20E (1 µg/larva) did not induce the increase of wing disc size but induced tracheation. In contrast, lower amount of 20E and all doses of the JHA induced both of cell division and tracheation. Culture of wing discs in medium containing 20E showed that 0.1 µg/ml 20E effectively induced wing disc differentiation more than at 0.5 and 1.0 µg/ml 20E. Observation of S and M phase cells in cultured wing discs by immunocytochemistry showed that 20E induced wing disc development and increased the number of cell in *Omphisa* and *Bombyx* wing discs. Bombyxin had no effects on the increase in cell number in *Omphisa* wing discs. In contrast, the number of S phase cells in

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

silkworm wing discs was increased when wing discs were cultured with 20E plus bombyxin and FBS under the 95% oxygen atmosphere for 48 hours. RT-PCR analysis of expression of *OfEcR* mRNA in *Omphisa* wing discs showed that 1.0 µg JHA application induced *OfEcR-A* mRNA expression that peaked at G1. *OfEcR-B1* mRNA displayed 2 peaks at day 8 and G1. When bamboo borer larvae were treated with 1.0 µg 20E, they were entered to G0 in 2 days and *OfEcR-A* mRNA peaked at G0. *OfEcR-B1* mRNA level increased and peaked at day 2 and G1. Cultured wing discs in 0.1 µg/ml 20E exhibited an increase in *OfEcR-B1* mRNA by more than 2 folds of *OfEcR-A* mRNA.

The present results indicate that 20E and JHA elicited stimulatory effects on the development of wing imaginal discs in which both protein content and the number of S and M phase cells were increased in the bamboo borer and silkworm larvae. These hormones also increased the expression levels of *OfEcR-A* and *OfEcR-B1* mRNAs in wing discs both *in vivo* and *in vitro*.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved